



Editorial

La Biotecnología Agrícola y la Interfase entre el Laboratorio  
Y el Campo

Pág. 5

Susceptibilidad y Mecanismos de Resistencia de *Tetranychus urticae*  
Koch en Rosal de Invernadero

Pág. 16

Distribución Asintótica de la Tasa de Cobertura en un Modelo  
de Secuenciación Genómica

Pag. 38

### **Comité Editorial**

**Dr. Miguel A. Capó Arteaga**  
Editor en Jefe

**Dr. Jesús Valdés Reyna**  
Editor Ejecutivo

### **Editores Técnicos**

**Dr. José L. Puente Manríquez**  
Fitomejoramiento, Unidad Laguna

**Dr. Raúl Rodríguez García**  
Riego y Drenaje

**Dr. Jesús M. Fuentes Rodríguez**  
Producción Animal

## DIRECTORIO

**Dr. Eladio Heriberto Cornejo Oviedo**  
Rector

**Ing. Lorenzo Castro Gómez**  
Secretario General

**Raul Villegas Vizcaíno**  
Director General Académico

**M. C. Alfredo Sánchez López**  
Director de Investigación

**Dr. Alfredo de la Rosa Loera**  
Subdirector de Programación y Evaluación

**M. C. José A. Nájera Castro**  
Subdirector de Operación de Proyectos

## Diseño y Formación

Miguel A. Estrada Villarreal

## Colaboradores

M. C. Ricardo Cuéllar Flores

M. C. José H. Rancaño Arrijoja

Dr. Manuel Humberto Reyes Valdés

## UNIDAD LAGUNA

**Dr. Armando Espinoza Banda**  
Subdirector de Investigación

**M. C. Francisca Sánchez Bernal**  
Area de Programación, Operación y Evaluación Científica

**Ing. Enrique L. Hernández Torres**  
Area de Operación Programas y Proyectos de Investigación

---

*Agraria -Nueva Epoca- es una publicación científica, cuatrimestral, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con domicilio conocido en Buenavista, Saltillo, Coah., México y se imprime en sus Talleres Gráficos.*

*Tiraje digital (PDF) para su distribución en medios múltiples.*

*[http://www.uaaan.mx/DirInv/portal\\_agraria/portal.htm](http://www.uaaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm) · email: [agraria\\_ne@uaaan.mx](mailto:agraria_ne@uaaan.mx)*

*Tel (844) 411-02-00, Ext. 2404 · Fax 411-02-11*

*Agraria -Nueva Epoca- está indexada en Latindex (Directorio de publicaciones Científicas seriadas de América Latina, el Caribe, España y Portugal), <http://www.latindex.org/larga.php?opcion=1&folio=15150> según folio 1550 de fecha 07-03-2006.*



---

**Centéotl**, deidad azteca de la agricultura, es una advocación de Chicomecóatl, diosa del maíz. La Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en su afán de rescatar los valores del pasado histórico de México, la ha adoptado como logotipo de su revista científica, como símbolo que evoca y reafirma nuestras raíces culturales

## Nuestra Portada

Composición de invernaderos con plantas de rosal

## Normas Editoriales

### Tipo de materiales para publicación

La revista **Agraria -Nueva Epoca-** acepta, para su publicación, materiales en español e inglés, sobre temas relacionados con las ciencias agrícolas, pecuarias y forestales, incluyendo las áreas de ingeniería, agroindustria y socioeconómicas. Todo material deberá venir acompañado de la solicitud correspondiente.

Estos materiales pueden ser artículos científicos, notas de investigación o ensayos.

Los materiales que se envíen para su publicación deberán ceñirse a las normas que, para tal efecto establezca **Agraria -Nueva Epoca-** y estarán sujetos a revisión y arbitraje por el Comité Editorial de la revista -o por quienes éste designe-, como requisito previo a su publicación.

No se aceptan trabajos ya publicados, o que estén sometidos a consideración en otros medios científicos de difusión.

Es de desear que la realización de la investigación, cuyos materiales sean enviados para su publicación, no exceda de 4 años anteriores a la fecha de su remisión.

### Formato

El respeto a las siguientes indicaciones respecto al formato solicitado facilitará grandemente nuestro trabajo de edición.

### Textos

Los textos, con todos sus anexos, deberán enviarse empaquetados (nosotros preferimos WinZip), sin contraseñas de seguridad, por correo electrónico, escritos en un procesador de textos de uso común (preferimos Word), en formato tamaño carta (21.57 x 27.94 cm), sin sangría, y a renglón seguido, con márgenes de 2.5 cm por lado. Agradeceremos evitar nombres de archivo excesivamente largos o con espacios en blanco. Los textos se redactarán en un tipo formal conocido ttf (True Type Font) tales como Arial, Times New Roman o similares, de 12 puntos. Las notas se escribirán en 9 puntos.

Todos los renglones, incluidos los encabezados, se iniciarán, invariablemente, a partir del margen izquierdo, sin sangría.

Todos los encabezados, independientemente de su orden, se escribirán en altas y bajas, y negrillas.

Los párrafos se escribirán sin pasar renglón entre ellos; para separarlos, a fin de hacer el texto fácil de leer y corregir, se utilizará el formato automático de párrafo del procesador, para darles un espaciado posterior de 6 puntos.

Las palabras no se separarán, en ningún caso, por sílabas. Es conveniente desactivar el comando automático de inserción de guiones (*hyphenation*) de su procesador.

El material no deberá exceder de 520 líneas para artículos científicos y ensayos, y de 200 líneas para una nota científica, incluidos cuadros y figuras.

Las unidades que se empleen serán las del Sistema Internacional de Unidades (<http://www.sc.ehu.es/sbweb/fisica/unidades/unidades/unidades.htm>)

Las páginas, al igual que los cuadros y las figuras, se numerarán progresivamente con números arábigos.

**Cuadros y figuras.** Los cuadros y las figuras contendrán sólo la información esencial y en ningún caso repetirán los datos que se presenten en el texto, o en otra forma. Cuadros y figuras deben ser claros, simples, concisos e ilustrativos.

Los cuadros no excederán, en ningún caso, los márgenes de impresión arriba mencionados y deberán presentarse en el cuerpo del texto, con el formato correspondiente, con las columnas separadas por tabulaciones, sin espacios a mano, y en la posición en que se espera que aparezcan, con el número de orden correspondiente.

En los cuadros se empleará sólo el número de cifras significativas necesarias para destacar el punto que se desee.

Los cuadros se realizarán en formato básico con tres líneas horizontales continuas: al inicio del cuadro, al inicio del cuerpo del cuadro (no en el encabezamiento) y al final. El campo y el encabezamiento de las columnas se pueden dividir a conveniencia del autor. No se deben añadir líneas verticales. Los encabezamientos, de columnas y líneas, se escribirán con minúsculas, excepto la primera letra de la oración. Las unidades se colocan debajo de la segunda línea horizontal, como en el ejemplo que se proporciona.

Las figuras tampoco excederán, en ningún caso, los márgenes de impresión establecidos. La posición que vaya a ocupar cada figura, deberá estar indicada en el texto con negrillas, en renglón aparte, con el número correspondiente.

Cada figura se enviará en archivo por separado, en formato tif (compresión LZW), o jpg, con el tamaño exacto en que se pretende que aparezca en la publicación, en una resolución no inferior a 150 pxeles por pulgada, con el número que le corresponda (p. ej: fig 01.jpg).

Los puntos experimentales deberán marcarse visiblemente. Para dividir los ejes, se escogerán intervalos constantes para cada uno. Los mosaicos fotográficos deberán entregarse montados en un solo archivo gráfico (tif, o jpg), totalmente terminados. El aumento de las microfotografías debe indicarse en la leyenda.

En archivo por separado se enviará un listado de las figuras incluidas en el material enviado, con el número de orden y el pie de grabado correspondientes (p. ej.: listafigs.doc)

Las figuras pueden ser fotos a color o en tonos de gris -según sea su original-, gráficas (de preferencia a color), ilustraciones, dibujos, o grabados (de preferencia a color).

Los cuadros deberán redactarse en el mismo procesador de textos y formato señalado arriba.

Las ecuaciones, si las hubiera, se insertarán en el texto con un editor de ecuaciones compatible con su procesador.

### Notas de pie de página

Sólo se podrán utilizar, cuando sean absolutamente indispensables, para identificar información adicional y se numerarán progresivamente en el texto. Los asteriscos se reservarán para indicar significancia a 5% (\*) y 1% (\*\*), respectivamente. En el pie de grabado -o de cuadro- se incluirán las notas o llamadas que sean pertinentes, y serán señaladas con números arábigos.

### Citas bibliográficas

Las citas bibliográficas deberán ser de literatura reciente, relevante y sólo las exclusivamente necesarias para sustentar los planteamientos hechos.

Más detalles en [http://www.uaan.mx/DirInv/Convoc/conv\\_web/normas.htm](http://www.uaan.mx/DirInv/Convoc/conv_web/normas.htm), o [http://www.uaan.mx/DirInv/portal\\_agraria/portal.htm](http://www.uaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm)

## Contenido

Normas Editoriales / <i>Instructions for authors</i>	2
Convocatoria/ <i>Paper call</i>	4
Editorial / <i>Editorial</i>	
<b>La Biotecnología Agrícola y la Interfase entre el Laboratorio y el Campo</b>	<b>5</b>
Artículos / <i>articles</i>	
<b>Estimación de Componentes de Varianza Genética y Heredabilidad en una Población de Maíz Amarillo Tropical</b>	<b>6</b>
Estimation of Genetic Variance Components and Heritability in a Tropical Yellow Maize Population <i>Luis Hernández San Juan, Arnoldo Oyervides García, Alfredo de la Rosa Loera, Humberto de León Castillo</i>	
<b>Acondicionamiento Osmótico de Semilla de Chile Ancho (<i>Capsicum annuum</i> L.)</b>	<b>12</b>
Dried Poblano Pepper ( <i>Capsicum annuum</i> L.) Seed Osmoprimering <i>Norma A. Ruiz Torres, Rodolfo Ramírez Manzanares, Froylán Rincón Sánchez, Valentín Robledo Torres, Candelario Díaz García</i>	
<b>Susceptibilidad y Mecanismos de Resistencia de <i>Tetranychus urticae</i> Koch en Rosal de Invernadero de Edomex</b>	<b>16</b>
Susceptibility and Mechanisms of Resistance of <i>Tetranychus urticae</i> Koch in Greenhouse rosetree in Edomex, Mexico <i>Jerónimo Landeros-Flores, Carlos Ail-Catzim, Eugenio Guerrero-Rodríguez, Alberto Flores-Olivas, Ernesto Cerna-Chávez</i>	
<b>Epidemiología del Cornezuelo del Sorgo (<i>Claviceps africana</i>, Frederickson, Mantle &amp; de Millano) en dos localidades de México</b>	<b>25</b>
Epidemiology of Sorghum Ergot ( <i>Claviceps africana</i> , Frederickson, Mantle & de Millano) in two Mexican locations <i>Julián Vicente Koh Pat, Abiel Sánchez Arizpe, Alberto Flores Olivas, María Elizabeth Galindo Cepeda, Guillermo Ledesma Ibarra, Emilio Padrón-Corral</i>	
<b>Fluctuación Poblacional de Cicadélidos Positivos a Fitoplasma Asociado a la Punta Morada en Maleza Aledaña al Cultivo de Papa, en Arteaga, Coah., México</b>	<b>31</b>
Fluctuation of Cicadellid Populations Positive to Phytoplasma in Weeds Adjacent to Potato Crops in Arteaga, Coah., Mexico <i>Iván Isaias Vargas-Caamal, Oswaldo García-Martínez, Alberto Flores-Olivas, Patricia Herrera-Pérez, José Ángel Villarreal-Quintanilla, Emilio Padrón-Corral</i>	
<b>Distribución Asintótica de la Tasa de Cobertura en un Modelo de Secuenciación Genómica</b>	<b>38</b>
Asymptotic Distribution of Coverage Rate in a Genome Sequencing Model <i>Gerardo Antonio Alvarado Esquivel y Rolando Cavazos Cadena</i>	

## CONVOCATORIA

La Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

### CONVOCA

a los investigadores, nacionales y extranjeros, interesados en publicar artículos científicos, a enviar sus contribuciones a la revista **Agraria -Nueva Epoca-**, bajo las siguientes bases:

Los trabajos recibidos se someterán al proceso de revisión descrito en las *Normas Editoriales* de la Revista.

Se recibirán contribuciones inéditas de todos los interesados, nacionales o extranjeros, en español o inglés.

Los artículos deberán versar sobre temas de contenido agrícola, pecuario, forestal, y socioeconómico del entorno regional, nacional e internacional.

Las modalidades de publicación son las siguientes:

#### Artículo científico

Es el resultado de un trabajo de investigación en el cual se aplicó, de forma rigurosa, el método científico, estudiando el efecto que tienen diferentes tratamientos sobre la respuesta medible de un sistema, como metodología para comprobar o rechazar una hipótesis claramente establecida en el trabajo.

Los artículos científicos que se envíen deberán constar de las siguientes partes: Título, Título en inglés, Autor(es), Institución(es) de adscripción y datos de localización del autor responsable (domicilio, teléfono, fax, e-mail), Abstract, que es la traducción al inglés del Resumen, incluidas las palabras clave; Resumen, que incluirá al pie las palabras clave hasta un máximo de seis, Introducción, Materiales y métodos, Resultados y discusión, Conclusiones, Literatura citada, Agradecimientos.

#### Ensayo científico

Consiste en el análisis crítico de una recopilación actualizada de artículos científicos, informes de investigación, o materiales similares, en los que el autor o autores aportan su opinión personal sobre un tema, estableciendo conclusiones respecto al estado actual del conocimiento sobre el mismo.

Partes de que consta el Ensayo: Título, Título en inglés, Autor(es), Institución(es) de adscripción y datos de localización del autor responsable (domicilio, teléfono, fax, e-mail), Abstract, que es la versión al inglés del Resumen, incluye las palabras clave, Resumen, incluidas las palabras clave hasta un máximo de siete, Introducción, Desarrollo del tema, con los subtítulos que se estimen convenientes, Discusión, cuando proceda, Conclusiones, Literatura citada.

#### Nota de investigación

Son materiales basados en trabajos experimentales que, sin perjuicio del método y rigor científicos, presentan aspectos metodológicos innovadores o resultados que, por su carácter novedoso, el autor considera de interés publicar antes de finalizar su investigación.

La nota, aunque de menor extensión, cubre todos los aspectos relevantes del proceso de investigación. Su estructura es similar a la del artículo científico, y trata cada uno de sus apartados, con menor profundidad y detalle, aunque no tiene que incluir los encabezados.

La excepción a lo anterior son el Abstract, que se omite, y la Literatura citada, apartado que deberá incluirse expresamente.

De ser necesario, podrán incluirse -también- algún cuadro o ilustración, cuando resulten relevantes para la mejor comprensión de la nota.

Los trabajos a publicar deberán hacerse llegar en versión electrónica, acompañados de una solicitud, de conformidad con las especificaciones marcadas en las Normas Editoriales arriba mencionadas, a la siguiente dirección electrónica: [agraria\\_ne@uaaan.mx](mailto:agraria_ne@uaaan.mx), con atención a:

Editor en Jefe de la Revista Agraria -Nueva Epoca-

Dirección de Investigación, UAAAN, Domicilio conocido, Buenavista,

Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315

Para mayor información respecto a esta Convocatoria visite [http://www.uaaan.mx/DirInv/portal\\_agraria/portal.htm](http://www.uaaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm) para consultas diríjase al Editor en Jefe: [agraria\\_ne@uaaan.mx](mailto:agraria_ne@uaaan.mx).

## Editorial

---

### La Biotecnología Agrícola y la Interfase entre el Laboratorio y el Campo

La cuestión enmarcada en el título de este artículo no se refiere a un lugar físico en el espacio, sino a una región del intelecto y del quehacer humano. Como tal, la Biotecnología moderna es una de las actividades humanas más revolucionarias, en la que se emplean recursos tecnológicos como la manipulación de los ácidos nucleicos, tanto para el estudio de los seres vivos, como para inducir en las bacterias, las plantas, y los animales la generación de un potencial que concurra a una mejor o mayor producción en la agricultura.

Esta área entre la ciencia y la ingeniería tiene, ante sí, un gran reto para su aplicación eficiente en la agricultura: el conocimiento de la interfase entre el laboratorio y el campo. Este reto puede plantearse en la respuesta a la cuestión de sobre quienes descansa o debe descansar esta interfase del conocimiento; 1. En biotecnólogos de laboratorio con buen conocimiento de necesidades y tecnologías del campo, o 2. En expertos en agricultura que posean el entendimiento necesario de las biotecnologías para saber cómo, y para qué, se puede recurrir a ellas.

En la experiencia más generalizada, y sin menoscabo de la necesidad de una preparación de campo, deseable en los biotecnólogos, parece más razonable la segunda opción: se necesitan profesionales de la agricultura con la capacidad de integrar en sus investigaciones, y en la aplicación del conocimiento en el sector productivo, una sólida base de conocimientos en materia de Biotecnología. Profesionales que sepan qué se debe plantear y solicitar a un laboratorio, y cómo deben interpretarse, y aprovecharse los productos y datos que ahí se generan. Pongamos como ejemplo la cuestión de qué conocimientos se requieren para aplicar efectivamente la información de la secuencia de ADN en una especie cultivada con fines de mejoramiento genético. A la respuesta concurrirán varias disciplinas: la estadística, la genética de poblaciones, el mapeo genético, la fisiología, la bioquímica, la agricultura, etc. Esta interfase es, pues, una región interdisciplinaria de una complejidad muy elevada, que debe ser cultivada y fomentada en toda institución agrícola.

Los resultados del desarrollo de esta interfase deberán notarse en la producción científica, así como en el sector productivo donde dichos profesionistas desarrollan su actividad.

Es de desearse pues, que, en el futuro inmediato de la Revista Agraria –Nueva Época– se vean más trabajos en los que se integren la Biotecnología y la producción en el campo.

# Estimación de Componentes de Varianza Genética y Heredabilidad en una Población de Maíz Amarillo Tropical

Luis Hernández San Juan\*, Arnoldo Oyervides García, Alfredo de la Rosa Loera y Humberto de León Castillo

Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. 25315. Saltillo, Coah., México. Tel. 844 567 24 81. E-mail: luishdez1381@yahoo.com.mx (\* Autor responsable).

---

## Abstract

In order to assay the technical breeding potential of a population, there exist diverse mating designs that allow estimating the effects and genetic variances. The objectives of this work were: a) to consider the proportion of additive genetic variance and dominance, and the heritability of a yellow maize population; and b) to suggest a procedure for effective genetic melioration, that allows to improve the present characteristics of quantitative inheritance in such population. 300 families of full siblings (FHC), developed under North Carolina design I were evaluated in Úrsulo Galván, Ver., México, under an experimental design of incomplete blocks with an alpha lattice adjustment (0.1), with two replications. The effects and genetic variances were estimated by the VARCOMP procedure (Method=type1) and IML of the SAS program. The results indicate that the population showed a genetic structure with few differences among and within variables. The greater proportion of the genetic variance was due to the additive effects, in ear height = 44,68, and yield = 0.13. Variance was equal to zero for all the variables. Yield for  $h^2$  was 17%. The biplot showed that genotypes expressed differences for plant height and ear, by the magnitude of their vectors, whereas genotypes were statistically equal in yield. Parents deriving from a population of a wide genetic variability can be selected and crossbred in the form of dented x crystalline, which allows to find a good heterotic behavior, and to choose a better scheme of inter-population melioration.

**Key words:** *Zea mays* L., North Carolina design I, genetic parameters, heritability.

## Resumen

Para estudiar el potencial genotécnico de una población existen diversos diseños de apareamiento, que permiten estimar los efectos y varianzas genéticas. Los objetivos del presente trabajo fueron: a) Estimar la proporción de varianza genética aditiva y de dominancia y la heredabilidad de una población de maíz amarillo; y b) Sugerir un procedimiento de mejoramiento genético efectivo, que permita mejorar las características de herencia cuantitativa presentes en la población. Se utilizaron 300 familias de hermanos completos (FHC), desarrollados bajo el diseño I de Carolina del Norte y evaluados en Úrsulo Galván, Ver., México, utilizando un diseño experimental de bloques incompletos con arreglo alfa latice (0.1), con dos repeticiones. Los efectos y varianzas genéticas se estimaron con el procedimiento VARCOMP (Method=type1) e IML del programa SAS. Los resultados indicaron que la población mostró una estructura genética con pocas diferencias entre y dentro de variables. La mayor proporción de la varianza genética se atribuyó a los efectos aditivos, en altura de mazorca  $\sigma_A^2 = 44.68$ , y rendimiento  $\sigma_A^2 = 0.13$ . La  $\sigma_D^2$  para todas las variables fue igual a cero. La  $h^2$  para rendimiento fue 17 %. En el biplot se observó que los genotipos se expresaron diferente para altura de planta y mazorca, por la magnitud de sus vectores, mientras que en rendimiento los genotipos fueron estadísticamente iguales. Los progenitores derivados de una población de amplia variabilidad genética pueden ser seleccionados y cruzarse en forma de dentados por cristalinos, lo cual permite encontrar un buen comportamiento heterótico, y elegir un mejor esquema de mejoramiento inter-poblacional.

**Palabras clave:** *Zea mays* L., Diseño I de Carolina del Norte, parámetros genéticos, y heredabilidad.

## Introducción

La estimación de componentes de varianza genética es importante en genética cuantitativa, donde siempre se requiere un diseño de apareamiento genético, para la estimación de varianza aditiva y dominancia, lo que posibilita el cálculo de la heredabilidad y respuesta a la selección (Wu *et al.*, 2006). Hallauer y Miranda (1981), revisaron varios trabajos y encontraron que la varianza genética aditiva para rendimiento de grano, generalmente es 2 a 4 veces mayor que la varianza de dominancia. Lamkey y Edwards (1999) agregan que estas diferencias dependen de la población bajo estudio, y que los efectos aditivos son más importantes que los de dominancia en poblaciones de amplia base genética. Los componentes de varianza son por definición valores positivos, a pesar de esto, las estimaciones de varianza pueden ser negativas, pudiendo deberse esto a un inadecuado modelo genético, por no considerar la varianza epistática, muestra inadecuada, e inapropiada técnica experimental (Searle, 1971).

En los diseños genéticos se hace una serie de supuestos, que pueden no corresponder a las situaciones reales y son: apareamiento aleatorio, organismos diploides, solo dos alelos en cada locus y ausencia de epistasis y de ligamiento entre loci (Márquez, 1992). Márquez y Hallauer (1970) estudiaron el efecto del tamaño de muestra para machos y hembras por macho, concluyendo que un número mínimo de 32 machos, y una muestra de ocho hembras por macho eran adecuados para el carácter rendimiento en maíz. Gouesnard y Gallais (1992), refiriéndose también el Diseño I, resaltan la falta de congruencia entre realidad y modelo genético, y destacan que en ocasiones los efectos recíprocos y la epistasis, usualmente supuestos ausentes o despreciables, son fuente de sesgos en la estimación de la varianza de dominancia; estos autores encontraron que una desviación del modelo de apareamiento aleatorio, consistente en el apareamiento de un macho con hembras correlacionadas, produce un sesgo positivo en la estimación de la varianza aditiva.

La heredabilidad de un carácter métrico es una de sus propiedades más importantes, y se define como el cociente de la varianza genética aditiva sobre la varianza fenotípica (Falconer, 1990), que determina la ganancia genética de selección y una estrategia de mejoramiento (Falconer y Mackay, 1996). El grado de precisión del estimador de  $H^2$  o  $h^2$  dependerá a su vez del grado de precisión con que se estime  $\sigma_G^2$  o  $\sigma_A^2$  y del valor de  $\sigma_p^2$ . Y su importancia reviste en el mejoramiento genético por selección (Molina, 1992). La heredabilidad ( $h^2$ ) difiere según la característica en estudio, Hallauer y Maranda (1981), encontraron que el porcentaje de heredabilidad para rendimiento de grano

y longitud de grano es menor a 30 %, mientras que para, altura de planta fue  $>50<70\%$  y  $>30<50\%$  en prolificidad. La magnitud de las estimaciones de heredabilidad, es afectada por el ambiente, población de referencia, muestra de genotipos evaluados, método de cálculo y tipo de progenies.

Cuando se ha obtenido una estima se desea poder indicar su precisión, y es el error estándar una herramienta aceptada científicamente. La precisión de una estima depende de su varianza del muestreo; mientras más pequeña sea ésta, se obtendrá una precisión más alta y el error estándar es la raíz cuadrada de la varianza del muestreo. La precisión de un estima de heredabilidad, es indicado por su error estándar (Falconer, 1990). Otros factores que afectan la calidad de los estimadores son el número de repeticiones utilizadas en el experimento de evaluación y el nivel de endogamia de los progenitores de las familias evaluadas (Márquez y Sahagún, 1994). Sahagún (1997), encontró que el nivel de endogamia de los progenitores guarda una relación directa con la precisión de los estimadores de los componentes de varianza genéticos en los Diseños I y II de Carolina del Norte. En el caso del Diseño I se encontró que al utilizar dos repeticiones y progenitores con un coeficiente de endogamia igual a 0.5, se obtienen estimadores de la varianza de dominancia más precisos que los obtenidos con cinco repeticiones y progenitores no endogámicos.

Un programa de desarrollo de híbridos por lo general necesita un mínimo de dos poblaciones contrastantes de buen comportamiento *per se* que muestren un alto grado de heterosis en las combinaciones híbridas. El primer intento para una identificación sistemática de complejos raciales y grupos heteróticos de germoplasma tropical fue hecho por Wellhausen a principios de los años 60, en donde el mejor par heterótico fue Tuxpeño en combinación con ETO. Uno de los patrones heteróticos más conocidos esta compuesto por Reid Yellow Dent por Lancaster Sure Crop, (Dentado por Cristalino) para el mundo, mientras que para Europa el US Dent y European Flint, el CIMMYT ha realizado un amplio trabajo en la clasificación de germoplasma, principalmente en maíces tropicales y subtropicales (Paliwal, 2001). Melchinguer y Gumber (1998), definen un grupo heterótico como un grupo de individuos relacionados o no, que provienen de la misma o diferente población pero que muestran similar comportamiento en aptitud combinatoria y heterosis cuando se cruzan con individuos de otro grupo genéticamente diferente. Y un patrón heterótico lo definen un par de grupos heteróticos complementarios que al cruzarse producen descendencia que exhibe una alta heterosis y un excelente desempeño de híbridos. De León *et al.* (2005), encuentra que las combinaciones germoplasmicas de

mayor potencial de rendimiento para la región de El Bajío, son maíz enano en combinación con maíz tropical y maíz enano con maíz de alta calidad de proteína.

El concepto de biplot fue originalmente propuesto por Gabriel (1971), el objetivo principal de esta figura es resumir en una grafica, los patrones de respuesta que existen en datos originales (Gabriel, 1978), originado a partir de los dos primeros componentes principales, que permite una exploración rápida y fácil de una matriz de datos, ordenados en un cuadro de doble entrada. La gráfica biplots ha sido utilizada por mejoradores de plantas, para explicar el comportamiento de materiales evaluados en un mega ambiente, y conocer la interacción genotipo ambiente, e identificar materiales con mejor comportamiento entre y dentro de sitios de evaluación, de la misma forma ha permitido conocer la relación genética entre materiales, para la integración de grupos germoplásmicos (Yan *et al.*, 2000; Yan *et al.*, 2001 y Yan *et al.*, 2002; y De León *et al.*, 2005). Bargueño *et al.* (2003), mencionan que la grafica biplot GE y GGE, sirven para analizar características multi-regionales y estudiar la interacción genotipo ambiente (GEI), a través de modelos bi-lineales como AMMI o SREG. Que permiten describir la interacción genotipo ambiente e identificar mega-ambientes y materiales con el mejor comportamiento.

En el Programa de Mejoramiento Genético correspondiente al trópico húmedo, el Instituto Mexicano del Maíz Dr. Mario E. Castro Gil de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, trabaja en el mejoramiento genético de maíz amarillo, con el objetivo de conformar poblaciones con alta frecuencia de alelos favorables y excelente comportamiento agronómico, de donde se puedan derivar líneas endogámicas, con aptitud para la formación de variedades e híbridos con excelentes rendimientos. Los objetivos del presente trabajo fueron: a) estimar la proporción de varianza genética aditiva y de dominancia y la heredabilidad en sentido estricto, a una población de maíz amarillo; y b) sugerir un efectivo procedimiento de mejoramiento genético, que permita mejorar las características de herencia cuantitativa presentes en la población.

## Materiales y Métodos

### Material genético

Los componentes de varianza genética se estimaron de 300 familias de hermanos completos de maíz amarillo tropical. Obtenidas del apareamiento de 50 progenitores masculinos de grano cristalino, cada uno apareado con seis hembras de grano dentado, de acuerdo al Diseño I de Carolina del Norte (Comstock y Robinson, 1948). Donde el nivel de endogamia de ambos progenitores fue de 0.5.

El ensayo se realizó de diciembre a mayo de 2006, bajo un diseño de bloques incompletos con arreglo alfa latice (0.1), en la localidad de Úrsulo Galván, Ver., México, con dos repeticiones, siendo la unidad experimental de dos surcos de 5 m con 25 plantas por parcela aproximadamente, cada repetición constó de 10 bloques, los que a su vez, estaban formados por 30 parcelas de familia de hermanos completos cada una. El modelo lineal empleado para el diseño de bloques incompletos fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + B_{j(i)} + \gamma_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:  $Y_{ijk}$  = valor observado en un tratamiento,  $\mu$  = efecto de la media general,  $\alpha_i$  = efecto de la i-ésima repetición,  $B_{j(i)}$  = efecto del j-ésimo bloque dentro de la i-ésima repetición,  $\gamma_k$  = efecto de la k-ésima familia de hermanos completos y  $\varepsilon_{ijk}$  = error experimental.

### Análisis estadísticos

Se realizaron análisis genéticos estadísticos a las variables: altura de planta, altura de mazorca, prolificidad y rendimiento. Los valores de varianza aditiva ( $\sigma_A^2$ ), varianza de dominancia ( $\sigma_D^2$ ), heredabilidad en sentido estricto ( $h^2$ ) y errores estándar, se estimaron utilizando el paquete estadístico SAS Ver. 8, con los procedimientos, GLM, VARCOMP (Method=type1), e IML. Las instrucciones proporcionadas al programa fueron siguiendo las fórmulas de Hallauer y Miranda (1981). El modelo lineal del análisis genético fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + R_i + G_j + GR_{ij} + M_{k(j)} + H_{l(k*j)} + Eijkl$$

En donde para:  $Y_{ijkl}$  = observación del k-ésimo macho cruzado con la l-ésima hembra, en la i-ésima repetición, dentro del j-ésimo grupo;  $\mu$  = efecto de la media general;  $R_i$  = efecto de i-ésima repetición;  $G_j$  = efecto de j-ésimo bloque;  $GR_{ij}$  = efecto del j-ésimo grupo por la i-ésima repetición,  $M_{k(j)}$  = efecto del k-ésimo macho dentro del j-ésimo bloque;  $H_{l(k*j)}$  = efecto de la l-ésima hembra dentro del k-ésimo macho dentro de j-ésimo bloque y,  $Eijkl$  = Efecto de la variabilidad no controlada.

### Procedimiento estadístico para obtener la figura biplot

El biplot GGE fue diseñado para analizar ensayos multiregionales, de la misma forma se a utilizó para estudiar le relación que guardan los genotipos y características (Yan y Rajcan, 2002), donde el biplot es construido por los dos primeros componentes principales. El modelo empleado en el biplot GT fue:

$$Y_{ij} - \bar{Y}_j = \lambda_1 \xi_{i1} \eta_{j1} + \lambda_2 \xi_{i2} \eta_{j2} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = es el valor promedio del  $i$ -ésimo genotipo en la  $j$ -ésima variable;  $\bar{Y}_j$  = es el valor promedio para todos los genotipos en la  $j$ -ésima variable;  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  = son los valores singulares para el CP1 y CP", respectivamente;  $\xi_{i1}$  e  $\xi_{i2}$  = vectores característicos de el CP1 y CP" respectivamente, para el  $i$ -ésimo genotipo;  $\eta_{j1}$  y  $\eta_{j2}$  = son los vectores característicos para el CP1 y CP respectivamente, en la  $j$ -ésima variable;  $\epsilon_{ij}$  = error del modelo asociado en el genotipo  $i$  en la variable  $j$ .

**Resultados y Discusión**

La interpretación y discusión de los resultados que se muestran en Cuadro1, se realizó considerándolos como un modelo de efectos fijos en este caso, ya que es de importancia para el programa de mejoramiento.

En el Cuadro1 la fuente de variación de repeticiones, las variables que mostraron diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ) fueron; altura de planta y prolificidad, lo cual permite indicar que estas variables

presentaron comportamiento diferente, entre repeticiones, que puede atribuirse a una heterogeneidad de las condiciones de los bloques. En el estudio de poblaciones bajo el Diseño I de Carolina del Norte, comúnmente se presentan un número grande familias de hermanos completos que evaluar, en la cual se recomienda realizar bloques o grupos dentro de cada repetición, se comprueba su utilidad en los resultados obtenidos en este trabajo. En la fuente de variación de grupos, resultó altamente significativo ( $P \leq 0.01$ ) para las variables altura de planta, y prolificidad.

En la fuente de variación de machos dentro de grupos, se encontró diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.01$ ), en altura de planta, altura de mazorca, indicando que la agrupación de machos dentro de grupos, sólo en algunas características presentaron diferencias más significativas. En la fuente de variación para hembras dentro de machos, no hubo diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas.

Los valores de los componentes de varianza genética aditiva y de dominancia fueron diferentes para cada variable. Siendo la varianza aditiva mayor a los valores de

**Cuadro 1.** Cuadrados medios y parámetros genéticos a través del Diseño I de Carolina del Norte, 2006.

FV	GL	Altura de planta	Altura de mazorca	Prolificidad	Rendimiento
Rep	1	1683.37 **	504.16	0.252 **	0.18
Gpos	9	592.96 **	242.24	0.056 **	1.47
Gpos*Rep	9	135.78	241.11	0.029 **	4.95 **
M(G)	40	333.91 **	284.56 **	0.013	1.04
H/M/G	250	204.97	150.52	0.012	0.64
Error	290	195.88	154.17	0.013	0.86
C.V		8.17	14.51	12.082	12.11
$\sigma_A^2$		42.97	44.69	0.003	0.13
$EE\sigma_A^2$		25.04	21.18	0.001	0.08
$\sigma_D^2$		-24.77	-52.10	-0.002	-0.57
$EE\sigma_D^2$		54.88	42.65	0.003	0.20
$h^2$		0.20	0.27	0.027	0.17
$EEh^2$		0.12	0.13	0.080	0.10

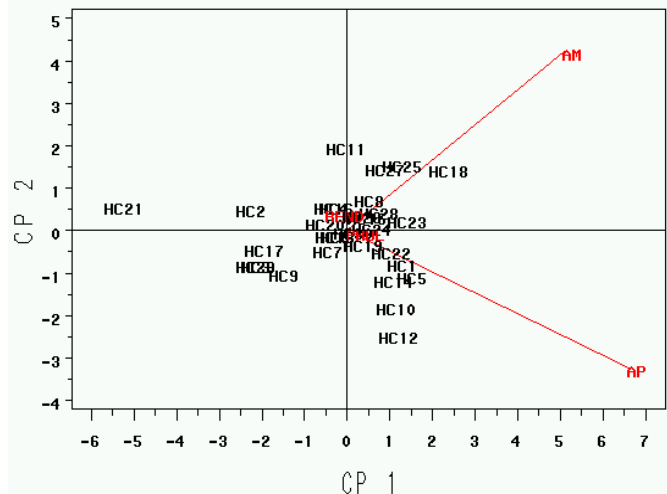
\*, \*\* Significativos a los niveles de probabilidad  $P \leq 0.05$  y  $P \leq 0.01$ , respectivamente; G.l = Grados de libertad; Rep = Repeticiones; M = machos; H (M) = hembras dentro de machos; y C.V = coeficiente de variación.  $\sigma_M^2$  = varianza de machos;  $\sigma_{H/M}^2$  = varianza de hembras dentro de machos;  $\sigma_A^2$  = varianza aditiva;  $EE\sigma_A^2$  = error estándar de la varianza aditiva; = varianza de dominancia; = error estándar de la varianza de dominancia y = heredabilidad en sentido estricto;= error estándar de la heredabilidad en sentido estricto.

la varianza de dominancia. Hallauer y Miranda (1981), reportan que la varianza genética aditiva, fue dos a cuatro veces mayor que la varianza de dominancia, al evaluar el rendimiento de grano, revisados en diferentes trabajos. Lamkey y Edwards (1999), mencionan que estas diferencias dependen de la población bajo estudio. En la varianza dominancia para las variables altura de planta, altura de mazorca, prolificidad y rendimiento, fueron valores negativos y considerados como iguales a cero. Estos resultados comúnmente se presentan al utilizar el Diseño I de Carolina del Norte, (Comstoc y Robinsón, 1948; 1952), Gouesnard y Gallais (1992), lo atribuyen, a la presencia de epistasis en el estudio, supuestos despreciables en el modelo. Márquez y Sahagún (2000), además de la epistasis agregan, la endogamia como un supuesto que debería ser considerado.

Los valores para heredabilidad ( $h^2$ ) obtenidos para altura de planta y altura de mazorca, 0.203 y 0.273, respectivamente, se considera como bajos, y rendimiento los valores fueron 0.170. Hallauer y Miranda (1981), mencionan que los valores de heredabilidad difieren según la población y la característica en estudio, y que estos son influenciados por el ambiente. El mismo autor menciona que la heredabilidad en rendimiento de grano en maíz es menor a la heredabilidad de las demás características, y le proporciona un valor menor al 30%, los valores más altos de heredabilidad los encuentra en altura de planta y mazorca con valores mayores de 50 % y menores de 70 %.

El error estándar se utiliza como un criterio para medir la precisión de los estimadores, de modo que un estimador será mas preciso en la medida que su varianza sea mas pequeña (Márquez y Sahagún, 1994). Respecto a la varianza aditiva se puede observar que los errores estándar generalmente fueron mas pequeños respecto a la varianza de dominación corroborando las conclusiones de Márquez y Sahagún (1994), en donde el Diseño I de Carolina del Norte estima con mayor precisión la varianza aditiva.

La representación grafica biplot clasificó a los efectos principales de una manera sencilla de interpretar, permitiendo realizar una mejor observación de la relación de los genotipos y las variables evaluadas. Este tipo de graficas se ha utilizado eficientemente para interpretar la interacción genotipo-ambiente, he identificar materiales para futuros esquemas de mejoramiento, con características convenientes al investigador. En la grafica biplot GT, un vector es señalado con una línea, desde el punto de origen, señalando la característica de mayor impacto de acuerdo a la magnitud de la línea, esto permite una mejor visualización de las relaciones entre y dentro las variables en estudio.

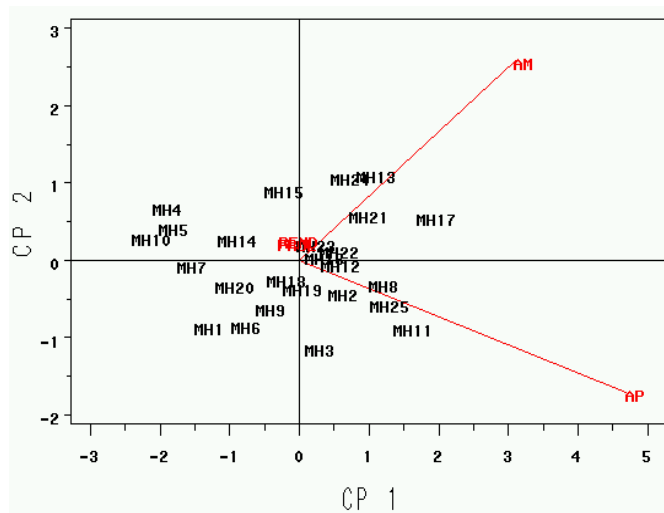


**Figura 1.** Gráfica Biplots Genotipo-Característica (GT), de 30 familias de hermanos completos. CP1 y CP2 componente principal uno y dos respectivamente. AP = altura de planta, AM = altura de mazorca, MZC = mazorcas cosechadas, PROL = prolificidad y REND = rendimiento. HC = hermanos completos.

En la Figura 1 la mayor variación explicada por el biplot está dada por altura de planta y altura de mazorca, expresada por la magnitud relativa de sus vectores. La interrelación entre estas características es más relevante en el mejoramiento. Una relación cercana a cero es la que existe entre rendimiento y prolificidad. La Figura 1 muestra que el biplot GT, puede ser usado para identificar genotipos sobre varias características e identificar aquellos que particularmente puedan ser progenitores, en un esquema de mejoramiento. Este procedimiento fue igualmente eficiente como lo aplica Yan *et al.* (2002). Los genotipos que se encuentran más cercanos al vector de las características expresan un valor mas alto, como puede observarse en el rendimiento no es el que más contribuye, ya que los valores de rendimiento presentaron diferencias muy bajas.

Con el objetivo de identificar progenitores que puedan servir en un esquema de mejoramiento, se graficaron 25 familias de medios hermanos seleccionados a través de su buen rendimiento. Esto permitió ubicar gráficamente la relación que guardan los genotipos contra el rendimiento, altura de planta, altura de mazorca, y prolificidad.

La grafica biplot (Figura 2) muestra que las familias de medios hermanos expresan mayor diferencia para las variables altura de planta, y altura de mazorca, visualizada por la magnitud de sus vectores. Para cada variable se ubican los genotipos con valores más altos, y de mayor peso para cada característica. Lo cual permite seleccionar los genotipos.



**Figura 2.** Gráfica biplots genotipo-característica (GT), de 25 familias de medios hermanos. CP1 y CP2 componente principal uno y dos respectivamente. AP = altura de planta, AM = altura de mazorca, PROL = prolificidad y REND = rendimiento. MH = medios hermanos.

### Conclusiones

La población concentra una mayor proporción de acción génica aditiva. Los valores de la varianza de dominancia fueron iguales a cero. La heredabilidad presente en la población para todas las variables fue baja. La grafica biplot ayudó a visualizar mejor la selección de los materiales seleccionados, como progenitores de un esquema de mejoramiento inter-poblacional. En la estimación de componentes de varianza bajo el Diseño I, los progenitores derivados de una población de amplia variabilidad genética pueden ser, seleccionados y cruzarse en forma de dentados por cristalinos, lo cual permite encontrar un buen comportamiento heterótico, y elegir un esquema de mejoramiento inter-poblacional, teniendo un avance en el mejoramiento.

### Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haber financiado parcialmente la realización de este trabajo, el cual forma parte del Proyecto de Investigación de Maíz para Trópico Húmedo.

### Literatura Citada

Comstock, R. E., and H. F. Robinson. 1948. The components of genetic variance in a population of biparental progenies and their use in estimating the average degree of dominance. *Biometrics* 4: 254-266.

Comstock, R. E. and H. F. Robinson. 1952. Estimation of the average dominance of genes. pp. 494-516. *In: J. W. Gowen (Ed.), Heterosis*. College Press, Ames. Iowa State, USA.

De León-Castillo, H., F. Rincón-Sánchez, M, H. Reyes-

Valdés, D. Samano-Garduño, G. Martínez-Zambrano, R. Cavazos-Cadena y J. D. Figueroa-Cárdenas. 2005. Potencial de rendimiento y estabilidad de combinaciones germoplásmicas formadas entre grupos de maíz. *Rev. Fitotec. Méx.* 28(2): 135-143.

Falconer, D. S. 1990. *Introduction to Quantitative Genetics*. 3rd ed. Longman, USA. 438 p.

Gabriel, K., R. 1971. The biplot-graphical display of matrices with applications to principal components analysis. *Biometrika* 58:453-467.

Gouesnard, B., and A. Gallais. 1992. Genetic variance component estimation in a nested mating design with positive assortative mating, and application to maize. *Crop Sci.* 32: 1127-1131.

Hallauer, A. R. and J. B. Miranda, Fo. 1981. *Quantitative genetics in maize breeding*. First ed. Univ. Press, Ames. Iowa State, USA. 468 p.

Lamkey, K. R. and J. W. Edwards. 1999. The quantitative genetics of heterosis. pp. 31-48. *In: J.G. Coors and S. Pandey (ed.) The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops*, CIMMYT, Mexico City, Mexico, 17-22 Aug. 1997. ASA, CSSA, and SSSA, Madison.

Márquez-Sánchez, F., and A. R. Hallauer. 1970. Influence of sample size on the estimation of genetic variances in a synthetic variety of maize. I. Grain yield. *Crop Sci.* 10: 357-361.

Márquez, S., F. 1992. *Genotecnia Vegetal. Tomo I. Métodos, Teoría, Resultados*. AGT, Ed. México. 357 p.

Márquez, S. F., y J. Sahagún-Castellanos. 2000. Estimación de varianzas genéticas en maíz con familias independientes de hermanos completos. *Agrociencia* 34: 437-444.

Melchinger, A. E, R. K. Gumber. 1998. Overview of heterosis and heterotic groups in agronomic crops. pp: 29-44. *In: Concepts and Breeding of Heterosis in Crop plants*. K. R. Lamkey, J. E. Staub (eds). Madison, Wisconsin. USA.

Molina, G. J. D. 1992. *Introducción a la Genética de poblaciones y cuantitativa (algunas implicaciones en genotecnia)*. 1<sup>er</sup> ed. AGT, Editor. México, D. F. 349 p.

Paliwal, R. L., G. Granados, H. R. Lafitte, A. D. Violic., J. P. Marathe. 2001. *Mejoramiento del maíz híbrido*. *In: El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. 1er. Ed. Roma, Italia.

Sahagún, C., J. 1997. Precisión de estimadores de componentes de varianza del Diseño I de Carolina del Norte con progenitores endogámicos. *Rev. Fitotec. Mex.* 20(1):1-12.

Searle, S. R. 1971. Topics in variance component estimation. *Biometrics*. 27:1-74.

Wu, J., J. N. Jenkins, J. C. McCarty, and D. Wu. 2006. Variance component estimation using the additive, dominance, and additive x additive model when genotypes vary across environments. *Crop Sci.* 46:174-179.

# Acondicionamiento Osmótico de Semilla de Chile Ancho (*Capsicum annuum* L.)

\*Norma Angélica Ruiz Torres<sup>1</sup>, Rodolfo Ramírez Manzanares<sup>1</sup>, Froylán Rincón Sánchez<sup>1</sup>, Valentín Robledo Torres<sup>2</sup>, Candelario Díaz García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Fitomejoramiento, <sup>2</sup>Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. 25315. Saltillo, Coah., México. E-mail: nrui@uaaan.mx (\*Autor responsable).

## Abstract

One of the main obstacles for the commercialization of some cultivars of chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) is the difficulty to induce the germination of the seed, reason why the objective of this assay was to determine the time of immersion needed by the seeds of Chile ancho (dried poblano peppers) in solutions of polyethylene glycol 8000, for its pre-germination through osmotic preparation, and to obtain a uniform germination in a shorter time. The following treatments were applied: 0 (witness), 12, 24 and 48 h, in a solution of polyethylene glycol (PEG 8000) with an osmotic potential of -1.20 MPa. After concluding the treatments the seed was dried at room temperature and stored. Later on, the osmoprimed seed was assayed for standard germination, evaluating normal and abnormal seedlings, non-germinated seeds, length of epicotyl and radicle. The osmoprimed seed showed a superior germinative capacity by a period of 12 h (84%) as compared with the witness (61%). This indicates that osmopriming has a positive impact, expressing itself in a high percentage of germination. The most outstanding characteristics of osmoprimed seed are germination in a shorter time –in comparison with the seed without a treatment–, a more uniform germination, and elimination of factors inducing latency.

**Key words:** Seed, osmopriming, germination.

## Resumen

Una de las principales limitantes para la explotación comercial de algunos cultivares de chile (*Capsicum annuum* L.) es la dificultad para inducir la germinación de la semilla. Por lo que el objetivo del presente estudio fue determinar el tiempo necesario de inmersión de semillas de chile ancho en soluciones de polietilenglicol 8000, para su pre-germinación a través de acondicionamiento osmótico, y obtener resultados de germinación uniforme en un menor tiempo. Se aplicaron los siguientes tratamientos: 0 (testigo), 12, 24 y 48 h, en una solución de polietilenglicol (PEG 8000), con un potencial osmótico de -1.20 MPa. Al concluir los tratamientos la semilla se secó a temperatura ambiente y se almacenó. Posteriormente, la semilla osmoacondicionada se ensayó para germinación estándar, evaluando plántulas normales, anormales, semilla no germinada, longitud de epicótilo y de radícula. La semilla osmoacondicionada por un periodo de 12 h mostró superior capacidad germinativa (84 %) en comparación con el testigo (61%), lo cual indica que el osmoacondicionamiento tiene un impacto positivo, expresándose en un alto porcentaje de germinación. Las características más sobresalientes de la semilla osmoacondicionada son una germinación en menor tiempo en comparación con la semilla sin tratar, germinación uniforme y eliminación de factores que inducen latencia.

**Palabras clave:** Semilla, osmoacondicionamiento, germinación.

## Introducción

El chile (*Capsicum annuum* L.) es uno de los cultivos hortícolas de mayor importancia en México. Es una hortaliza de consumo popular, especialmente en estado fresco, aunque también se consume procesado (Valadez, 1996). Es un cultivo de amplio rango ambiental que permite su producción en cualquier época del año, satisfaciendo la

demanda de los principales mercados nacionales y del extranjero (Laborde y Pozo, 1984).

Una de las principales limitantes para la explotación comercial de algunos cultivares de chile es la dificultad para inducir la germinación de la semilla. Se han utilizado tratamientos pregerminativos de hidratación-deshidratación, para revigorigar semillas envejecidas,

acelerar y uniformizar la germinación, e incrementar los rendimientos de los cultivos bajo condiciones óptimas y adversas (Burgass y Powell, 1984 y Bradford, 1986).

Estos procedimientos consisten en la inmersión de las semillas en soluciones osmóticas durante cierto tiempo con un periodo de secado previo a la siembra (Henckel, 1982). El osmoacondicionamiento permite que una gran proporción de las semillas alcance rápidamente el nivel de humedad y estado metabólico deseado, como consecuencia de la activación de numerosos procesos bioquímicos-fisiológicos relacionados con la germinación, la tolerancia al estrés ambiental y a la auto reparación enzimática de las membranas celulares (Bray, 1995).

En estos tratamientos pregerminativos se utilizan soluciones osmóticas y agua; y se dividen en dos grupos: 1). Las soluciones compuestas por un polímero de alto peso molecular (de 100 a 20,000) conocido como polietilenglicol (PEG) o Carbowax (Gray *et al.*, 1991); y 2. Mezclas de  $K_3PO_4$  y  $KNO_3$  (Suzuki *et al.*, 1989; Rehman *et al.*, 1998).

Taylor *et al.* (1998); Welbaum *et al.* (1998) y McDonald (2000) mencionan que los tratamientos preacondicionadores de semilla se pueden utilizar para incrementar la capacidad germinativa. Por su parte Thanos *et al.* (1989), estudiaron la relación existente entre el osmoacondicionamiento y el envejecimiento de las semillas de pimiento (*Capsicum annuum* L.), almacenadas durante tres años, logrando incrementar significativamente la germinación con respecto a las semillas no tratadas, con un sólo ciclo de osmoacondicionamiento en manitol antes y después del almacenamiento.

Es un hecho que el acondicionamiento osmótico encarece el precio de venta de las semillas, sin embargo los resultados se ven reflejados en una rápida germinación, en la uniformidad de las plantas al germinar y en el vigor de las mismas (INCOTEC, 2000).

El objetivo del presente estudio fue determinar el tiempo necesario de inmersión de semillas de chile ancho en soluciones de polietilenglicol 8000, para su pregerminación a través de acondicionamiento osmótico, y obtener resultados de germinación uniformes en un menor tiempo.

## Materiales y Métodos

En la primavera del 2004, se sometió a un proceso de acondicionamiento osmótico a un lote de semilla cosechada en otoño de 2003. Se utilizó una solución de polietilenglicol (PEG 8,000), con un potencial osmótico de -1.20 MPa, la cual se preparó considerando la fórmula de Taylor *et al.* (1998).

La técnica es sencilla y comprende dos fases, primeramente, la semilla embebe agua en condiciones aerobias utilizando una solución acuosa de potencial osmótico controlado, que garantiza que las semillas absorban agua suficiente para llegar a la fase II, previo a la emergencia de la radícula. En segundo lugar, las semillas se siembran después de un período de almacenamiento con previa desecación.

Se colocaron 200 semillas en la solución de PEG contenida en frascos de vidrio. El volumen de polietilenglicol en ml se calculó considerando el peso de las 200 semillas de acuerdo a lo recomendado por Bruggink *et al.* (1999) y Dahal y Bradford (1994). Los frascos con semilla se mantuvieron en una cámara para germinación a una temperatura constante de 20 °C y en oscuridad completa. La semilla se osmoacondicionó durante 0, 12, 24 y 48 h, agitando periódicamente cada uno de los frascos.

Después del acondicionamiento osmótico, la semilla se secó a temperatura ambiente y se almacenó por 5 días en sobres de papel. Posteriormente se realizó un ensayo para germinación estándar de acuerdo a ISTA (1996). Las variables evaluadas fueron: plántulas normales, anormales, semilla no germinada, longitud de epicótilo y de longitud de radícula. Los resultados se reportaron expresados en porcentaje.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, se realizó un análisis de varianza y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ). El análisis se realizó con el procedimiento PROC GLM de SAS (SAS, 1999).

## Resultados y Discusión

En el Cuadro 1 se presenta la comparación de medias entre tratamientos para las variables plántulas normales (PN), plántulas anormales (PA), semilla sin germinar (SSG), longitud de epicótilo (LE) y longitud de radícula (LR).

De acuerdo a los resultados, el osmoacondicionamiento en la solución de polietilenglicol por 12 h, mejoró significativamente la capacidad germinativa de la semilla en estudio, observándose un incremento del 27 % respecto al testigo. Por otra parte, los tratamientos aplicados por 24 y 48 h mejoraron el porcentaje de germinación en 22 y 23 %, respectivamente. Los resultados anteriores concuerdan con Welbaum *et al.* (1998) y McDonald (2000) quienes mencionan que los tratamientos preacondicionadores de semilla se pueden utilizar para Incrementar la capacidad germinativa y acelerar y sincronizar la germinación. El osmoacondicionamiento activa procesos fisiológicos y

bioquímicos, que se traducen en transformaciones metabólicas necesarias para la germinación de las semillas en menor tiempo.

Los resultados indican que el tratamiento de polietilenglicol por 12 h redujo en 53 % la presencia de plántulas anormales con alguna deficiencia en el desarrollo de sus estructuras. En los tratamientos de osmoacondicionamiento por 24 y 48 h se redujo la presencia de plántulas anormales en 38 y 44 %, respectivamente.

El por ciento de semillas sin germinar se redujo significativamente al osmoacondicionar en polietilenglicol en los tres periodos evaluados (12, 24 y 48 h). La reducción fue de 86 % con 12 h de tratamiento, y 72 % con 24 y 48 h en polietilenglicol.

**Cuadro 1.** Comparación de medias de variables evaluadas en ensayo de germinación estándar en semilla osmoacondicionada por diferentes periodos de tiempo.

Tratamiento (h)	PN	PA (%)	SSG	LE (mm)	LR
0	61 b	32 a	7 a	2.30 a	10.9 b
12	84 a	15 b	1 b	2.13 ab	13.1 a
24	78 a	20 b	2 b	2.03 b	12.4 a
48	80 a	18 b	2 b	2.18 ab	12.4 a
Tukey	10	9	3	0.21	0.8

Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, según prueba de Tukey ( $P < 5\%$ ).

PN = Plántulas normales; PA = Plántulas anormales; SSG = Semilla sin germinar; LE = Longitud de epicótilo y LR = Longitud de radícula.

Para la longitud de epicótilo, se observaron diferencias significativas entre el testigo y el tratamiento de 24 h; polietilenglicol inhibió el desarrollo en un 12 %.

La longitud radicular mostró un incremento al osmoacondicionar la semilla, se presentaron diferencias significativas entre el testigo y los tratamientos. El incremento con respecto al testigo fue de 20.2 % (12 h) y 13.8 % (24 y 48 h). En este sentido, McDonald (2000) reporta que uno de los beneficios del osmoacondicionamiento de semillas es la estimulación en el crecimiento de la raíz, lo cual coincide con los resultados obtenidos en este trabajo.

Los resultados indican que el osmoacondicionamiento mejoró el comportamiento de la germinación de semilla, al incrementar la capacidad germinativa y estimular el crecimiento del sistema radicular.

## Conclusiones

El acondicionamiento osmótico de semilla de chile ancho (*Capsicum annuum* L.) en una solución de polietilenglicol (PEG 8000), con un potencial osmótico de -1.20 MPa y por 12 h, incrementa la capacidad germinativa y estimula el crecimiento del sistema radicular. Osmoacondicionar la semilla da como resultado una germinación uniforme en un periodo de tiempo menor.

## Literatura Citada

- Bradford, K. J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *Hort. Science* 21:1105-1112.
- Bray, C.M. 1995. Biochemical processes during the osmopriming of seeds. pp. 767-789. *In: Seed development and germination*. J. Kigel and G. Galili (eds.). New York, Basel, Hong Kong, Marcel Dekker, Inc.
- Bruggink, G.T., J.J.J. Ooms and P.van der Toorn. 1999. Induction of longevity in primed seeds. *Seed Sci. Res.* 9: 49-53.
- Burgass, R. W. and A. A. Powell. 1984. Evidence for repair processes in the invigoration of seeds by hydration. *Ann. Bot.* 53:753-757.
- Dahal, P., K. and J. Bradford. 1994. Hydrothermal time analysis of tomato seed germination at suboptimal temperature and reduce water potential. *Seed Sci. Res.* 4:71-80.
- Gray, D., L.K. Drew R., W Bujalski and A.W. Nienow. 1991. Comparison of polyethilenglycol polymers, betaine and L-proline for priming vegetable seeds. *Seed Sci. Technol.* 26:363-376.
- Henckel, P. A. 1982. Fisiología de las plantas al calor y a la sequía. Nauka, Moscú. 280 p.
- Integrated Coating and Seed Technology (INCOTEC). 2000. Efectos de seed priming, ácidos giberélicos y estratificación en la germinación de las semillas.
- International Seed Testing Association (ISTA). 1996. International Rules for Seed Testing. Rules 1996. *Seed Sci & Technol*, Zürich, Switzeland. pp: 274-333.
- Khan, A. A. 1992. Preplant physiological seed conditioning. *Hort. Rev.* 14:131-181.
- McDonald, M. B. 2000. Seed priming. pp: 286-325. *In: Seed Technology and its biological basic*. Ed. By M. Black and J.D. Bewley Sheffied, Academic Press.
- Laborde, J. A. y O. Pozo. 1984. Presente y pasado del chile en México. Publicación especial No 85. INIA, SARH. 80 p.
- Rehman, S., J. C. Harris, and W. F. Bourne. 1998. Effects of presowing treatments with calcium salts, po-

- tassium salts, or germination and salt tolerance of *Acacia* seeds. J. Plant Nutr. 21:277-285.
- SAS Institute Inc. 1999. SAS/STAT User's guide. SAS Inst. Inc., Cary, N.C. USA.
- Suzuki, H., S. Obayanhi and H. Luo. 1989. Effects of salt solutions on the priming of several vegetable seeds. J. Japanese. Soc. Hort. Sci. 38:131-138.
- Taylor, A. G., P. S. Allen, M. A. Bennett, K. J. Bradford, J. S. Burris and M. K. Misra. 1998. Seed enhancements. Seed Sci. Res. 8:245-256.
- Thanos C., A., K. Georghiou, and M. Passam 1989. Osmoconditioning and ageing of pepper seeds during storage. Ann. Bot. 63:65-69.
- Valadez, L. A. 1996. Producción de Hortalizas. Editorial Limusa. Grupo Noriega Editores. México, D.F. 298 p.
- Welbaum, G. E., Z. Shen, M. O. Oluoch and L. W. Jett. 1998. The evolution and effects of priming vegetable seed. Seed Technol. 20:209-235.
-

# Susceptibilidad y Mecanismos de Resistencia de *Tetranychus urticae* Koch en Rosal de Invernadero del Estado de México

Jerónimo Landeros-Flores, Carlos Ail-Catzim\*, Eugenio Guerrero-Rodríguez, Alberto Flores-Olivas, Ernesto Cerna-Chávez

Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. 25315. Saltillo, Coah., México. Tel y fax (844) 411-02-26. E-mail: car\_ail@hotmail.com (\*Autor responsable).

---

## Abstract

The control of *Tetranychus urticae* is mainly performed by means of acaricides, that is why this species has developed a resistance to the majority of the products that are used to combat it. This ability of *T. urticae* to develop resistance has caused problems in some plants under greenhouse, and field conditions. In this assay it is determined the susceptibility, and the mechanisms of resistance of a population of *T. urticae* collected in a rose bush, at a greenhouse. Five acaricides were used to evaluate the susceptibility of this population; Avermectin, Bifenthrin, Dicofol, Naled and Fenbutatin oxide. These acaricides were susceptible to Avermectin and resistant to the other acaricides. Biochemical tests were used to know the levels of enzymes  $\alpha$  and  $\beta$ -esterases, oxidases, glutathione S-transferase, acetylcholinesterase, insensitive acetylcholinesterase of the two populations of *T. urticae*; one of laboratory, and another one from a field in the State of Mexico. The levels of  $\alpha$  and  $\beta$ -esterases, and oxidases were higher in the field population, than in the laboratory one. These results suggest that  $\alpha$  and  $\beta$ -esterases, and oxidases, are involved in the resistance of the population of the State of Mexico, to the acaricides Bifenthrin, Dicofol, Naled and Fenbutatin oxide.

**Key words:** Twospotted spider mite, esterase, biochemical test, concentration, diagnostic

## Resumen

El control de *Tetranychus urticae* se hace principalmente con acaricidas, por lo que esta especie ha desarrollado resistencia a la mayoría de los productos que se utilizan para su combate. Esta habilidad de *T. urticae* a desarrollar resistencia ha causado problemas en especies de plantas en invernadero o en condiciones de campo. En este estudio se determinó la susceptibilidad y los mecanismos de resistencia de una población de *T. urticae*, colectada en rosales de invernadero. Se utilizaron cinco acaricidas; Avermectina, Bifentrina, Dicofol, Naled y óxido de Fenbutatin, para evaluar la susceptibilidad de esta población. Estos ácaros resultaron susceptibles a Avermectina y resistentes para los otros acaricidas. Se utilizaron pruebas bioquímicas para conocer los niveles de las enzimas  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas, oxidasas, glutatión S-transferasa, acetilcolinesterasa, acetilcolinesterasa insensible de las dos poblaciones de *T. urticae*; una de laboratorio y otra de campo del Estado de México. Se presentaron mayores niveles de  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas y oxidasas, en la población de campo, que en la población de laboratorio. Estos resultados sugieren que las  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas y oxidasas, están involucradas en la resistencia de la población del Estado de México, hacia los acaricidas Bifentrina, Dicofol, Naled y óxido de Fenbutatin.

**Palabras clave:** Acaro de dos manchas, esterasa, pruebas bioquímicas, concentración, diagnóstico.

---

## Introducción

La araña roja, *Tetranychus urticae* Koch es una plaga en muchas especies de plantas en el mundo, incluyendo varios cultivos agrícolas y ornamentales, se le ha reportado en 180 especies de plantas en invernadero o en condiciones de campo (Kim *et al.*, 2004). Esta especie causa marchitamiento y desecación del follaje y la muerte de las

plantas (Gould, 1987). Aunado a esto se tiene que estos ácaros son capaces de desarrollar resistencia a muchos acaricidas, la cual se puede expresar de uno a cuatro años e inducir un alto grado de resistencia cruzada (Saito *et al.*, 1983). El control de *T. urticae* que se realiza en el mundo, se hace principalmente con acaricidas, por lo que esta especie ha desarrollado resistencia a la mayoría de los

productos que se utilizan para su combate (Devine *et al.*, 2001). Esta habilidad de *T. urticae* a desarrollar resistencia, ha causado problemas en muchos países involucrados en la producción agrícola durante los últimos 40 años (Rizzieri *et al.*, 1988).

La resistencia fisiológica de acuerdo a Georghiou (1965) es la más importante en artrópodos, debido a la acción de mecanismos detoxificadores enzimáticos, que provocan una mayor degradación y excreción del insecticida o acaricida (Lagunes y Villanueva, 1994).

Yang *et al.* (2001) mencionan que la detoxificación de los xenobióticos en artrópodos son a causa de; esterasas, citocromo P 450 dependiente de las monooxigenasas y glutatión S-transferasas. La resistencia a organofosforados se asocia principalmente a niveles altos de esterasas (Hemingway y Karunaratne, 1998); Matsumura y Voss (1964) reportan que la resistencia de *T. urticae* a los organofosforados es debida a un incremento en la actividad de carboxiesterasas y fosfatasa. Por otro lado, Bisset *et al.* (1998) mencionan que las oxidasas intervienen en la detoxificación de los piretroides. Por su parte, Yu (1982) demostró que las glutatión S-transferasas intervienen en la detoxificación de compuestos organofosforados en *Spodoptera frugiperda* alimentado en diferentes hospederos. Por otro lado, Lagunes y Villanueva (1994) mencionan que las enzimas que degradan el DDT y sus derivados, son DDT-asa y las oxidasas. Voss y Matsumura (1964) reportan a la acetilcolinesterasa insensible como el principal mecanismo de resistencia de *T. urticae* a los organofosforados.

Dado al uso intensivo de acaricidas de diferentes grupos toxicológicos para el control de esta especie en cultivos de rosales de invernadero, es importante conocer la susceptibilidad y las causas de resistencia fisiológica de *T. urticae*, hacia los acaricidas y de acuerdo a esto establecer un programa de manejo efectivo para esta plaga. Debido a lo anterior, la presente investigación tuvo como objetivo determinar la susceptibilidad y los mecanismos de resistencia de una población de *T. urticae* procedente de invernadero de rosales del Estado de México.

## Materiales y Métodos

### Material biológico

Se emplearon dos líneas de *T. urticae*; una línea de referencia, mantenida bajo condiciones controladas, a una temperatura de  $25 \pm 2$  °C, humedad relativa de 60-70 % y luz constante, sobre plantas de *Phaseolus vulgaris* (L.), libre de presión de selección durante más de dos años (Línea de laboratorio). La otra línea fue colectada en invernaderos de producción de rosales variedad Royalty, en Villa Guerrero, México (línea de campo), con manejo a

base de rotación de acaricidas.

### Bioensayos

Se realizaron una serie de bioensayos para determinar las líneas de regresión concentración-mortalidad con la población de laboratorio. Los acaricidas empleados fueron formulaciones comerciales de Avermectina (Agrimec 1.8 % CE), Bifentrina (Capture 100 12.15 % CE), Dicofol (AK 20 18.5 % CE), Naled (Naled 60 % CE) y óxido de fenbutatin (Torque 500 44.64 % SC).

Se utilizó el método de bioensayo de película residual en caja petri (Dennehy *et al.*, 1987). Se prepararon seis concentraciones más el testigo para cada producto, se incluyeron tres repeticiones por cada concentración. Las diferentes concentraciones se realizaron utilizando como solvente etanol al 95 %, a excepción del óxido de Fenbutatin el cual se diluyó en agua. En el testigo se aplicó etanol o agua según el caso. Se depositó 1 mL de la solución del acaricida en cada caja petri, posteriormente se transfirieron 20 ácaros adultos hembra y fueron selladas con papel aluminio. Se cuantificó la mortalidad a las 24 h y se tomó como criterio de muerte, cuando los ácaros presentaran síntomas de ataxia, es decir no presentaron movilidad o manifestará un desplazamiento menor, al menos una vez el largo de su cuerpo, después de estimularlos con un pincel fino. La mortalidad fue corregida con la fórmula de Abbott (1925) y los resultados se analizaron por probit (Finney, 1971).

### Determinación de la susceptibilidad de la población de campo

Se empleó la técnica concentración-diagnóstico (McCutchen *et al.*, 1989), para esto de los datos obtenidos de la línea de laboratorio se obtuvo la  $CL_{90}$  de cada acaricida, la que se multiplicó por 2 ( $2 \times CL_{90}$ ), este valor se consideró como la concentración-diagnóstico que se utilizó para exponer a los ácaros de la colonia de campo, para ello se trataron 20 cajas petri con dicha concentración-diagnóstico de cada acaricida y se transfirieron 20 ácaros adultos hembra por caja. Para el testigo se emplearon tres cajas petri tratadas con etanol o agua según al caso. Para determinar la susceptibilidad de la población de campo a los acaricidas, se utilizó el criterio propuesto por Dennehy *et al.* (1987), el cual indica que si la población presenta una mortalidad menor al 80 % se considera resistente y si es superior a éste, se considera susceptible.

### Pruebas bioquímicas para estimar niveles de enzimas

Se emplearon seis pruebas bioquímicas para determinar los niveles de a-esterasas, b-esterasas, oxidasas, glutatión

S-transferasas, acetilcolinesterasas y acetilcolinesterasas insensibles, en las dos líneas de *T. urticae*. Todas las pruebas se corrieron por triplicado en placas de 96 pocillos y fueron leídas posteriormente mediante el lector de microplacas Stat fax-2100®.

#### Fuente de enzima

Previo a las pruebas bioquímicas, se homogenizó 0.1 mg de ácaros en 100 mL de buffer fosfatos de potasio ( $KPO_4$ ), a 0.05 M y pH 7.2, se diluyó a 1 mL agregando 900 L de dicho buffer (Brogdon, 1984). Se prepararon 90 muestras para cada línea de *T. urticae*, para realizar estas pruebas. La concentración de proteína de la muestra fue de 4.9 mg de proteína por 0.1 mg de ácaros, esta fue determinada por el método de Bradford (1976) modificado por Brogdon (1984).

#### Estimación de los niveles de esterasas

Para determinar los niveles de  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas se empleó el método de Brogdon-Dickinson (1983). Para ello se colocaron 100 mL de la muestra de ácaros a cada pocillo, enseguida se depositó 100 mL de una solución de 56 mg  $\alpha$  o  $\beta$  naftil acetato diluida en 20 mL de acetona y aforada a 100 mL con buffer  $KPO_4$ , la mezcla se dejó incubar a temperatura ambiente por 10 min y posteriormente se le adicionaron 100 mL de dianisidina, preparada a una concentración de 1mg mL<sup>-1</sup> de agua destilada, se mantuvo la mezcla por 2 min y se tomó la lectura de la placa, en un lector de ELISA usando un filtro de 545 nm. Se utilizaron las soluciones de  $\alpha$  o  $\beta$  naftil acetato tomando 50 mg de  $\alpha$  o  $\beta$  naftil acetato diluida en 10 mL de acetona más 90 mL de buffer  $KPO_4$ , la que posteriormente se diluyó a 1:35 como control positivo y como control negativo el buffer de  $KPO_4$ .

#### Estimación de los niveles de oxidasas

Para determinar los niveles de oxidasas se utilizó la metodología propuesta por Brogdon *et al.* (1997). Para esto se colocaron 100 mL del homogenato de ácaros a cada pocillo, posteriormente se depositaron 200 mL de una solución de 50 mg de 3, 3', 5, 5'-tetrametil-bencidina dihidroclorido, diluida con 25 mL de metanol y aforada con 75 mL de buffer acetato de sodio a 0.25 M, pH 5; enseguida se colocaron 25 mL de peróxido de hidrógeno al 3 %, se incubó la mezcla por 5 min a temperatura ambiente y se realizó la lectura de la placa en un lector de microplacas con un filtro de 630 nm. Se utilizó como control positivo una solución de citocromo C agregando 10 mg de citocromo C a 100 mL de buffer acetato de sodio 0.25 M, pH 5, la que enseguida se diluyó a 1:55 y como control negativo el buffer de  $KPO_4$ .

#### Estimación de los niveles de glutation S-transferasas

Para determinar los niveles de estas enzimas, se utilizó la metodología de Brogdon y Barber (1990). Para ello se colocaron 100 mL de la muestra de ácaros a cada placa, posteriormente se adicionó 100 mL de una solución de 61 mg de glutation reducido por 100 mL de buffer de  $KPO_4$ , inmediatamente después se colocó 100 mL de una solución de 20 mg de 1-cloro-2, 4' dinitrobenzeno diluida en 10 mL y aforada con 90 mL de buffer de  $KPO_4$ . Se tomó la lectura de la placa inmediatamente en un lector de microplacas con un filtro de 340 nm ( $T_0$ ), posteriormente se dejó incubar por 5 min y se tomó de nuevo la lectura de la placa con el mismo filtro ( $T_5$ ). La diferencia de lecturas entre el  $T_0$  y  $T_5$ , se empleó para el análisis de los resultados.

#### Estimación de los niveles de acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible

Para determinar los niveles de acetilcolinesterasa se utilizó el método de Brogdon (1988). Para esto se colocaron 100 mL de la muestra de ácaros a cada pocillo, enseguida se depositaron 100 mL de una solución de 75 mg de acetilcolina iodide por 100 mL de buffer de  $KPO_4$ , posteriormente se adicionaron 100 mL de una solución de 13 mg de 5, 5'-ditiobis-2-ácido nitrobenzoico por 100 mL de buffer de  $KPO_4$ . La lectura de la placa se realizó inmediatamente en un lector de microplacas con filtro de 405 nm ( $T_0$ ), se dejó incubar la mezcla por 10 min y se tomó de nuevo la lectura de la placa con el mismo filtro ( $T_{10}$ ), la diferencia entre las lecturas de  $T_0$  y  $T_{10}$  se empleó para el análisis de los resultados. Para determinar los niveles de acetilcolinesterasa insensible se empleó la misma metodología, a diferencia que en la solución de acetilcolina iodide, se agregaron 21 mg de Naled como inhibidor.

#### Umbral de tolerancia

Con los datos obtenidos en las pruebas bioquímicas se estableció un umbral de tolerancia para cada enzima, para ello se tomó el valor máximo de absorbancia obtenido en cada una de las pruebas enzimáticas de la línea de laboratorio, de tal forma que al momento de compararlas con los resultados de la línea de campo, los valores mayores a este umbral se tomaron como resistentes y los menores como susceptible.

#### Resultados y Discusión

##### Línea de laboratorio

En el Cuadro 1 se presentan los resultados obtenidos de la respuesta de la línea de laboratorio de *T. urticae* en relación a cinco acaricidas de diferente grupo toxicológico. Como se puede observar la  $CL_{50}$  fue de 1.89, 234.02,

**Cuadro 1.** Concentración letal, límites fiduciales y valor de la pendiente de acaricidas aplicados a la línea de laboratorio de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch.

Acaricida	N <sup>+</sup>	Pendiente ± SE	ppm					
			Límites			Límites		
			CL <sub>50</sub>	Inferior	Superior	CL <sub>90</sub>	Inferior	Superior
Avermectina	360	2.80 ± 0.47	1.89	1.64	2.13	5.42	4.76	6.39
Bifentrina	360	2.18 ± 0.47	234.02	207.14	272.97	905.24	658.59	1474.28
Dicofol	360	2.01 ± 0.38	385.30	338.25	436.66	1670.05	1325.99	2280.73
Naled	360	6.78 ± 0.99	57.04	54.81	59.39	88.12	82.28	96.27
Oxido de Fenbutatin	360	2.55 ± 0.59	207.87	188.57	228.84	660.85	524.55	947.06

<sup>+</sup>Número de individuos evaluados

385.30, 57.04 y 207.87, para Avermectina, Bifentrina, Dicofol, Naled y óxido de Fenbutatin respectivamente. La CL<sub>50</sub> obtenida para la Avermectina (1.89 ppm) en esta investigación fue diferente a la registrada por Lee *et al.* (2003) quienes reportan una CL<sub>50</sub> de 0.06 ppm para una línea susceptible; por otro lado este resultado es 2.74 veces inferior a la CL<sub>50</sub> reportada por Sato *et al.* (2004) con una CL<sub>50</sub> de 5.18 ppm de Avermectina. En lo referente a la Bifentrina el resultado obtenido (234.02 ppm) fue superior al comportamiento de una línea de laboratorio reportada por Bynum *et al.* (1990) con una CL<sub>50</sub> de 192 ppm, esta misma respuesta fue 5.99 veces superior a la obtenida por Yang *et al.* (2001) quienes mencionan una CL<sub>50</sub> de 39.1 ppm de Bifentrina, para una población de *T. urticae* libre de presión de selección por más de 20 meses. El resultado obtenido para el óxido de Fenbutatin (207.87 ppm) fue inferior al comportamiento de una línea reportada por Tian *et al.* (1992) con una CL<sub>50</sub> de 300 ppm. En relación al acaricida Dicofol la línea de laboratorio presentó una CL<sub>50</sub> de 385.30, la cual es 24.8 veces mayor a la registrada por Dennehy *et al.* (1983) quienes reportaron una CL<sub>50</sub> de 15.5 ppm. En relación a la CL<sub>50</sub> de 57.04 ppm obtenida para el Naled, fue 2.40 veces menor a la registrada por Sato *et al.* (2000) reportando una CL<sub>50</sub> de 137 ppm para su línea susceptible.

### Línea de campo

En el Cuadro 2 se presenta el porcentaje de mortalidad de *T. urticae* expuestas a la concentración diagnóstico resultante de los bioensayos con la línea de laboratorio, como se puede observar en los acaricidas que se evaluaron, se obtuvieron porcentajes de mortalidad de 82.4, 45.6, 40.3, 75.0 y 44.6 para los acaricidas Avermectina, Bifentrina, Dicofol, Naled y óxido de Fenbutatin respectivamente.

**Cuadro 2.** Respuesta de hembras adultas de *Tetranychus urticae* Koch a concentraciones diagnóstico procedentes de invernadero del Estado de México.

Acaricida	Concentración diagnóstico		
	(ppm)	N <sup>+</sup>	Mortalidad (%)
Avermectina	10.8	400	82.4
Bifentrina	1800.0	400	45.6
Dicofol	3340.0	400	40.3
Naled	176.0	400	75.0
Oxido de fenbutatin	1320.0	400	44.6

<sup>+</sup>Número de individuos evaluados

En relación a la Avermectina el resultado de mortalidad obtenido (82.4 %) con 10.4 ppm, difiere a lo obtenido por Grafton-Cardwell y Hoy (1983) quienes registraron un 95 % de mortalidad con una concentración de 4 ppm, después de 24 h de exposición. Por otro lado Landeros *et al.* (2002) reportan, 100 % de mortalidad de *T. urticae*, con una concentración de 10 ppm de Avermectina después de 72 h de exposición. En estudios realizados con el Dicofol Dennehy *et al.* (1983) realizaron comparaciones de mortalidad en varias poblaciones de *T. urticae*, utilizando 1000 ppm como concentración-diagnóstico, se obtuvieron porcentajes de mortalidad entre 2.5 y 68.6 %.

De acuerdo al criterio establecido por Dennehy *et al.* (1987), cualquier población es resistente si el resultado de mortalidad es menor a 80 %; como resultado de esta investigación podríamos indicar que la línea de campo utilizada en este estudio fue susceptible a Avermectina con un 82.4 % de mortalidad y resistente a los demás productos. En relación a la Avermectina el resultado

probablemente es debido a que, en los cultivos de rosal donde se colectó el material para los bioensayos, se realiza una rotación de acaricidas y los productores de estos cultivos indicaron que únicamente realizan dos aplicaciones de Avermectina por año, sobre este mismo acaricida Clark *et al.* (1994) no detectaron resistencia en poblaciones *T. urticae* colectados en California, Florida e Islas Canarias después de seis aplicaciones de Avermectina por año. Así mismo Hoy y Conley (1987) no encontraron diferencias en susceptibilidad en cinco poblaciones *T. urticae* después de 6-8 selecciones con abamectin en condiciones de laboratorio.

### Niveles enzimáticos

En el Cuadro 3 se presentan los valores máximos de absorbancia obtenidos para cada enzima en las dos líneas de *T. urticae* y el número de muestras que superaron el umbral de tolerancia. Como puede observarse para las acetilcolinesterasas, en 11 de 90 muestras registraron valores más altos en la línea de campo que en la de laboratorio, lo anterior indica que en términos de porcentaje, el 12.2 % de la población de campo en estudio presentó mayores niveles de esta enzima. En relación a las acetilcolinesterasas insensibles de la población de campo, 3 de 90 muestras resultaron con valores superiores al umbral de tolerancia lo que demuestran resistencia de 3.3 % por la presencia de estas enzimas. En cuanto a las  $\alpha$ -esterasas y  $\beta$ -esterasas, 13 y 27 de 90 muestras respectivamente, superaron el umbral de tolerancia lo que representa una resistencia de 14.4 y 30.0 % en la línea de campo por la presencia de estas enzimas. En lo referente a las oxidasas 25 de 90 muestras superaron al umbral de tolerancia, lo que equivale a 27.7 % de resistencia en la población de campo debido a estas enzimas. Respectivamente. Las enzimas glutatión S-transferasas

presentaron niveles inferiores a la línea de laboratorio, por tanto ninguna muestra superó el umbral de tolerancia.

El hecho de encontrar un factor de resistencia de 3.3 % en la población de campo (Figura 1) con la presencia de acetilcolinesterasas insensibles sugiere que este mecanismo de resistencia no influye o es de menor importancia en el nivel de resistencia que se obtuvo en esta población, sin embargo algunos autores como; Voss y Matsumura (1964) y Tsagkarakou *et al.* (2002) señalan que este mecanismo de resistencia en otras líneas fue importante.

Por lo anteriormente expuesto es probable que exista otro mecanismo de resistencia que pueda estar involucrado en la resistencia a Naled (25 %) que se obtuvo al exponer a los ácaros de campo con la concentración diagnóstica, al respecto Matsumura y Voss (1964); Herne y Brown (1969) reportan resistencia en *T. urticae* a organofosforados por incremento de la actividad de la carboxiesterasas, lo que concuerda con lo observado en esta investigación, ya que en la línea de campo se presentó un porcentaje de resistencia de 14.4 % y 30 % respectivamente por la presencia  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas (Figura 2), pudiera ser posible que con esto se explique el grado de resistencia al Naled. En lo que respecta a la Bifentrina los resultados obtenidos mostraron 45.6 % de mortalidad al aplicar la concentración diagnóstica (1800 ppm) y comparados con los resultados obtenidos sobre la presencia de  $\alpha$  y  $\beta$ -esterasas, nos indica una clara relación, ya que como se observa, la población de campo resultó resistente para estas enzimas (Figura 2); al respecto Yang *et al.* (2002) registraron que el principal mecanismo de resistencia a Bifentrina en *T. urticae* esta relacionada con una alta actividad de estererasas, los mismos autores Yang *et al.* (2001) reportan a las enzimas estererasas y en

**Cuadro 3.** Niveles promedio de los máximos de absorbancia para cada enzima de las dos poblaciones de *Tetranychus urticae* Koch.

Enzima	Absorbancia <sup>++</sup>		N <sup>+</sup>
	Línea de laboratorio	Línea de campo	
Acetilcolinesterasa	0.0677 <sup>&amp;</sup>	0.0950 <sup>&amp;</sup>	11
Acetilcolinesterasa insensible	0.0693 <sup>&amp;</sup>	0.0790	3
$\alpha$ -esterasa	0.6237 <sup>&amp;</sup>	0.6853	13
$\beta$ -esterasa	0.9533 <sup>&amp;</sup>	1.054	27
Glutatión S-transferasa	0.0667 <sup>&amp;</sup>	0.0665	0
Oxidasa	0.6527 <sup>&amp;</sup>	0.8403	25

<sup>+</sup>Número de muestras que superaron el umbral de tolerancia; <sup>&</sup>Umbral de tolerancia para cada enzima; <sup>++</sup>Promedio de tres repeticiones

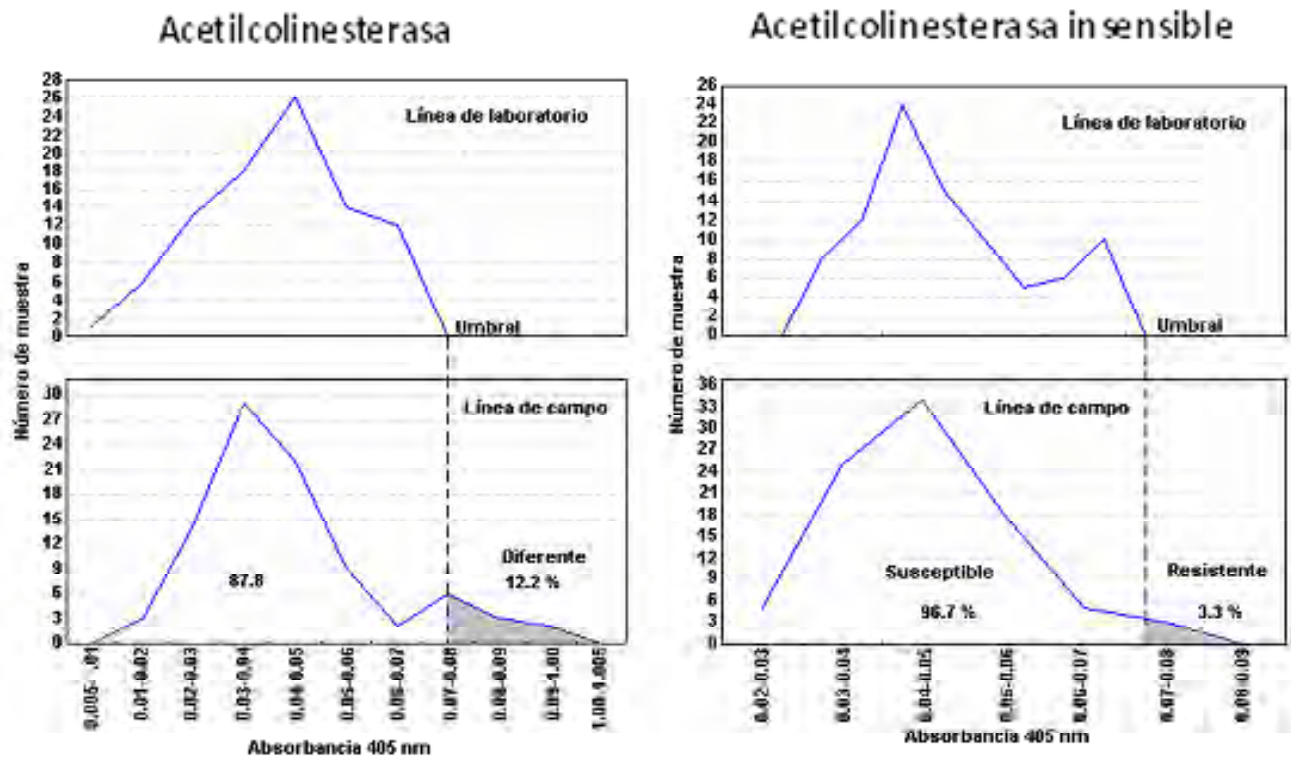


Figura 1. Distribución de frecuencia de los niveles de acetilcolinesterasa y acetilcolinesterasa insensible para dos líneas de *T. urticae* Koch y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.

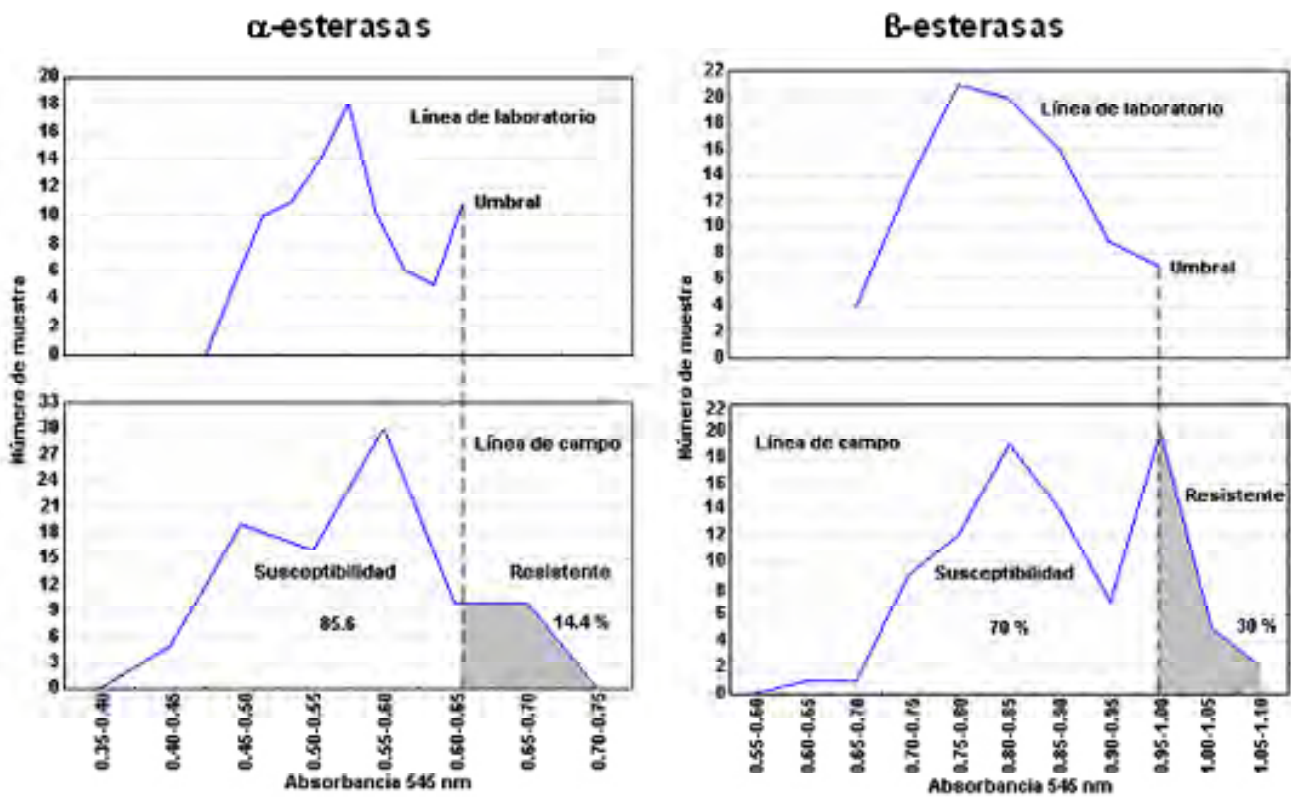
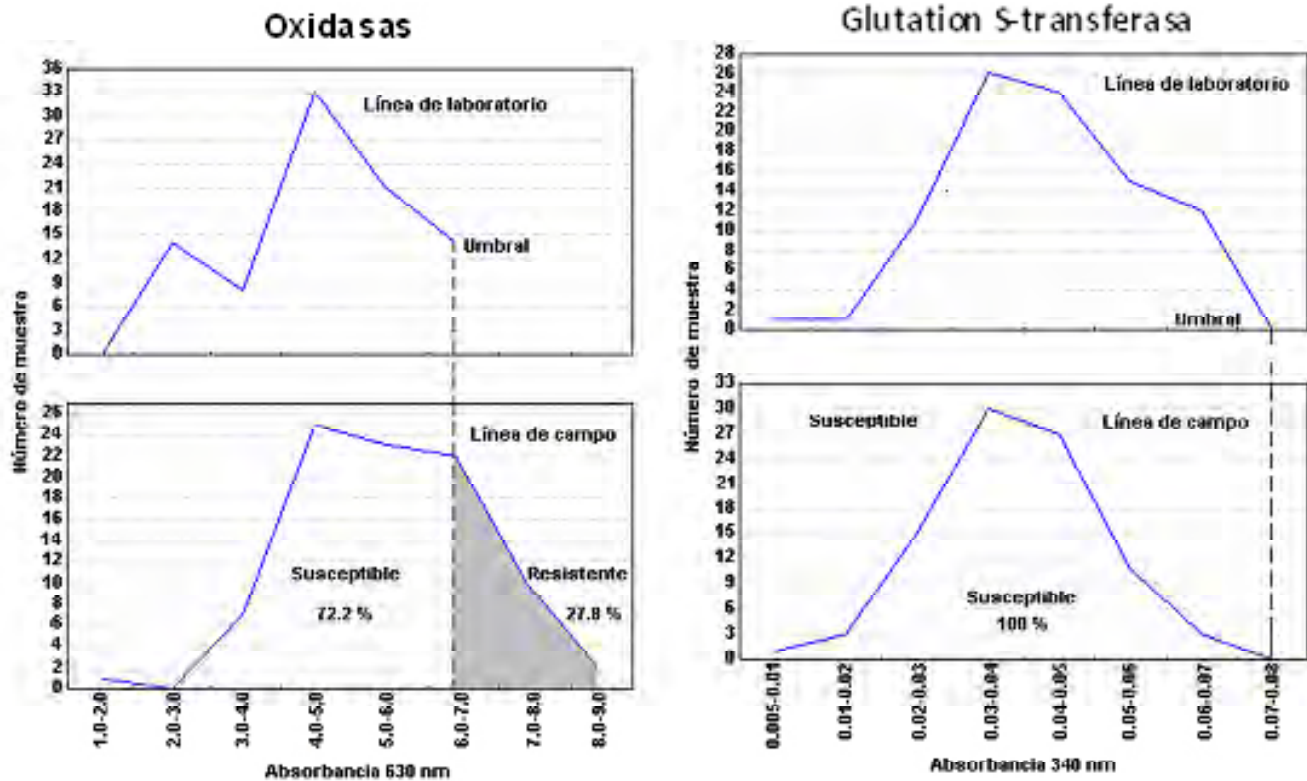


Figura 2. Distribución de frecuencia de los niveles de a-esterasa y b-esterasa para dos líneas de *Tetranychus urticae* Koch y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.



**Figura 3.** Distribución de frecuencia de los niveles de oxidasas y glutatión S-transferasas, para dos líneas de *Tetranychus urticae* y discriminación con el umbral de tolerancia para cada enzima en la población de campo.

menor grado a las glutatión S-transferasas como los principales causantes de la resistencia a Bifentrina y -cyhalotrina. Como ya se señaló en este estudio se observó que los niveles de glutatión S-transferasas fueron inferiores a los de la línea de laboratorio lo que permite deducir que no intervienen en la resistencia a Bifentrina, ya que la población de campo resultó susceptible para esta enzima (Figura 3). Por otro lado, Riley *et al.* (2000) reportan a las  $\alpha$ -esterasas como el principal mecanismo de resistencia a Bifentrina en mosca blanca, aunque también involucran al sistema oxidativo, que como se muestra en la misma figura, es un factor importante como causa de resistencia.

En lo que corresponde a glutatión S-transferasas diversos autores (Motoyama y Dauterman, 1980 y Clark y Shaman, 1984) reportan a estas enzimas como causa de resistencia a organoclorados, sin embargo en el presente estudio este sistema no resultó relevante (Figura 3), por otro lado Lagunes y Villanueva (1994) señalan que, las oxidasas son otro mecanismo de resistencia para el Dicofol (organoclorado), aunque el nivel de resistencia que se tuvo por las oxidasas en la línea de campo fue 27.8 % (Figura 3), esto no explica completamente el nivel de resistencia que se obtuvo para el Dicofol en los bioensayos al quedar vivos el 59.7 % expuestos a la concentración-diagnóstico, por lo mismo esto nos hace pensar que otro mecanismo está involucrado en la resistencia al Dicofol, al respecto

Narahashi (1983) menciona que la resistencia al DDT y sus análogos y para los piretroides es la insensibilidad en el sistema nervioso de los insectos, trabajando en los canales de sodio en la membrana del nervio.

La mortalidad obtenida en la población de campo de *T. urticae* expuesta a la concentración-diagnóstico del óxido de Fenbutatin, sólo concuerda con la presencia de oxidasas en la población de estudio. Por tanto, podemos relacionar la resistencia que se obtuvo para este producto en los bioensayos con la línea de campo, con el nivel de resistencia que presentó esta línea por las oxidasas, pero esto sólo explicaría el 27.8 %, del nivel de resistencia que presentaron estos ácaros al óxido de Fenbutatin (55.4 %). La diferencia entre los porcentajes de resistencia nos sugieren que posiblemente otro mecanismo de resistencia está involucrado. Al respecto Carbonaro *et al.* (1986) indican, que la insensibilidad en la ATPasa puede ser responsable en parte, de la resistencia al cyhexatin, un producto del mismo grupo que el óxido de Fenbutatin, lo que este mecanismo pudiera estar involucrado en la resistencia a este compuesto.

A las oxidasas también se le han involucrado en el mecanismo de resistencia de la Avermectina (Clark *et al.*, 1994), en esta investigación se indicó una relación con respecto al 17.6 % de individuos de la población en estudio que sobrevivieron a la exposición con la Avermectina, en

relación a esto (Argentine *et al.*, 1992) han reportado que líneas de insectos seleccionados con Avermectina no presentan niveles significativos de resistencia cruzada para otros insecticidas, lo que aparentemente concuerda con estos resultados.

### Literatura Citada

- Abbott, S. W. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18: 265-267.
- Argentine, J. A. and J. M. Clark. 1990. Selection for abamectin resistance in Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pestic. Sci.* 28: 17-24.
- Brogdon, W. G. 1984. Mosquito protein microassay-I, protein determinations from small portions of single-mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* 79: 457-459
- Brogdon, W. G. 1988. Microassay of acetylcholinesterase activity in small portions of single mosquito homogenates. *Comp. Biochem. Physiol.* 90: 145-150.
- Brogdon, W. G. and C. M. Dickinson. 1983. A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions. *Analyt. Biochem.* 131: 499-503.
- Brogdon, W. G. and Barber . 1990. Microplate assay of glutathione S-transferase activity for resistance detection in single-mosquito triturates. *Comp. Biochem. Physiol.* 96: 339-342.
- Brogdon, W. G., J. C. McAllister and J. Vulule. 1997. Hemeperoxidase activity measured in single mosquitoes identifies individuals expressing an elevated oxidase for insecticide resistance. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 13: 233-237.
- Bynum, E. D., Jr., T. L. Archer and F. W. Plapp Jr. 1990. Action of insecticides to spider mites (Acari: Tetranychidae) on corn in the Texas high plains: toxicity, resistance and synergistic combinations. *J. Econ. Entomol.* 90: 1125-1130.
- Carbonaro, M. A., D. E. Moreland, V. E. Edge, N. Motoyama, G. C. Rock and W. Dauterman. 1986. Studies on the mechanisms of cyhexatin resistance in the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 79: 576-579.
- Clark, A. G. and N. A. Shaman. 1984. Evidence that DDT-dehydrochlorinase from the house fly is a glutathione S-transferase. *Pestic. Biochem. Physiol.* 22: 249-261.
- Clark, J. M., J. G. Scott, F. Campos and J. R. Bloomquist. 1994. Resistance to avermectins: extent, mechanisms and management implications. *Ann. Rev. Entomol.* 40: 1-30.
- Dennehy, T. J., J. Granett and T. F. Leigh. 1983. Relevance of slide-dip and residual bioassay comparisons to detection of resistance in spider mites. *J. Econ. Entomol.* 76: 1225-1230.
- Dennehy, T. J., E. E. Grafton-Cardwell, J. Granett and K. Barbour. 1987. Practitioner assessable bioassay for detection of Dicofol resistance in spider mites (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 998-1103.
- Devine, G. J., M. Barber and I. Denholm. 2001. Incidence and inheritance of resistance to meti-acaricides in European strains of the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Acari: Tetranychidae). *Pest. Manag. Sci.* 57:443-448.
- Finney, D. J. 1971. Probit analysis. 3rd ed. Cambridge University Press, Cambridge
- Grafton-Cardwell, E. E. and M. A. Hoy. 1983. Comparative toxicity of Avermectina B<sub>1</sub> to the predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari: Phytoseiidae) and the spider mites *Tetranychus urticae* Koch and *Panonychus ulmi* (Koch) (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 76: 1216-1220.
- Georghiou, G. P. Genetics studies on insecticide resistance. *Adv. Pest Control Res.* 6:171.
- Gould, H. J. 1987. Protected crops. pp: 404-405. *In:* Burn A. J. Croaker and Jepson P. (eds.) *Integrated Pest Management.* Academic Press, New York, USA.
- Herne, D. H. C. And A. W. A. Brown. 1969. Inheritance and biochemistry of OP-resistance in a New York strain of the two-spotted spider mite. *J. Econ. Entomol.* 62: 205-209.
- Hoy, M. A. and J. Conley. 1987. Selection for abamectin resistance in *Tetranychus urticae* and *T. pacificus* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.* 80: 221-225.
- Kim, M., D. Shin and K. Cho. 2004. An assessment of the chronic toxicity of fenpyroximate and pyridaben to *Tetranychus urticae* using a demographic bioassay. *Appl. Entomol. Zool.* 39(3): 401-409.
- Lagunes-Tejada, A. y Villanueva-Jiménez J: A. 1994. Toxicología y manejo de insecticidas. Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, Montecillo Estado de México, México. 264 p.
- Landeros, J., N. Mora, M. Badii, P. A. Cerda and A. E. Flores. 2002. Effect of sublethal concentrations of Avermectina on population parameters of *Tetranychus urticae* on strawberry. *Southwest. Entomol.* 27: 283-289.
- Lee, Y. S., M. H. Song, K. S. Ahn, K. Y. Lee, J. W. Kim and G. H. Kim. 2003. Monitoring of acaricide resistance in two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose greenhouses in Korea. *J. Asia-Pacific Entomol.* 6(1): 91-96.

- Matsumura, F. and G. Voss. 1964. Mechanism of malathion and parathion resistance in the twospotted spider mite, *Tetranychus urticae*. J. Econ. Entomol. 57:911-917.
- McCutchen, B. F., F. W. Plapp, S. J. Nemic and C. Campanhola. 1989. Developmente of diagnostic monitoring techniques for larval pyrethroid resistance in *Heliothis* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton. J. Econ. Entomol. 82: 1502-1507.
- Motoyama, N., and W.C. Dauterman. 1980. Glutathione S-transferase: their role in the metabolism of organophosphorous insecticides. Rev. Biochem. Toxicol. 2: 49-69.
- Narahashi, T. 1983. Resistance to insecticides due to reduced sensitivity of the nervous system. pp: 333-351. In: Pest Resistance to Pesticides. G. Georghiou and T. Saito (eds.). Plenum press New York and London.
- Riley, D. G., W. J. Tan, and D. Wolfenbarger. 2000. Activities of enzymes associated with inheritance of bifenthrin resistance in the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. Southwest. Entomol. 25: 201-211.
- Rizzieri, D. A., T. J. Dennehy and T. J. Glover. 1988. Genetic analysis of Dicofol resistance in two populations of two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) from New York apple orchards. J. Econ. Entomol. 81: 1271-1276.
- Saito, T., K. Tabata and S. Kohno. 1983. Mechanisms of acaricide resistance with emphasis on Dicofol . pp: 429-444. In: Pest Resistance to Pesticides. G. Georghiou and T. Saito (eds.). Plenum press New York and London.
- Sato, M. E, C. M. Passerotti, A. P. Takematsu, M. F. Souza Filho, M. R. de Potenza y A. P. Sivieri. 2000. Resistance to acaricides in *Tetranychus urticae* (Koch) from peach (*Prunus persica* (L) Bastsch) orchards in Paranapanema and Jundiá counties state of Sao Paulo. Arquivos do Instituto Biológico. 67(1): 117-123.
- Sato, M. E., T. Miyata, M. Da Silva, A. Raga and M. F. De Souza Filho. 2004. Selections for fenpyroximate resistance and susceptibility, and inheritance, cross-resistance and stability of fenpyroximate resistance in *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Appl. Entomol. Zool. 39(2): 293-302.
- Tian, T.; E.E. Grafton-Cardwell,.; J. Granett,. 1992. Resistance of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) to cyhexatin and Fenbutatin-oxide in California pears. J. Econ. Entomol.85: 2088-2095
- Tsagkarakou, A., N. Pasteur, A. Cuany, C. Chevillon and M. Navajas. 2001. Mechanisms of resistance to organophosphates in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) from Greece. Insect biochem. Molec. Biol. 32:417-424.
- Voss, G. and F. Matsumura. 1964. Resistance to organophosphorus compounds in the two spotted spider mite: two different mechanisms of resistance. Nature. 202: 319-320.
- Yang, X., D. C. Margolies, K. Y. Zhu and L. L. Buschman. 2001. Host plant-induced changes in detoxification enzymes and susceptibility to pesticides in the twospotted spider mites (Acari: Tetranychidae). J. Econ. Entomol. 94: 381-387.
- Yang, X., L. L. Buschman, K. Y. Zhu and D. C. Margolies. 2002. Susceptibility and detoxifying enzyme activity in two spider mite species (Acari: Tetranychidae) after selection with three insecticides. J. Econ. Entomol. 95 (2): 399-406.
- Yu, S. J. 1982. Host plant induction of glutathione S-transferase in the fall armyworm. Pestic. Biochem Physiol. 18: 101-106.
-

# Epidemiología del Cornezuelo del Sorgo (*Claviceps africana*, Frederickson, Mantle & de Millano) en dos localidades de México

Julián Vicente Koh Pat<sup>1</sup>, Abiel Sánchez Arizpe<sup>1</sup>, Alberto Flores Olivas<sup>1</sup>, María Elizabeth Galindo Cepeda<sup>1</sup>, Guillermo Ledesma Ibarra<sup>1</sup>, Emilio Padrón-Corral<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. 25315. Saltillo, Coah., México. E-mail: jkohpat@hotmail.com (\*Autor responsable). <sup>2</sup>Centro de Investigación en Matemáticas Aplicadas, Universidad Autónoma de Coahuila. 25080. Unidad Camporredondo, Edificio S, Saltillo, Coah., México.

## Abstract

One of the main plant health problems present in the culture of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench), namely in the production of seed, is caused by the ergot fungus, a world-wide disease. The objectives of this research were: a) to determine the incidence and severity of ergot in commercial varieties of sorghum in two localities of Michoacán and Guanajuato states in Mexico, b) to identify the grass associated to *S. sorghi* and other species of *Claviceps* in both localities, and c) to identify the fungi that colonized species of *Claviceps*. The work was carried out in August 2004 in parcels of sorghum in Tepuza and in Numarán, Mich. and in Trojes de Paul in Pénjamo, Gto. Mexico. The incidence and severity of *C. Africana* was determined for the varieties evaluated in Michoacán, and went from 0 to 29.6% and the severity from 0 to 83%; in Guanajuato there was no incidence in the evaluated varieties. Four species of *Claviceps*, associated to grass, were found in six hosts. The grasses susceptible to *C. Africana* were *Sorghum halepense* (L) Pers., and possibly *Setaria adatherans*. The following species of *Claviceps*, associated to other grasses, were also found: *C. cynodontis* in *Cynodon dactylon*, *C. paspali* in *Paspalum* sp. and *C. fusiformis* in *Pennisetum ciliare*. In addition, *Cerebella andropogonis* Cesati was found as a hyperparasite of the *Claviceps* species present in *Sorghum bicolor*, *Cynodon dactylon* and *Paspalum* sp.

Key words: *Sorghum bicolor* (L) Moench, *Cerebella andropogonis* Cesati, host rank, *Claviceps* species.

## Resumen

Uno de los principales problemas fitopatológicos que se presentan en el cultivo del sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), y particularmente en la producción de semilla, es el causado por el hongo llamado ergot o cornezuelo, una enfermedad de distribución mundial. Los objetivos de esta investigación fueron: a) determinar la incidencia y severidad del cornezuelo del sorgo en variedades comerciales de sorgo en dos localidades de Michoacán y Guanajuato, México, b) identificar los pastos asociados a *S. sorghi* y otras especies de *Claviceps* en las dos localidades y c) determinar los hongos que colonizaron especies de *Claviceps*. El trabajo se realizó en agosto de 2004 en parcelas de sorgo en Tepuza en Numarán, Mich. y en Trojes de Paúl en Pénjamo, Gto. en México. Se determinó la incidencia y severidad de *C. africana*. La incidencia de *C. africana* en las variedades evaluadas en Michoacán fue de 0 a 29.6 % y la severidad de 0-83 %; en Guanajuato no hubo incidencia en las variedades evaluadas. Se encontraron cuatro especies de *Claviceps* asociadas a pastos en seis hospederos. Los pastos susceptibles a *C. africana* fueron *Sorghum halepense* (L) Pers., y posiblemente *Setaria adatherans*. También se encontraron las siguientes especies de *Claviceps* asociadas a otros pastos: *C. cynodontis* en *Cynodon dactylon*, *C. paspali* en *Paspalum* sp. y *C. fusiformis* en *Pennisetum ciliare*. Además, se encontró a *Cerebella andropogonis* Cesati como hiperparasito de las especies de *Claviceps* presentes en *Sorghum bicolor*, *Cynodon dactylon* y *Paspalum* sp.

**Palabras clave:** *Sorghum bicolor* (L) Moench, *Cerebella andropogonis* Cesti, rango de hospederos, especies de *Claviceps*.

## Introducción

El sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench) ocupa el quinto lugar entre los cereales cultivados en el mundo, cerca de 45 millones de hectáreas se cultivan con este grano (Bandyopadhyay *et al.*, 1998). Se considera que las plagas y enfermedades reducen entre el 10 y 15 % de la producción de sorgo en México (Narro *et al.*, 1992).

Uno de los problemas fitopatológicos que se presentan en el cultivo, y en particular en la producción de semilla, es el hongo llamado cornezuelo o ergot, una enfermedad de distribución mundial (Aguirre *et al.*, 1997).

El cornezuelo del sorgo puede ser causado por tres especies del hongo *Claviceps* spp.; *C. africana* Frederickson, Mantle y de Millano; *C. sorghi*, Kulkarni Seshadri y Hedge; y *C. sorghicola* Tsukiboshi, Shimanuki y Uematsu (Bandyopadhyay, 1997). El cornezuelo se presenta durante la floración y ataca únicamente a ovarios no fertilizados. La infección puede ocurrir en algunas o en todas las florecillas (Frederickson y Mantle, 1988). Los factores ambientales que favorecen la rápida reproducción del hongo son: humedad relativa mayor a 90 % y días lluviosos y nublados durante el periodo de antesis (Bandyopadhyay *et al.*, 1996).

Esta enfermedad fue reportada por primera vez en 1917 en India y en 1924 en Kenia. Hasta 1994 su presencia estuvo restringida para Asia y África. En la India se reportaron pérdidas del 10-80 % en la producción de semilla híbrida. En América apareció en 1995 en Brasil, diseminándose en una semana en una superficie de 800 000 km<sup>2</sup>; en 1996 se presentó en Argentina, Bolivia, Colombia, Paraguay, Honduras, República Dominicana, Puerto Rico y Australia (Bandyopadhyay *et al.*, 1996). En febrero de 1997, se presentó en México, en la localidad de San Fernando, Tamaulipas y en la región de la Huasteca de San Luis Potosí y Veracruz (Acosta, 1997). En el área del Bajío Guanajuato, Querétaro, Michoacán, y Jalisco se presentó en siembras comerciales durante los meses de agosto y septiembre de 1997. En México se reportaron en 1997, incidencias superiores al 80 % con severidades de 40 % (Torres y Montes, 1999). Se ha observado que la incidencia y severidad de *C. africana* en el sorgo se distribuye de una manera uniforme dentro de una misma parcela, y que sólo se incrementa en orillas donde hay menor disponibilidad de polen debido a la dirección del viento (Soltero-Díaz y Williams Alanís, 2003).

Se han publicado reportes de hospederos alternos (Chinandurai y Govindaswamy, 1971; Bandyopadhyay *et al.*, 1998; Alderman *et al.*, 2004). Se ha encontrado, por ejemplo, que *C. africana* aislada de *Panicum maximum* Jacq., (Forsk) Stapaf., *Sorghum drummondii* Millsp. y Chase, *S. alnum* L. y *Sorghum halepense* L. Pers., puede

infectar al sorgo (Frederickson and Mantle, 1996). Al realizar inoculaciones cruzadas en Morelia, México, se identificaron las especies: *Cenchrus echinatus*, *Panicum maximum* y *Sorghum halepense* como hospederas alternantes para *C. africana*; pero solo *S. halepense* presentó características para actuar como fuente de inóculo primario. (Montes-Belmont *et al.*, 2003).

En Tamaulipas se encontró que *S. halepense* y *Dicanthium aristatum* (Poir) estuvieron infectadas con *C. africana* (San Martín *et al.*, 1997). Posteriormente en el año 2000 el gobierno de México expidió la Norma Oficial Mexicana NOM-078-FITO-2000 de regulación fitosanitaria para prevenir y evitar la diseminación del cornezuelo del sorgo (SAGAR, 2000).

Considerando estos antecedentes los objetivos de esta investigación fueron: a) determinar la incidencia y severidad del cornezuelo del sorgo en variedades comerciales de sorgo, b) identificar los pastos asociados a *S. sorghi* y otras especies de *Claviceps* en algunos estados de México y c) determinar los hongos que colonicen especies de *Claviceps*.

## Materiales y Métodos

El trabajo se realizó en agosto de 2004 en parcelas de sorgo ya establecidas en los ejidos de La Tepuza, en Numarán, Mich. y en Trojes de Paúl, en Pénjamo, Gto. en México. Se determinó la incidencia y severidad de *C. africana* en las principales variedades comerciales para ambas localidades. Las parcelas se sembraron en el ciclo PV-2004 a partir de la última semana del mes de abril con prácticas de manejo convencional para la región. El tamaño de las parcelas fue variable para cada región, la cual estuvo en función de la disponibilidad del terreno. Se realizaron muestreos en orillas y centro.

## Incidencia y severidad

La incidencia se registró durante la etapa de desarrollo masoso duro del grano, sólo para panojas principales, y se determinó mediante la suma de plantas infectadas por 100, sobre el total de plantas observadas. La severidad se estimó visualmente, utilizando la escala de 0 a 4, donde 0 es planta sana y 4 planta con 100 % de granos dañados. Se consideró como área dañada a la superficie cubierta por la mielecilla exudada por los granos infectados. También se colectó la información climatológica disponible en las estaciones más cercanas a las parcelas. Para la evaluación de la incidencia se utilizó un diseño experimental de bloques al azar y la prueba de Tukey al 0.05 de probabilidad para la comparación de medias; para la severidad se utilizó la prueba no paramétrica de Friedman. Se utilizó el paquete estadístico de la UANL para el análisis de los datos.

### Pastos asociados

Para determinar los pastos asociados a otras especies de *Claviceps* presentes en algunos pastos, se realizó un muestreo al azar dentro y fuera del cultivo, se tomaron muestras de pasto, principalmente en las orillas de los canales de riego, donde se observó mayor presencia de pastos con producción de mielecilla, síntoma característico del cornezuelo. Para Trojes de Paúl en Pénjamo, Gto. se colectaron los siguiente pastos: *Paspalum sp*, *Cynodon dactylon* y *Sorghum halepense*; para la Tepuza en Numarán, Mich.: *Paspalum spp*, *Cynodon dactylon* y *Sorghum halepense* y en Buenavista, Saltillo, Coah.: *Pennisetum ciliare* y *Setaria adatherans*.

Los pastos fueron identificados en el laboratorio de botánica de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el Dr. Jesús Valdez Reyna.

Se colectaron pastos con síntomas de cornezuelo en inflorescencias y posteriormente se realizó la medición de conidias en laboratorio. Se midió el tamaño (longitud y ancho) y morfología predominante en 100 macroconidios de cada muestra de pasto y se identificaron las especies con la ayuda de claves para identificación de *Claviceps* de Loveless (1964).

### Hongos parásitos

Para la identificación de hongos parásitos asociados a *Claviceps sp.* se realizó un muestreo al azar, fuera y dentro del cultivo. Los hongos se identificaron en el laboratorio con la ayuda de un microscopio compuesto, para determinar el tamaño (longitud y ancho), número de células por espora y morfología predominante en 100 esporas de cada muestra de acuerdo con Pazoutova y Kolínska (1999).

### Resultados y Discusión

La incidencia en Michoacán varió de 0 a 29.6 % con

una severidad de 0-4 (0-83 %) en las 8 variedades comerciales. Dekalb D67 y Mercurio no presentaron incidencia, contrario a Brandon que presentó un 29 % de incidencia y una severidad 4 en la escala de daño (83 %) como se muestra en el Cuadro 1. Estos resultados coinciden con lo citado por Mukuru (1997) quien encontró diferencias significativas en el grado de incidencia y severidad entre los diferentes materiales comerciales.

En Guanajuato no se encontró diferencia significativa entre variedades, sólo Marfil presentó un 3% de incidencia y 1% de severidad mientras que Pionner 8133, Kilate, Dekalb D67, Mercurio, Dekalb D75, Pionner 85 G47, Acero y Rebel no presentaron incidencia.

Es posible que las diferencias de incidencia y severidad para ambas regiones se deban a que las parcelas ubicadas en Michoacán tienen canales de riego anchos y permanecen con agua durante el ciclo de cultivo, creando microclimas entre parcelas, con las condiciones propicias para el hongo.

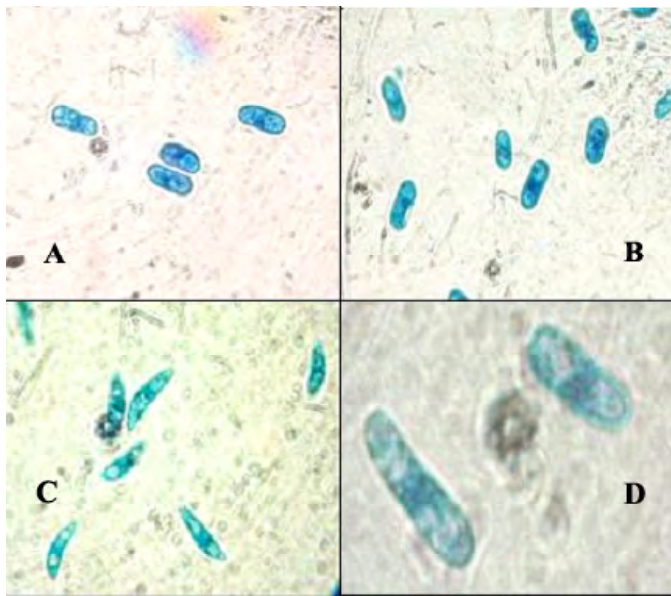
La época de antesis para ambas regiones se presentó en julio y agosto. En Michoacán la temperatura media durante los meses de julio a agosto fue de 19.17 °C con una H.R. de 83.80 % y una precipitación de 4.46 mm. En Guanajuato durante el mismo periodo, se registró una temperatura de 21.38 °C con una H.R. de 84.80 % y una precipitación de 4.65 m; esto es cerca del rango de 20-25 °C y H.R. 90%, óptimo para el desarrollo del hongo (Bandyopadhyay *et al.*, 1996).

### Pastos asociados a *S. sorghi* y otras especies de *Claviceps*

Se encontraron cuatro especies de *Claviceps* en seis hospederos. Los pastos susceptibles a *C. africana* fueron *Sorghum halepense* y *Setaria adatherans* (Figura 1 A y B) ya que presentaron macroconidios hialinos, con extremos redondeados de una forma oblonga

**Cuadro 1.** Incidencia y severidad del cornezuelo del sorgo en las principales variedades comerciales de sorgo en el ejido de la Tepuza, Numaran, Mich., México en el ciclo PV-2004.

Variedad Comercial	Incidencia (%)	Severidad Escala 0-4 (%)
Dekalb D670	0	0
Mercurio	0	0
Dekalb D73	0.33	1 (06.00)
Pionner 8133	0.44	1 (05.33)
Acero	3.71	2 (32.33)
Pionner 85G47	8.90	1 (10.33)
Dekalb D65	12.80	2 (33.00)
Brandon	29.66	4 (83.00)



**Figura 1.** Conidios de diferentes especies de *Claviceps* asociadas a pastos en algunas zonas de México: *C. africana* en *Setaria adaherans* (A); *C. africana* en *Sorghum halepense* (B); *C. fusiformis* en *Pennisetum ciliare* (C); *C. paspali* en *Paspalum* sp. (D).

elíptica, mostrando dos vacuolas y ligeramente constreñidas en el centro las medidas se muestran en el Cuadro 2. Este podría ser el primer reporte de *S.*

*adaherans* como hospedero de *C. africana* sin embargo para lograr una identificación completa se requiere de una inoculación cruzada, que no se pudo realizar en este trabajo debido al poco inóculo obtenido, pero de acuerdo a las medidas que se obtuvieron, concuerdan con lo citado por Frederickson *et al.* (1991).

En los pastos *Cynodon dactylon*, *Pennisetum ciliare*, *Paspalum* spp. se encontró otra especie de *Claviceps* asociado: *Claviceps cynodontis* en *Cynodon dactyl.* La información que se muestra en el Cuadro 2, indica que tiene forma triangular y que fue el mismo hongo en Guanajuato y Michoacán lo cual concuerda con lo reportado por Loveless (1964) y Velásquez (1998).

Loveless (1967) clasificó a *Pennisetum ciliare* dentro del grupo 7 lo cual coincide con lo reportado por Velásquez-Valle (1998) como *C. fusiformis* (Figura 1C). En *Paspalum* spp se encontró a *C. paspali* (Figura 1D), fue el mismo hongo para Guanajuato y Michoacán, lo que concuerda con Loveless (1964). La información para estos hongos se muestra en el Cuadro 2.

En el caso de los hongos que parasitaron a *Claviceps* spp. se encontró presencia de *Cerebella* sp en pastos (Cuadro 3).

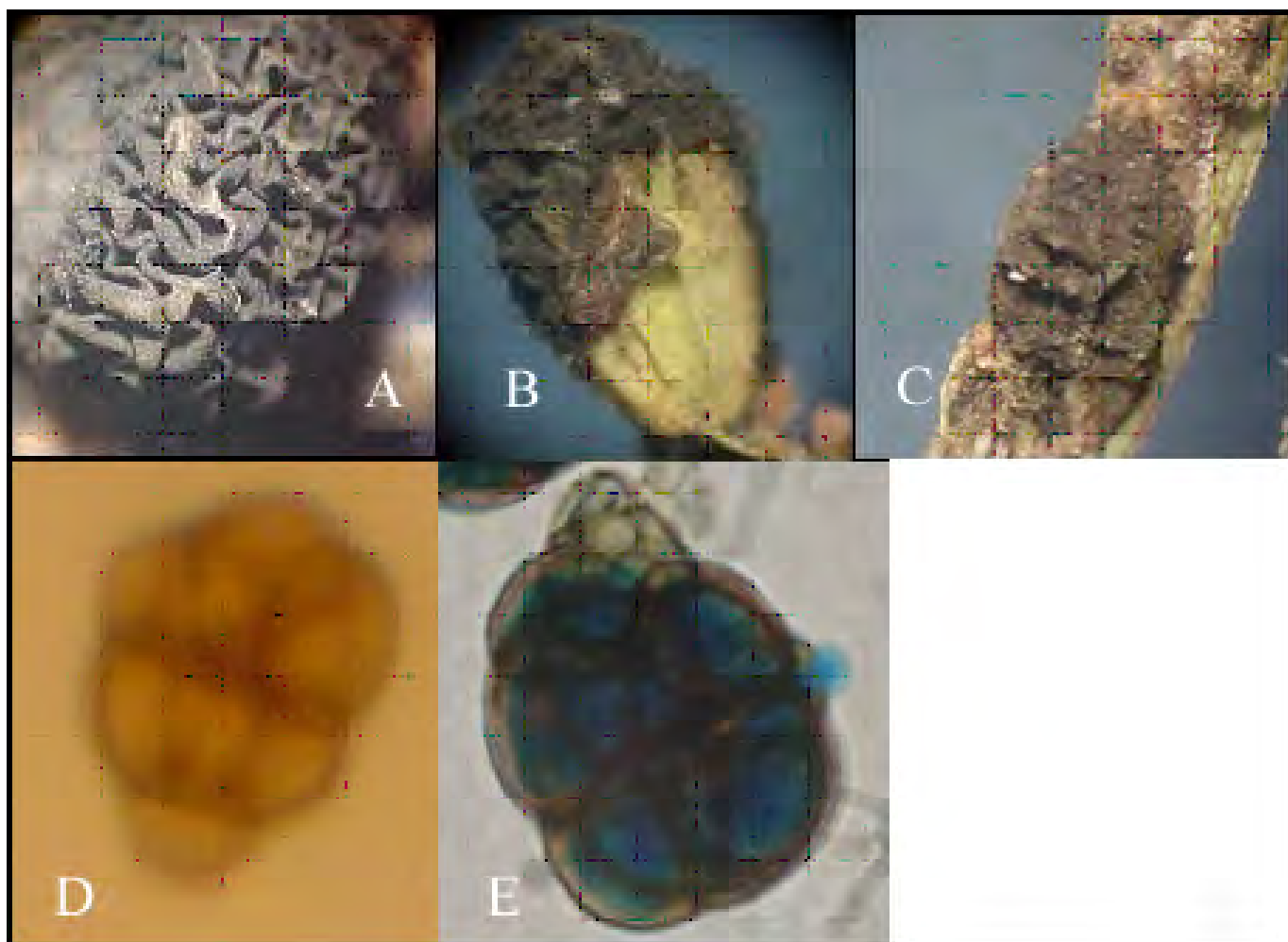
El hiperparásito de *C. africana* se encontró en el cultivo de sorgo (Figura 2A), así como en los pastos: *Paspalum* sp. (Figura 2B) y *C. dactylon* (Figura 2C),

**Cuadro 2.** Dimensiones morfológicas de conidios de diferentes especies de *Claviceps* asociadas a pastos en algunas zonas de México

Hospedante	Forma Predominante	Medidas (mm)	Especies de <i>Claviceps</i>	Origen
<i>Paspalum</i> spp.	Oblonga	12.5-17.0 x 4.7-5.0	<i>C. paspali</i>	Mich.
<i>Pennisetum ciliare</i>	Falcado	13.2-14.2 x 3.7-4.2	<i>C. fusiformis</i>	Coah.
<i>Cynodon dactylon</i>	Triangular	12.0-14.7 x 5.0-6.0	<i>C. cynodontis</i>	Gto., Mich.
<i>Setaria adaherans</i>	Oblonga-elíptica	14.5-15.0 x 5.7-7.5	<i>C. africana</i>	Coah.
<i>Sorghum halepense</i>	Oblonga-elíptica	14.7-15.7 x 6.0-6.75	<i>C. africana</i>	Mich., Gto.
<i>Sorghum bicolor</i>	Oblonga-elíptica	14.0-14.9 x 4.9 -7.6	<i>C. africana</i>	Mich., Gto

**Cuadro 3.** Dimensiones morfológicas de esporas de diferentes especies de hongos que colonizan a *Claviceps* spp. en pastos en algunas zonas de México.

Hospedante	Esporas Células	Medidas (mm)	Especie	Origen
<i>Cynodon dactylon</i>	Café 4 a 5	17.1-18.7 x 14.4-16.2	<i>Cerebella andropogonis</i>	Gto., Mich.
<i>Paspalum</i> sp.	Café 4 a 5	19.1 x 16.24	<i>Cerebella andropogonis</i>	Gto.
<i>Sorghum bicolor</i>	Café de 5 a 7	21.4 x 18.32	<i>Cerebella andropogonis</i>	Gto., Mich.



**Figura 2.** Hiperparásito de *C. africana* en sorgo y asociado a pastos: *Cerebella andropogonis* en sorgo (A, B y C); en *Paspalum* sp y en *Cynodon dactylon* (D); esporas de *C. andropogonis* en sorgo y en *Paspalum* sp. (E).

provenientes de Gto. y Mich. Su estructura de esporodio que asemeja a un cerebro se muestra en la Figura 2A, se pudo observar a simple vista como colonizó a *Claviceps* spp. en campo. Las características de las esporas (Cuadro 3) permitieron identificar al hongo como *Cerebella andropogonis* Cesti, lo que coincide con lo reportado por Pazoutova y Kolínska (1999).

### Conclusiones

La incidencia de *C. africana* en las variedades comerciales evaluados en Michoacán fue de 0 a 29.6 % y la severidad de 0-83 %. En Guanajuato no se presentó el cornezuelo en las variedades evaluadas. Se encontraron cuatro especies de *Claviceps* asociadas a pastos en seis hospederos. Los pastos susceptibles a *C. africana* fueron *Sorghum halepense* (L.) Pers., y posiblemente *Setaria adaherans*; se encontró *C. cynodontis* en *Cynodon dactylon*, *C. paspali* en *Paspalum* sp. y *C. fusiformis* en *Pennisetum ciliare*. Además, se encontró a *Cerebella andropogonis* Cesati como hiperparásito de las especies

de *Claviceps* presentes en *Sorghum bicolor*, *Cynodon dactylon* y *Paspalum* sp.

### Literatura Citada

- Aguirre, R.J., Williams, A.H., Montes, G.N., and Cortinas, H.M. 1997. First report of ergot caused by *Sphacelia sorghi* in Mexico. *Plant Disease* 81(7): 831.
- Acosta, S. 1997. Sorghum ergot in México. pp: 7-8. *In*: U. S. Conference on Sorghum Ergot. Amarillo, Texas. USA.
- Alderman, S.C., Halse, R.R., and White, J.F. 2004. A re-valuation of the host range and geographical distribution of *Claviceps* species in the United States. *Plant Disease* 83: 63-78.
- Bandyopadhyay, R., D. E. Frederickson, N. W. McLaren, and G. Odvody. 1996. Ergot: a global disease threat to sorghum. *International Sorghum and Millet Newsletter*. Vol. 37. 32 p.
- Bandyopadhyay, R. 1997 Geographic distribution and

- spread of sorghum ergot: Causes and implications. pp 35-43. *In: U.S. Conference on Sorghum Ergot*. Amarillo, Texas, USA.
- Bandyopadhyay R, Frederickson DE, McLaren N, Odvody GN, Ryley MJ, 1998. Ergot: a new disease threat to sorghum in the Americas and Australia. *Plant Disease* 82:356-367.
- Chinnadurai, G., and Govindaswamy, C.V. 1997. Host range of sorghum sugary disease pathogen. *Madras Agric. J.* 58:600-6003.
- Frederickson, D. E., Mantle, P. G., and de Milliano, W. A. J. 1991. *Claviceps africana* sp. Nov., the distinctive ergot pathogen of sorghum in Africa. *Mycol. Res.* 95:1101-1107.
- Frederickson, D.E., and Mantle, P.G. 1996. Pearl millet as an alternate host of the sorghum ergot pathogen, *Claviceps africana*. *Int. Sorghum and Millets Newsletter* 37:83-85.
- Frederickson, D. E., and P. G. Mantle. 1988. The path of infection of sorghum by *Claviceps sorghi*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 33: 221-234.
- SAGAR. 2000. Norma oficial Mexicana NOM-078-FITO-2000. Regulación fitosanitaria para prevenir y evitar la diseminación del ergot del sorgo. Dirección General de Sanidad Vegetal. México, D.F.
- Loveless, A.R 1964. Use of Honeydew state in the identification of ergot species. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 47:205-213
- Montes-Belmont, R., Flores-Moctezuma, H.E., and Nava-Juarez, R.A. 2003. Alternate Host of *Claviceps africana* Frederickson, Mantle and De Millano, Causal agent of sorghum "Ergot in the state of Morelos, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:63-66
- Mukuru, S.Z. 1997. The ergot disease of sorghum in Africa. pp. 55-67. *In: Proceeding Global Conference on Ergot of Sorghum*. 1-8 de junio. Sete Lagoas, Brasil.
- Narro,S.J., Betancourt, V.A., and Aguirre,R.J.I. 1992. Sorghum diseases in Mexico. pp.75-84. *In: Sorghum and Millets Diseases. A second world review*. Patancheru, India. ICRISAT.
- Pažoutová, S. and Kolínska R. 1999: Record of *Cerebella* sp. In Czech Republic and of *Cerebella andropogonis* in Brazil. *Czech Mycol.* 52:81-88.
- San-Martin, F., Lavín, P., Garcia, A. y Garcia, G. 1997. Estados anamorficos de *Claviceps africana* y *Claviceps fusiformis* asociados a diferentes pastos en Tamaulipas, México. *Rev. Mex. Micol.* 13:52-57.
- Soltero-Diaz, L., y Williams-Alanis, H. 2003. Incidencia y severidad del cornezuelo (*Claviceps africana* Frederickson, Mantle and De Millano) en híbridos comerciales de sorgo [*sorghum bicolor* (L) Moench.] en la Ciénega de Chapala Jalisco, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 21:26-32.
- Torres, M. J. H., and G. N. Montes. 1999. Sorghum ergot in México. pp: 101-108. *In: Global Conference on Ergot of Sorghum*. Sete Lagoas, Brazil.
- Velásquez-Valle. R., San Martín. F., Odvody, G.N., Narro-Sánchez, Mora-Nolasco, R. 1998. Reporte preliminar sobre especies del genero *Claviceps* asociadas con pastos en algunos estados de México y Texas, EUA. *Rev. Mex. Fitopatol.* 16:42-45.

# Fluctuación Poblacional de Cicadélidos positivos a Fitoplasma Asociado a Punta Morada en Maleza Aledaña a Cultivo de Papa, en Arteaga, Coah., México

Iván Isaias Vargas-Caamal<sup>1\*</sup>, Oswaldo García-Martínez<sup>1</sup>, Alberto Flores-Olivas<sup>1</sup>, Patricia Herrera-Pérez<sup>1</sup>, José Ángel Villarreal-Quintanilla<sup>2</sup>, Emilio Padrón-Corral<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología Agrícola, <sup>2</sup>Departamento de Botánica, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. 25315. Saltillo, Coah., México. Fax: (844) 4 11 02 28. E-mail: ivanisaiasv@yahoo.com.mx (\*Autor responsable). <sup>3</sup>Centro de Investigación en Matemáticas Aplicadas, Universidad Autónoma de Coahuila. Unidad Campo Redondo. 25280. Saltillo, Coah., México.

## Abstract

Leafhoppers (Cicadellidae) are vector insects that may transmit up to 40 different viruses belonging to the Rhabdoviridae and Reoviridae families. The main vector of the potato purple top is the leafhopper *Macrosteles fascifrons* (Hemiptera: Cicadellidae) along with other leafhoppers. In the important potato region of Coahuila-Nuevo Leon, producers don't even know that Cicadellidae species are present, and also ignore some facts about this presence like population fluctuation, and in what weed species can they be found. Taking all this into account the objectives of this assay were expressed as: a) to detect species of Cicadellidae positive to phytoplasmas associated to the potato purple top, in weeds bordering the commercial potato fields, b) to determine the population fluctuation of Cicadellidae positive to phytoplasmas associated to the potato purple top and c) to determine what weed species bordering the potato fields are positive to phytoplasmas. Samplings of leafhoppers and weeds were performed every week from January to December 2004 in Huachichil, Arteaga, Coah., Mexico. In order to detect phytoplasma, extractions of DNA of each one of the collected Cicadellidae species and weeds were made and PCR tests were realized. Fifty three different Cicadellidae species were collected, and phytoplasma was detected in *Macrosteles fascifrons*, *Empoasca fabae*, *Oncometopia nigricans* and one non identified species. The highest populations of adults of Cicadellidae altogether, were observed from November to February. Solely species of weeds: *Flourensia cernua* (Asteraceae), *Parthenium incanum* (Asteraceae), *Prunus cercocarpifolia* (Rosaceae) and *Reseda luteola* (Resedaceae), from the total of the 22 where Cicadellidae adults were found, were positive to phytoplasma.

**Key words:** Arvenses, *Empoasca fabae*, *Macrosteles* spp., *Oncometopia nigricans*.

## Resumen

Las chicharritas (Cicadellidae) son insectos vectores que pueden transmitir hasta 40 virus distintos de las familias Rhabdoviridae y Reoviridae. El principal vector de la punta morada de la papa es la chicharrita *Macrosteles fascifrons* (Hemiptera: Cicadellidae) y otras chicharritas pequeñas. En la importante región papera de Coahuila-Nuevo León se desconoce que especies de cicadélidos están presentes, cuál es su fluctuación poblacional y en qué especies de maleza puedan encontrarse; por lo que los objetivos de este estudio fueron: a) Detectar especies de cicadélidos positivos a fitoplasma asociado a la punta morada, en maleza aledaña a cultivo comercial de papa, b) Determinar la fluctuación poblacional de cicadélidos positivos a fitoplasma asociados a la punta morada de papa y c) Determinar que especies de maleza aledaña al cultivo de papa son positivas a fitoplasma. Se realizaron muestreos de chicharritas y maleza cada ocho días de enero a diciembre de 2004 en Huachichil, Arteaga, Coah., México. Para detectar fitoplasmas, se hicieron extracciones de ADN de cada una de las especies de cicadélidos y maleza colectadas y se realizaron pruebas de PCR. Se capturaron 53 especies diferentes de cicadélidos, detectándose fitoplasma en *Macrosteles fascifrons*, *Empoasca fabae*, *Oncometopia nigricans* y una especie no identificada. Las poblaciones más altas de los adultos de cicadellidae en conjunto, se observaron de noviembre a febrero. Únicamente especies de maleza: *Flourensia cernua* (Asteraceae), *Parthenium incanum* (Asteraceae), *Prunus cercocarpifolia* (Rosaceae) y *Reseda luteola* (Resedaceae), del total de las 22 en donde se capturaron adultos de cicadélidos resultaron positivas a fitoplasma.

**Palabras clave:** Arvenses, *Empoasca fabae*, *Macrosteles* spp., *Oncometopia nigricans*.

## Introducción

El cultivo de papa es uno de los más importantes de la República Mexicana y en los últimos años, se ha visto muy afectado por las enfermedades conocidas como punta morada y bola de hilo, las cuales son ocasionadas por fitoplasmas (Martínez, 1999), parecidos a los clasificados como 16SrI y 16SrII (Lee *et al.*, 1998; Leyva y Martínez, 2001). La punta morada se ha constituido en el factor limitante más importante, tanto para la producción de papa, como de semilla (Cadena, 1987). Durante 2003 y 2004, esta enfermedad afectó al 100 % de las plantas cultivadas, en algunas áreas productoras de papa, como ocurrió en la región Sur de Coahuila y Nuevo León, donde causó pérdidas millonarias, ya que redujo el rendimiento hasta en 90 % en algunos lotes, y cuando se logró obtener cosechas razonables, la calidad de los tubérculos fue afectada por un manchado interno, ocasionando que las pérdidas fueran del 100 %. (Flores *et al.*, 2004).

El cultivo de papa es susceptible a más de 300 plagas y enfermedades; estas últimas se pueden propagar por semilla, suelo, implementos de labranza, insectos y otros medios (Horton, 1992). Los insectos conocidos como chicharritas (Cicadellidae) son vectores importantes ya que pueden transmitir hasta 40 virus distintos de las familias Rhabdoviridae y Reoviridae, además de un grupo de geminivirus (Triplehorn y Jonson, 2005). Los cicadélidos son el segundo grupo de insectos vectores de virus fitopatógenos, después de Aleyrodidae (moscas blancas) (Metcalf y Flint, 1984). Los géneros más importantes son *Empoasca*, *Dalbulus* y *Dicrella*.

El principal vector de la punta morada es la chicharrita *Macrostelus fascifrons* (Hemiptera: Cicadellidae) (Triplehorn y Jonson, 2005) y otras chicharritas pequeñas. Son insectos saltadores muy comunes, que constituyen un grupo muy grande de cerca de 2,500 especies norteamericanas (Lorus y Margery, 1980; Arce, 1996). El catálogo cicadoidea de Metcalf enlista 4,378 especies ubicadas en 591 géneros y 54 subgéneros (DeLong, 1971).

Desde el punto de vista económico, a una planta que es inapropiada se le considera maleza; ya sea porque son tóxicas a los animales, desplazan a plantas más útiles, o por que son huéspedes alternos de patógenos de plantas o de insectos vectores de enfermedades (Huffaker, 1987).

En la región productora de papa de Coahuila-Nuevo León, una de las más importantes en México, se desconoce que especies de cicadélidos están presentes, y por lo tanto no se tiene información acerca de su densidad y movimiento poblacional, como tampoco de las especies de maleza frecuentadas por estos organismos, y especies de maleza positivas a fitoplasma. Existe información de especies de cicadélidos que han resultado positivas a

fitoplasmas asociados a la punta morada, que es prudente confirmar y además determinar si otras especies son positivas a fitoplasma, por lo que los objetivos de este estudio fueron: a) Detectar especies de cicadélidos positivos a fitoplasma asociado a la punta morada, en maleza aledaña a cultivo comercial de papa, b) Determinar la fluctuación poblacional de cicadélidos positivos a fitoplasma asociados a la punta morada de papa y c) Determinar que especies de maleza aledaña al cultivo de papa son positivas a fitoplasma.

## Materiales y Métodos

Se realizaron muestreos semanales durante los meses de enero a diciembre de 2004 en maleza aledaña a un cultivo comercial de papa, en el rancho el Poleo, localizado en Huachichil, Arteaga, Coah., México. La identificación de los insectos se realizó en el Insectario del Departamento de Parasitología Agrícola (DPA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

### Muestreo de Cicadélidos

Para muestrear en maleza se utilizó una red entomológica de golpeo de 30 cm de diámetro; en cada muestreo se consideraron cinco puntos al azar, en un área de aproximadamente 2 ha, adjunta a un terreno programado para sembrar papa, dando 20 golpes en cada punto, para tener así un total de 100 golpes cada ocho días.

Los insectos colectados, se guardaron en frascos de plástico de 50 ml, con alcohol etílico al 70 % para su preservación; los frascos se etiquetaron y se trasladaron el mismo día al insectario del DPA de la UAAAN, para su posterior identificación y para realizar las pruebas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) correspondientes.

Los insectos colectados en maleza aledaña, primero fueron separados del total de insectos capturados en cada muestreo, posteriormente se identificaron a nivel de especie, utilizando las claves de Lehr (1988) y Dietrich (1999).

### Muestreo en Maleza

Se colectaron durante todo el año de muestreo diferentes especies de maleza aledaña al lote de papa, cada ocho días se tomaron cinco especies de maleza diferentes en cinco puntos al azar (donde se muestreó para capturar adultos de cicadélidos), teniendo como criterio obtener la mayor diversidad posible de maleza. Los especímenes de maleza colectados, se colocaron en prensas de madera, para su traslado y secado al Departamento de Botánica (DB) de la UAAAN. Los

especímenes de maleza colectados fueron identificados a nivel de especie, por el Dr. José Ángel Villarreal Quintanilla, especialista en taxonomía vegetal y florística, de la UAAAN en Saltillo, Coah., México.

### Muestreo para Detección de Fitoplasma

Para la detección de fitoplasma en maleza, se tomaron muestras de raíz, tallo, hojas y flores de las cinco malezas muestreadas cada ocho días. Las muestras se guardaron en bolsas de plástico transparente de 1 kg de capacidad, debidamente etiquetadas; posteriormente se colocaron en una hielera, para su traslado el mismo día de muestreo, al laboratorio de Parasitología Molecular del DPA de la UAAAN, donde se mantuvieron a -70 °C.

### Detección de Fitoplasma

Se realizaron pruebas con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para determinar la presencia de fitoplasma en adultos de cicadélidos y en especies de maleza aleña al cultivo de papa, respectivamente, para lo cual, primero se llevaron a cabo extracciones de ADN de todas las muestras obtenidas en campo. Posteriormente se efectuó la primera PCR utilizando las secuencias (5´-3´) de los oligonucleótidos: P1 TCAGGCGTGTGCTCTAACCAGC; TINT AAGAGTTTGSTCCTGGCTCAGGATT. Después se hizo la segunda reacción en cadena de la polimerasa, utilizando las secuencias (5´-3´) de los oligonucleótidos: R16mR2 TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG; R16mF2 ACGACTGCTGCTAAGACTGG. Para la amplificación se utilizó el siguiente programa en el termociclador: 94 °C durante 2 min, 94 °C y 55 °C por 45 s (35 ciclos), 72 °C por 2 min y 72 °C durante 5 min.

Todos los pasos previamente descritos se realizaron utilizando el protocolo establecido para la detección de fitoplasmas de Martínez (2000).

### Análisis Estadístico

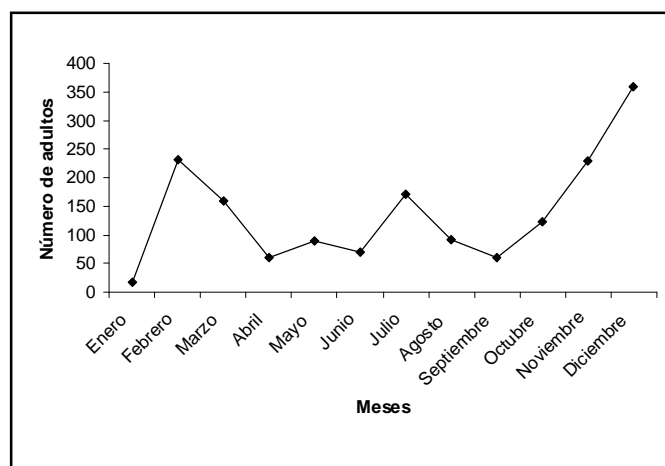
**Cuadro 1.** Superfamilias, géneros, especies y número de adultos de cicadélidos colectados en maleza aleña a cultivo de papa de enero a diciembre de 2004 en Huachichil, Arteaga, Coahuila.

Situación	Subfamilia	Géneros	Especies	Número de adultos capturados	
Maleza	Typhlocybae	<i>Empoasca</i>	<i>fabae</i>	66	
	Deltocephalinae	<i>Macrosteles</i>	<i>fascifrons</i>	73	
			<i>oncometopia</i>	<i>nigricans</i>	54
			Sp. 48	13	
			49 especies	1452	
			Total:	1658	

Con el fin de determinar si los factores ambientales, temperatura máxima, temperatura mínima, temperatura ambiente y precipitación pluvial, tuvieron algún efecto sobre las poblaciones de cicadélidos, se realizaron análisis de regresiones y correlaciones múltiples. Por tal efecto, el promedio de adultos capturados cada ocho días se consideró como la variable dependiente y los cuatro factores abióticos mencionados como variables independientes. Se utilizó el paquete estadístico Statistica de StatSoft para Windows.

### Resultados y Discusión Cicadélidos en Maleza

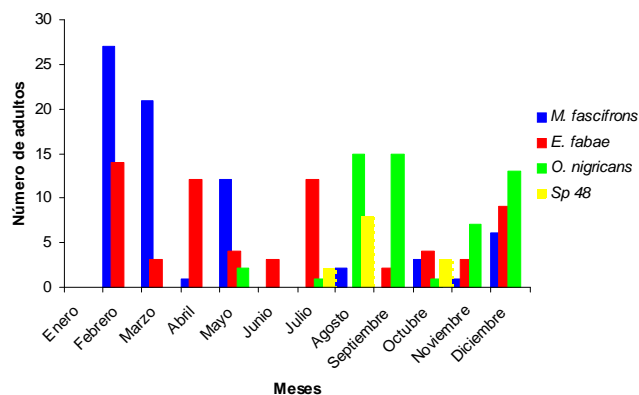
Se colectaron un total de 1,658 adultos de chicharritas en maleza aleña al cultivo de papa, de este material biológico, por comparaciones morfológicas se separaron 53 especies, de las cuales algunas se identificaron con las claves taxonómicas ya referidas. El Cuadro 1 resume el



**Figura 1.** Fluctuación poblacional mensual de adultos de cicadélidos en maleza aleña al cultivo de papa en Huachichil, Arteaga, Coah., México durante 2004.

número de adultos colectados en maleza aledaña al cultivo de papa, por géneros y especies.

Las especies positivas a fitoplasma en conjunto representaron el 12.4 % del total de adultos capturados. La Figura 1 muestra la fluctuación poblacional que se refleja al considerar el número total de capturas de adultos



**Figura 2.** Fluctuación poblacional de adultos de cicadélidos positivos a fitoplasma colectados en maleza aledaña a papa comercial de enero a diciembre de 2004 en Huachichil, Coah., México.

de las 53 especies atrapadas; se puede apreciar que estos insectos estuvieron presentes durante todo el año, presentándose picos altos de captura en los meses de febrero y julio, así mismo, a partir de octubre hubo también un crecimiento paulatino, que culminó con el máximo crecimiento poblacional del año en el mes de diciembre.

La Figura 2 muestra la fluctuación poblacional de las especies de cicadélidos que resultaron positivas a fitoplasma. *M. fascifrons* se detectó en ocho meses (de febrero a mayo, en agosto y de octubre a diciembre), aunque en bajos números, siendo en febrero cuando se capturó el mayor número de adultos (27). *E. fabae* se registró en la mayoría de los meses (de febrero a julio y de septiembre a diciembre) en muy bajas densidades, en febrero se colectó el máximo de adultos (14), además se capturaron 12 adultos en los meses de abril y julio. Polgar *et al.* (2002), reportan en Hungría la presencia de adultos de varias especies de *Empoasca* sobre papa, a partir de mayo, alcanzando el máximo poblacional en julio y agosto. Emmen *et al.* (2004), comentan que en Pennsylvania (USA) el comportamiento de *E. fabae* es similar en alfalfa, donde las más altas poblaciones se presentan en julio, seguidas de pequeñas explosiones poblacionales durante agosto.

**Cuadro 2.** Especies de maleza en las que se capturaron adultos de cicadélidos positivos a fitoplasma y número de individuos en Huachichil, Arteaga, Coah., México.

Familia	Maleza	<i>M. fascifrons</i>	<i>E. fabae</i>	<i>O. Nigricans</i>	Especie 48
Resedaceae	<i>Reseda luteola</i>	6	12	7	0
Poaceae	<i>Aristida curvifolia</i>	8	1	0	1
Brassicaceae	<i>Brassica kaber</i>	1	2	0	0
Poaceae	<i>Stipa eminens</i>	16	0	0	0
Poaceae	<i>Triticum eastivum</i>	28	12	0	0
Asteraceae	<i>Brickellia veronicaefolia</i>	1	2	0	0
Brassicaceae	<i>Eruca sativa</i>	5	3	5	0
Liliaceae	<i>Asphodelus fistulosus</i>	1	1	2	1
Poaceae	<i>Avena sativa</i>	1	2	0	0
Asteraceae	<i>Flourenzia cernua</i>	0	6	0	0
Asteraceae	<i>Gymnosperma glutinosum</i>	0	9	1	0
Asteraceae	<i>Hymenoxys odorata</i>	0	5	0	0
Asteraceae	<i>Helianthus laciniatus</i>	1	3	2	2
	<i>Mentzelia multiflora</i>	0	3	0	0
Rosaceae	<i>Pronus cercocorpitelia</i>	0	4	3	0
Asteraceae	<i>Viguiera dentata</i>	1	3	22	8
Asteraceae	<i>Conyza bonoriensis</i>	0	0	1	0
Lamiaceae	<i>Marrubium vulgare</i>	1	0	1	0
Lamiaceae	<i>Salvia tiliaefora</i>	0	1	1	0
Lamiaceae	<i>Salvia lanceolata</i>	2	0	2	0
Asteraceae	<i>Parthenium incanum</i>	0	0	1	0
Asteraceae	<i>Verbena ciliata</i>	0	0	1	0

Se capturaron muy pocos adultos de *Oncometopia nigricans*, siendo los meses de agosto y septiembre cuando se obtuvo el máximo número de adultos capturados (15) y la especie 48 fue en la que el menor número de adultos fueron capturados, con tan solo 8 adultos en el mes de agosto, y muy pocas capturas en el resto de los meses.



**Figura 3.** Especies de cicadélidos positivos a fitoplasma colectados en maleza aledaña a cultivo comercial de papa en Huachichil, Arteaga, Coah. México: *M. fascifrons* (A); *E. fabae* (B) *O. nigricans*, (C); Especie 48 (D).

Las regresiones y correlaciones múltiples realizadas, indican que para *M. fascifrons* no hubo significación para los factores abióticos considerados, y correlaciones negativas muy bajas entre dichos factores. Para *E. fabae*, se obtuvo una regresión altamente significativa, de 0.005020 con la variable de temperatura ambiente y de 0.007453, con la variable temperatura mínima, sin embargo presentaron correlaciones negativas muy bajas, debido a que se presentaron temperaturas muy bajas (abajo de cero), en el área de trabajo de noviembre hasta abril. Para *O. nigricans* no hubo significación para los factores considerados, ya que se obtuvieron correlaciones muy bajas. La especie 48, no identificada hasta el momento, presentó regresiones no significativas, así como correlaciones muy bajas entre dichos factores.

### Maleza

Se colectaron 22 especies de maleza en donde se capturaron adultos de cicadélidos, que resultaron positivos a fitoplasma, siendo *Triticum eastivum* (Poaceae), donde se capturó el mayor número de adultos con un total de 40, de los cuales 28 fueron *M. fascifrons*. En *Viguiera dentata* (Asteraceae) se capturaron 34 adultos, de los cuales 22 pertenecen a *O. nigricans*.

Hutchison (2002), menciona que en Minnesota (USA) anualmente se presentan poblaciones de *M quadrilineatus* [= *Macrosteles fascifrons* (Stal)] que hibernan como huevecillos en diversas especies de pastos y trigo, lo cual concuerda con lo obtenido al respecto en este trabajo.

Los adultos de cicadellidae restantes se capturaron en las 20 malezas, que se mencionan en el Cuadro 2.

González (1995) menciona que los principales insectos vectores de enfermedades que atacan al cultivo de papa en Coahuila y Nuevo León, son las chicharritas y reporta como hospederas principales a la gobernadora (*Larrea tridentata*), el alfilerillo (*Erodium cicutarium*), el falso diente de León (*Sonchus oleraceus*) y el polocotillo (*Helianthus laciniatus*); este último se encuentra en el área de estudio.

Arispe (1995) describe para el Cañón de Emiliano Zapata, Coah., México, 16 especies de maleza asociados al cultivo de papa, de las cuales tres están presentes en Huachichil, siendo las más abundantes, el polocotillo (*Helianthus laciniatus*), la alfombrilla (*Verbena ciliata*) y la hierba amargosa (*Parthenium hysterophorus*).

### Detección de Fitoplasmas

Con la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se detectó la presencia de fitoplasmas en adultos de *M. fascifrons*, *E. fabae*, *O. nigricans* y la especie 48

(Figura 3), utilizando los iniciadores P1/Tint en el primer ciclo de amplificación y los iniciadores R16mR2/R16mF2 durante la segunda reacción (Figura 4). Lee *et al.* (2003), identificaron a insectos vectores de fitoplasma en zanahoria, siendo *M. fascifrons* uno de los más importantes vectores en Texas (USA).

Beanland *et al.* (1999) reportaron a *M. fascifrons* como vector de fitoplasmas en lechuga, siendo las hembras más eficientes en la transmisión que los machos.

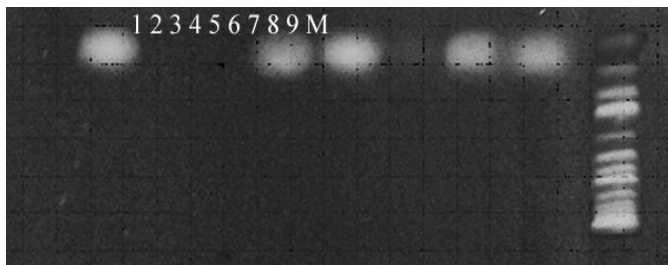
Se han mencionado algunas especies del género *Macrosteles* como vectoras de fitoplasmas como es el caso de *M. quadripunctulatus* que ocasiona el amarillamiento en el crisantemo (Marzachi y Bosco, 2005), que también es reportada como vectora de fitoplasmas en localidades viñeras de Italia (Mazzoni *et al.*, 2001).

Almeyda *et al.* (2004), reportaron al género *Empoasca*, asociado a la punta morada de la papa en los estados de Coahuila, Guanajuato, Edo. de México, Nuevo León. y Tlaxcala.

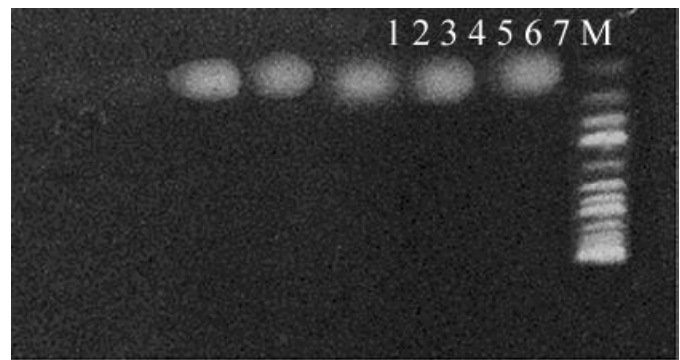
Este trabajo reporta por primera vez a *O. nigricans* como vector de fitoplasma asociado a la punta morada; el género *Oncometopia* sólo se había reportado como vector de la bacteria causal de la clorosis colorida en cítricos, enfermedad reportada en Brasil (Milanez *et al.*, 2003).

Se determinó la presencia de fitoplasmas en cuatro especies de maleza donde se capturaron adultos de cicadélidos, siendo estas *Flourensia cernua*, *Parthenium incanum*, *Prunus cercocarpifolia* y *Reseda luteola* (Figura 5). Aunque se capturaron muy pocos adultos de chicharritas en estas especies de maleza, éstas tienen el potencial para transmitir la enfermedad a muchas plantas de papa.

Lee *et al.* (2001) mencionan que la maleza *Brassica oleraceae* resultó positiva al fitoplasma del amarillamiento



**Figura 4.** Amplificación de secuencias de ADN específicas a fitoplasma de punta morada de la papa. Carriles: 1 Testigo negativo (Agua desionizada estéril); 2 Especie de cicadélido No. 48 (Positivo); 3-4 cicadélidos negativos; 5 *Oncometopia nigricans* (Positivo); 6 *Empoasca fabae* (Positivo); 7 cicadélido negativo; 8 *Macrosteles fascifrons* (Positivo); 9 Testigo positivo (*B. cockerelli*) y M marcador de peso molecular 1kb.



**Figura 5.** Amplificación de secuencias de ADN específicas a fitoplasma de punta morada de la papa. Carriles: 1 Testigo negativo (Agua desionizada estéril); 2 *Viguiera dentata* (Negativa); 3 *Prunus cercocarpifolia* (Positiva); 4 *Flourensia cernua* (Positiva); 5 *Parthenium incanum* (Positiva); 6 *Reseda luteola* (Positiva); 7 Testigo positivo (*B. cockerelli*) y M marcador de peso molecular 1kb.

del aster en el sureste de Texas, y Almeyda *et al.* (2004), reportan a *Helianthus annuum*, como posible hospedero alternante del agente causal de la punta morada de la papa.

### Conclusiones

Se detectaron cuatro especies de cicadélidos positivos a fitoplasma asociado a la punta morada de la papa: *M. fascifrons*, *E. fabae*, *O. nigricans* y la especie 48. *E. fabae* y *M. fascifrons* se encontraron en la mayoría de los meses, presentándose en febrero el máximo número de adultos para estas dos especies. *O. nigricans* se encontró en siete meses, de los cuales agosto y septiembre fueron los meses de máximas capturas y la especie 48 fue capturada en bajos números, siendo el mes de septiembre, cuando se presentó la población más alta. De las 22 especies de maleza donde se colectaron adultos de cicadélidos positivos, *Flourensia cernua*, *Parthenium incanum*, *Prunus cercocarpifolia* y *Reseda luteola* resultaron positivas a fitoplasma.

### Literatura Citada

- Almeyda, I. L., J. S. Sánchez y J. T. Garzón. 2004. Detección molecular de fitoplasmas en papa. pp. 4-11. In: Memorias simposio punta morada de la papa. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. México.
- Arce, F. A. 1996. El cultivo de la patata. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. España. pp. 171-172.
- Arispe, A. J. 1995. Malezas asociadas al cultivo de la papa *Solanum tuberosum* L. hospederas de insectos transmisores de enfermedades en Coahuila y Nuevo León. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma

- Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah. México. pp. 34-59.
- Beanland, L., C. W. Hoy., S. A. Miller and L. R. Nault. 1999. Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae) transmission of aster yellows phytoplasma: Does gender matter? *Environ. Entomol.* 28(6): 1101-1106.
- Cadena, M. A. 1987. Efecto de genotipos de plantas, aplicaciones de antibióticos e insecticidas en el control de la punta morada de la papa. *Agric. Téc. Méx.* 13:3-13.
- DeLong, D. M. 1971. The bionomics of leafhoppers. *Annu. Rev. Entomol.* 16: 179-183.
- Dietrich, C. H. 1999. Key to the family group taxa of Cicadellidae. *Illinois Natural History Survey.* 28(10): 5-93.
- Emmen, D. A., S. J. Fleischer and A. Hower. 2004. Temporal and spatial dynamics of *Empoasca fabae* (Harris) (Homoptera: Cicadellidae) in alfalfa. *Environ. Entomol.* 33(4): 890-899.
- Flores, O. A., N. I. Alemán y Z. M. Notario. 2004. Alternativas para el manejo de la punta morada de la papa. En memorias simposio punta morada de la papa. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coah., México. pp. 40-64.
- González, R. A. 1995. Diversidad y dinámica de los insectos vectores de enfermedades del cultivo de la papa en Coahuila y Nuevo León. En memorias. Trabajos presentados en el VI Congreso Nacional de Productores de papa. Saltillo, Coah., México. 104 p.
- Horton, D. 1992. La papa: producción, comercialización y programas. Publicación del Centro internacional de la papa (CIP). Lima Perú. Editorial Hemisferio Sur. Montevideo, Uruguay. pp. 1-42.
- Huffaker, C. B. 1987. Fundamentos del control biológico de malas hierbas. En Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Compañía editorial Continental, S. A. De C. V. 10ª impresión. México D. F. pp. 740-756.
- Hutchinson, B. 2002. Potato or Aster Leafhopper. *Minnesota Vegetable IPM Newsletter.* (4): 1.
- Lee, I. M., D. E. Gunderson and A. Bertaccini. 1998. Phytoplasma: Ecology and genomic diversity. Symposium. New perspectives on phytopathogenic Mollicutes. *Phytopatol.* 88:1350-1366.
- Lee, I. M., R. A. Dane., M. C. Black and N. Troxclair. 2001. First report of an aster yellows phytoplasma associated with cabbage in southern Texas. *Plant Dis.* 85:447.
- Lee, I. M., M. Martín., K. D. Bottner and R. A. Dane. 2003. Ecological implications from a molecular analysis of phytoplasmas involved in an aster yellows epidemic in various crops in Texas.
- Lehr, P. A. 1988. Keys to the insects of the far east of the USSR. pp. 32. *In: six Volumes. Vol. II. Homoptera and Heteroptera.* Leningrad, Nauka Publishing House.
- Leyva, L. N y J. S. Martínez. 2001. Detección, caracterización y aspectos ecológicos de fitoplasmas asociados a enfermedades de la papa. Memorias del XXVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Querétaro, Qro., México. Resumen F-18.
- Lorus, M and M. Margery. 1980. Field guide to North American insects and spiders. National Audubon Society. Alfred A. Knopf, New York. p.499.
- Martínez, S. J. P., 1999, La punta morada de la papa IX Congreso Nacional de Productores de papa, Memorias, León Gto., México.
- Martínez, J. S. 2000. Curso Biotecnología. Técnicas de extracción de ADN y PCR. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coah., México.
- Marzachi, C. y D. Bosco. 2005. Relative quantification of chrysanthemum yellows (16Sr I) phytoplasma in its plant and insect host using real-time polymerase Chain reaction. *Mol. Biotechnol.* 30(2): 117-128.
- Mazzoni, V., F. Cosci., A. Lucchi and L. Santini. 2001. Leafhoppers and Planthoppers vectors in Ligurian and Tuscan vineyards. *Bulletin OILB/SROP,* 2001. 24(7): 263-266.
- Metcalf, C. L y W. P. Flint. 1984. Insectos destructivos e insectos útiles, sus costumbres y control. 4ª Edic. Edit. Continental, México. 1208 p.
- Milanez, J. M., J. R. Parra., I. A. Custódio., D. C. Magri., C. Cera and J. R. Lopes. 2003. Feeding and survival of citrus sharpshooters (Hemiptera: Cicadellidae) on host plants. *Florida Entomologist* 86(2): 154-157.
- Polgar, A., G. Kuroli and A. Orosz. 2002. Individual number change of *Empoasca* spp. Cicadas species in potato. *Universite it Gent* 67(3): 547-556.
- StatSoft, 2005. StatSoft logo, Statistica, Sewss Sedas, Data Miner, Sepath and G. Trees.
- Triplehorn, C. H and Jonson N. F. 2005. Borror and DeLong's introduction to the study of insects. Seventh edition. Thomson books/cole. pp. 268-332.

# Distribución Asintótica de la Tasa de Cobertura en un Modelo de Secuenciación Genómica

Gerardo Antonio Alvarado Esquivel\* y Rolando Cavazos Cadena

Departamento de Estadística y Cálculo, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista. 25315. Saltillo, Coah., México. Tel.: (844)4110334, 4110334 Fax: (844)4110228. E-mail: alvareski@yahoo.com.mx (\*Autor responsable).

## Abstract

Starting from a model of genomic sequencing, it is demonstrated that the asymptotic distribution of the coverage rate is normal and, on the basis of this, a credibility interval is established, in which the analyzed proportion of nucleotides is located.

**Key words:** Whole genom shotgun sequencing, coverage, Bernoulli process, interval of credibility

## Resumen

A partir de un modelo de secuenciación genómica, se demostró que la distribución asintótica de la tasa de cobertura es normal y en base a esto se estableció un intervalo de credibilidad en el cual se ubica la proporción analizada de nucleótidos.

**Palabras clave:** Secuenciación genómica total, cobertura, proceso de Bernoulli, intervalo de credibilidad

## Introducción

La secuenciación genómica es una técnica que consiste en descifrar el orden de los nucleótidos del genoma de un organismo en particular, y ha tenido una gran relevancia en los últimos años pues se ha utilizado para secuenciar el genoma de diferentes especies, incluyendo la humana.

En este trabajo se utiliza un modelo de esta técnica con la finalidad de estudiar el comportamiento asintótico de una variable denominada tasa de cobertura, la cual es un indicador de la eficiencia de la técnica. El objetivo es demostrar que esta variable se distribuye asintóticamente normal y, en base a esto, construir un intervalo de credibilidad. Cabe destacar que la principal diferencia entre el enfoque de este trabajo y el modelo comúnmente estudiado, por ejemplo en Ewens y Grant (2005), es que en la literatura se utiliza la aproximación de Poisson a procesos de Bernoulli, mientras que en el desarrollo de este trabajo se emplea directamente un proceso de Bernoulli.

## El Modelo

El genoma se puede establecer como una sucesión  $G$  cuyas componentes  $w_i$  pertenecen a un conjunto finito.

$$G = (w_1, w_1, \dots, w_g), w_i \in B, i = 1, 2, \dots, g \quad (1)$$

En donde  $B$  está constituido por los nucleótidos A, G, C y T (De acuerdo a la inicial de la base nitrogenada que poseen: adenina, guanina, citosina, y timina, respectivamente), mientras que  $g$  es la longitud de  $G$ , es decir el número de nucleótidos que constituyen el genoma.

Bajo este modelo, se asume a la sucesión  $G$  como una muestra aleatoria (con sustitución) del conjunto  $B$ .

La técnica de Secuenciación Genómica Total (*whole genome shotgun*) consiste en fragmentar varias copias del genoma y de los fragmentos generados, se selecciona una muestra de fragmentos constituidos por  $L$  bases. Posteriormente los fragmentos seleccionados son secuenciados y ensamblados en bloques de acuerdo a la similitud de sus extremos. A partir de los bloques se determina la secuencia del genoma.

El modelo de fragmentación tiene como componentes básicas: un parámetro de longitud y una sucesión de variables aleatorias  $\{X_n\}$  con las siguientes propiedades

$X_1, X_2, X_3, \dots$ , son independientes

$$X_i \sim Ber(p) \text{ para todo } i \quad (2)$$

En donde  $p \approx m/g$  y  $m$  es el número de fragmentos secuenciados, es decir que el parámetro es proporcional al tamaño de la muestra<sup>1</sup>.

En la expresión (2),  $Ber(p)$ , denota a la distribución Bernoulli con parámetro, de manera que para cada  $i = 1, 2, 3, \dots$

$$P[X_i = 1] = p = 1 - P[X_i = 0]$$

Con relación al genoma  $G$  en (1), la interpretación de  $X_i$  es la siguiente: Si  $X_i = 1$ , entonces el fragmento que inicia en la posición  $i$  del genoma y se prolonga  $L$  unidades es analizado y secuenciado, mientras que si  $X_i = 0$ , no se analiza fragmento alguno cuyo extremo izquierdo sea la  $i$ -ésima posición. De esta manera es natural asociar con cada variable aleatoria un segmento de los números naturales como se hace en la siguiente definición.

**Definición 1.** Para cada  $k = 1, 2, 3, \dots$ , el segmento  $I_k$  de números naturales está definido mediante.

$$I_k := [k, k + L], \text{ si } X_k = 1.$$

$$I_k := \emptyset, \text{ si } X_k = 0.$$

La variable de estudio en este trabajo es la tasa de cobertura, la cual se refiere a la proporción de posiciones del genoma que son efectivamente analizadas en el proceso de secuenciación. Esta variable se expresa en términos de variables de cobertura, ambas se definen a continuación.

**Definición 2.** Las variables de cobertura  $Y_1, Y_2, Y_3, \dots$

se definen para  $i = 1, 2, 3, \dots$ , como:  $Y_i = 1$ , si  $i \in I_k$ , si para algún  $k$

$$Y_i = 0, \text{ si } i \notin I_k \text{ para todo } k$$

**Definición 3.** Para cada entero positivo, la tasa de cobertura hasta la posición  $n$  se denota mediante  $\alpha_n$  y

$$\alpha_n = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n Y_k$$

A continuación se enunciarán dos lemas que son importantes en el análisis subsecuente. En el lema 1 se enumeran las propiedades de las variables de cobertura., en el lema 2 se establece el comportamiento límite de la varianza de la tasa de cobertura.

**Lema 1<sup>2</sup>**

(i) Para cada  $i < L$   $P[Y_i = 1] = 1 - (1 - p)^i$  esto es  $Y_i \sim Ber(1 - (1 - p)^i)$

(ii) Para cada  $i \geq L$   $P[Y_i = 1] = 1 - (1 - p)^L$  esto es  $\sim$

(iii) Para

(iv) Para para  $i, j$  enteros positivos. Si  $j \geq i + L$ .

Entonces los vectores  $(Y_1, Y_2, \dots, Y_i)$  y

(v) Dos vectores  $(Y_i, Y_{i+1}, \dots, Y_{i+d})$  y

$(Y_j, Y_{j+1}, \dots, Y_{j+d})$  son idénticamente distribuidos.

cual  $i \geq L$  y  $j \geq i + d + L$

$(Y_j, Y_{j+1}, Y_{j+2}, \dots)$  son independientes

**Lema 2** Para cada  $n \geq L$  defina lo siguiente

$$\alpha'_n = \frac{1}{n} \sum_{i=L+1}^n Y_i \quad v := \sum_{d=-L}^{d=L} \gamma(d)$$

en donde  $\gamma(d) = (1 - p)^L [(1 - p)^{|d|} - (1 - p)^L]$  si

$|d| < L$   $\gamma(d) = 0$  si  $|d| \geq L$

En este caso  $\lim_{n \rightarrow \infty} n \text{Var}[\alpha'_n] = \sum_{d=-L}^L \gamma(d) = v$

**Distribución Límite**

Una sucesión  $\{W_n\}$  de variables aleatorias converge en distribución a la distribución normal con media 0 y varianza  $v$  denotada por  $N(0, v)$ , si para todo  $x \in \mathfrak{R}$

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P[W_n \leq x] = \Phi(x/v) \tag{3}$$

donde  $\Phi(x/v) = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-x^2/2} dx$  es la función de distribución normal estándar. Cuando (3) ocurre para todo  $x \in \mathfrak{R}$ , se escribe  $\{W_n\} \xrightarrow{d} N(0, v)$ .

El resultado central de este trabajo se formula a continuación.

**Teorema 1.** Conforme  $n \rightarrow \infty$

$$\sqrt{n} (\alpha_n - \alpha^*) \xrightarrow{d} N(0, v)$$

El instrumento básico para establecer este resultado es el siguiente teorema clásico, conocido como Teorema Central del Límite, cuya demostración puede encontrarse, por ejemplo en (Lange, 2003).

**Teorema 2.** Sean  $T_1, T_2, T_3, \dots$  variables aleatorias independientes e idénticamente distribuidas con media  $\mu$  y varianza  $v$ . En estas circunstancias

$$\sqrt{n} \left( \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n T_i - \mu \right) \xrightarrow{d} N(0, v)$$

Este teorema no puede ser utilizado directamente para obtener el Teorema 1, debido a que como lo establece el Lema 1, las variables de cobertura  $Y_i$  no son idénticamente distribuidas y aún más importante no son independientes, como lo demuestra el hecho que la covarianza entre dos variables distintas  $Y_i$  y  $Y_j$  no son necesariamente 0. La estrategia para demostrar el Teorema 1 usará el Teorema Central del Límite después de hacer las adecuaciones necesarias. El punto de partida es introducir las siguientes variables aleatorias auxiliares.

**Definición 4.** Sea  $r$  un entero positivo fijo, para  $k = 1, 2, 3, \dots$  defina

$$\begin{aligned} \delta_k &= \frac{1}{L} \sum_{i=(k-1)(r+1)L+1}^{(k-1)(r+1)L+L} Y_i \\ \beta_k &= \frac{1}{L} \sum_{i=(k-1)(r+1)L+L+1}^{k(r+1)L} Y_i \end{aligned} \quad (4)$$

Con esto se divide a las variables de cobertura en grupos sucesivos de tamaño  $(r+1)$ . Después de formar los grupos, el promedio de las primeras  $L$  variables se usa para construir  $\delta_k$ , mientras que el promedio de las restantes  $Lr$  variables genera  $\beta_k$ . Note que para cada  $j < k$ , las variables de cobertura involucradas en el promedio  $\beta_k$  tienen índice que supera en, por lo menos,  $L$  unidades al índice de cualquier variable aleatoria  $Y_i$  que aparece en el promedio  $\beta_j$ , y a partir del lema 1(iv) se desprende que  $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \dots$  son independientes, mientras que la parte (v) del mismo lema implica que estas variables tienen la misma distribución. Similarmente, puede establecerse que las variables  $\delta_k$  son independientes. Estas

donde se utilizó (8) para establecer la implicación. Por lo tanto

$$\begin{aligned} & \left[ \sqrt{n} [\alpha_n - \alpha^*] \leq x \right] \subset \left[ Z_n + D_n \leq x + \varepsilon \right] \\ & = \left[ Z_n + D_n \leq x + \varepsilon, |D_n| \leq \varepsilon \right] \cup \left[ Z_n + D_n \leq x + \varepsilon, |D_n| > \varepsilon \right] \end{aligned}$$

conclusiones se establecen formalmente en el siguiente lema.

**Lema 3.** Con la notación en la definición 3.5.1

- (i)  $\delta_1, \delta_2, \delta_3, \dots$  son independientes
- (ii)  $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \dots$  son independientes e idénticamente distribuidas

**Lema 4.** Para cada  $n > 2(r+1)L$ ,  $\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*]$  se representa como  $\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] = Z_n + D_n + R_n$

En donde  $\alpha^* = 1 - (1-p)^L$  y las variables del lado derecho satisfacen las siguientes propiedades

- (i)  $|R_n| \leq (r+2)L/\sqrt{n}$
- (ii)  $E[D_n] = 0$  y  $Var[D_n] \leq \frac{L}{(r+1)}$
- (iii)  $Z_n \xrightarrow{d} N(0, \tau_r)$  y  $\tau_r = (r+1)L Var[\alpha'_{(r+1)L}]$

El siguiente lema es la última etapa antes de la demostración del Teorema 1.

**Lema 5.** Dado  $\varepsilon \in (0,1)$  sea  $n$  tal que

$$n > \left( \frac{(r+2)L}{\varepsilon} \right)^2 \quad (5)$$

y  $\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] = Z_n + D_n + R_n$ . En este caso, las siguientes desigualdades son válidas:

$$P\left[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x\right] \leq P[Z_n \leq x + 2\varepsilon] + \frac{1}{(r+1)\varepsilon^2} \quad (6)$$

$$P\left[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x\right] \geq P[Z_n \leq x + 2\varepsilon] - \frac{1}{(r+1)\varepsilon^2} \quad (7)$$

**Demostración.** Como punto de partida note que (5) implica que  $(r+2)L/\sqrt{n} \leq \varepsilon$

$$\text{de donde se desprende que } |R_n| \leq \varepsilon \quad (8)$$

Y dado que  $x \in \mathfrak{R}$ , observe que

$$\begin{aligned} \sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x & \Leftrightarrow Z_n + D_n \leq x - R_n \\ & \Rightarrow Z_n + D_n \leq x + \varepsilon \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= [Z_n \leq x + \varepsilon - D_n, |D_n| \leq \varepsilon] \cup [ |D_n| > \varepsilon ] \\
 &\subset [Z_n \leq x + \varepsilon + \varepsilon, |D_n| \leq \varepsilon] \cup [ |D_n| > \varepsilon ] \\
 &\subset [Z_n \leq x + 2\varepsilon, ] \cup [ |D_n| > \varepsilon ]
 \end{aligned}$$

Por lo tanto

$$P[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x] \leq P[Z_n \leq x + 2\varepsilon, ] + P[ |D_n| > \varepsilon ]$$

Observe que la desigualdad de Chebichev y el Lema 4 (ii) implican que

$$P[ |D_n| > \varepsilon ] \leq \frac{Var[D_n]}{\varepsilon^2} \leq \frac{L}{(r+1)\varepsilon^2} \quad (9)$$

y combinando éstas dos últimas relaciones se obtiene

$$P[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x] \leq P[Z_n \leq x + 2\varepsilon ] + \frac{L}{(r+1)\varepsilon^2}$$

estableciendo (6). El argumento para demostrar (7) es similar. Note que a partir de (8) se obtiene:

$Z_n \leq x - 2\varepsilon \Rightarrow Z_n + R_n \leq x - \varepsilon$ . Por lo tanto

$$\begin{aligned}
 [Z_n \leq x - 2\varepsilon] &\subset [Z_n + R_n \leq x - \varepsilon] \\
 &= [Z_n + R_n \leq x - \varepsilon + D_n] \\
 &= [Z_n + R_n + D_n \leq x - \varepsilon + D_n, |D_n| \leq \varepsilon] \cup [Z_n + R_n + D_n \leq x - \varepsilon + D_n, |D_n| > \varepsilon] \\
 &\subset [Z_n + R_n + D_n \leq x, |D_n| \leq \varepsilon] \cup [ |D_n| > \varepsilon ] \\
 &\subset [Z_n + R_n + D_n \leq x ] \cup [ |D_n| > \varepsilon ]
 \end{aligned}$$

Por lo tanto  $[Z_n \leq x - 2\varepsilon] \subset \sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^* \leq x] \cup [ |D_n| > \varepsilon ]$

y entonces vía  $\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] = Z_n + D_n + R_n$  se desprende que

$$P[Z_n \leq x - 2\varepsilon] \leq P[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^* \leq x]] + P[ |D_n| > \varepsilon ]$$

y empleando (9)

$$P[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x] \geq P[Z_n \leq x - 2\varepsilon] - \frac{1}{(r+1)\varepsilon^2}$$

### **Demostación del Teorema**

Dado  $\varepsilon \in (0,1)$  sea  $n$  tal que  $n > (r+2)^2 L^2 / \varepsilon^2$ , de manera que las desigualdades (6) y (7) en el Lema 5 son válidas. Tomando como límite conforme  $n$  tiende a  $\infty$  en las mencionadas desigualdades, se desprende que

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P[Z_n \leq x - 2\varepsilon] - \frac{C}{(r+1)\varepsilon^2} \leq \lim_{n \rightarrow \infty} P[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x]$$

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x] \leq \lim_{n \rightarrow \infty} P[Z_n \leq x + 2\varepsilon] + \frac{C}{(r+1)\varepsilon^2}$$

Recordando que  $Z_n \xrightarrow{d} N(0, \tau_r)$ , por el Lema 4 (iii), se tiene que

$$\lim_{n \rightarrow \infty} P[Z_n \leq x + 2\varepsilon] \rightarrow \Phi((x + \varepsilon)/\tau_r)$$

y similarmente  $\lim_{n \rightarrow \infty} P[Z_n \leq x - 2\varepsilon] \rightarrow \Phi((x - \varepsilon)/\tau_r)$ . Por lo tanto:

$$\Phi\left(\frac{(x - \varepsilon)}{\tau_r}\right) - \frac{C}{(r + 1)\varepsilon^2} \leq \lim_{n \rightarrow \infty} P\left[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x\right] \leq \Phi\left(\frac{(x + \varepsilon)}{\tau_r}\right) + \frac{C}{(r + 1)\varepsilon^2} \quad (10)$$

Por otro lado de acuerdo al Lema 2  $\lim_{n \rightarrow \infty} n \text{Var}[\alpha'_n] = v$  de manera que  $(r + 1)LVar[\alpha'_{(r+1)L}] = v$  si  $r \rightarrow \infty$ ,

de manera que a partir de la fórmula para  $\tau_r$  se desprende que  $\lim_{r \rightarrow \infty} \tau_r = v$ .

Combinando este hecho con la continuidad de  $\Phi(\cdot)$ , después de tomar el límite cuando  $r$  tiende a  $\infty$  en (10) se obtiene que  $\Phi\left(\frac{(x - \varepsilon)}{\tau_r}\right) \leq \lim_{n \rightarrow \infty} P\left[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x\right] \leq \Phi\left(\frac{(x + \varepsilon)}{\tau_r}\right)$ .

Y tomando el límite en ésta relación conforme  $\varepsilon$  tiende a cero por la derecha, se arriba a  $\Phi(x/v) \leq \lim_{n \rightarrow \infty} P\left[\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq x\right] \leq \Phi(x/v)$  de manera que  $\sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \xrightarrow{d} N(0, v)$

A partir del Teorema 1 se establece el siguiente intervalo de credibilidad para la tasa de cobertura. Denotando a  $z_{c/2}$  como el percentil derecho de orden  $c/2$  para la distribución normal estándar, se tiene que para ‘ $n$  grande’,  $P\left[-vz_{c/2} \leq \sqrt{n}[\alpha_n - \alpha^*] \leq vz_{c/2}\right] \approx \Phi\left(vz_{c/2}/v\right) - \Phi\left(-vz_{c/2}/v\right) = 1 - c$

### Conclusiones

La tasa de cobertura  $\alpha_n$  estandarizada, se distribuye asintóticamente normal, y como el tamaño del genoma es grande, se tiene que  $\alpha_g$  se ubica, con probabilidad aproximadamente  $1-c$ , dentro del intervalo  $\alpha^* \pm vz_{c/2}/\sqrt{g}$ .

Como se indicó anteriormente, el parámetro  $p$  es proporcional al número de fragmentos secuenciados en la técnica, por lo tanto este intervalo indica los valores entre los que se ubica la proporción de nucleótidos analizados en función del tamaño de la muestra de fragmentos secuenciados

### Literatura Citada

- Ewnes, W. y G. Grant. 2005. Statistical Methods in Bioinformatics: An introduction, 2<sup>nd</sup> ed., Springer-Verlag, New York. 588 p.
- Lange, K. 2003. Applied Probability, Springer-Verlag, New York, USA. 367 p.

### **Colofón**

Este ejemplar de la Revista Agraria –*Nueva Epoca*– se terminó de imprimir en formato digital (PDF) en la Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, para su distribución en medios múltiples.

En Saltillo, Coah., México, a los 14 días del mes de febrero  
del año 2011



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

[www.uaaan.mx](http://www.uaaan.mx) - (844) 411-02-00; Fax (844) 411-02-00, Ext. 2041

e-mail: [investigacion@uaaan.mx](mailto:investigacion@uaaan.mx)