

MANUAL PARA RECONOCER E IDENTIFICAR AL PSÍLIDO DE LA PAPA (*Bactericera cockerelli* Šulc) EN CAMPO Y LABORATORIO

Estación Experimental Santa Catalina
Departamento Nacional de Protección Vegetal



Manual Técnico No. 121

Este proyecto forma parte de



Financiado por
la Unión Europea

Agencias implementadoras



Deutsche Gesellschaft
für internationale
Zusammenarbeit (giz) GmbH

Entidades solicitantes



**MANUAL PARA RECONOCER E
IDENTIFICAR AL PSÍLIDO DE LA PAPA
(*Bactericera cockerelli* Šulc)
EN CAMPO Y LABORATORIO**

2021



MANUAL PARA RECONOCER E IDENTIFICAR AL PSÍLIDO DE LA PAPA (*Bactericera cockerelli* Šulc) EN CAMPO Y LABORATORIO

Guillermo Lasso Mendoza

PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA DEL ECUADOR

Pedro José Álava González

MINISTRO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA

Walter Oswaldo Reyes Borja

DIRECTOR EJECUTIVO DEL INIAP

Cita de esta publicación:

Castillo Carrillo, C. I., Llumiquinga Hormaza, P. J. (2021). Manual para reconocer e identificar al psílido de la papa (*Bactericera cockerelli* Šulc), en campo y laboratorio. *Manual técnico No. 121. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias*. 40 p.

2021. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)

Estación Experimental Santa Catalina

Panamericana Sur Km 1, Quito, Ecuador

Teléfono: (593-2) 3076002

Correo electrónico: iniap@iniap.gob.ec

www.iniap.gob.ec

Julio, 2021

EQUIPO TÉCNICO PARTICIPANTE

Carmen Castillo Carrillo

Pablo Llumiquinga Hormaza

REVISORES INTERNOS:

Xavier Cuesta

Jorge Rivadeneira

Comité de Publicaciones de la EESC: María Luisa Insuasti, Diego Peñaherrera, José Velásquez

REVISORES EXTERNOS:

Wilmer Pérez (CIP)

Heidy Gamarra (CIP)

DISEÑO E IMPRESIÓN

Imprenta IdeaZ, Quito

CRÉDITOS

Fotografías: Carmen Castillo, Pablo Llumiquinga, Andrew Jensen (www.aphidtreck.org), Encyclopædia Britannica Inc.

ISBN ESCRITO: 978-9942-22-541-2

ISBN DIGITAL: 978-9942-22-548-1

Todos los derechos reservados

No está permitida la reproducción total o parcial de esta publicación, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, sin el permiso previo y por escrito de la institución.

PRESENTACIÓN

El manual para reconocer e identificar al psílido de la papa (*Bactericera cockerelli* Šulc) en campo y laboratorio resume información bibliográfica y experiencias del personal técnico y científico del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) en relación a esta importante plaga que constituye uno de los problemas fitosanitarios más relevantes del cultivo de la papa y de otras solanáceas de importancia económica para los agricultores y para el país.

Este manual, que fue producido sin fines de lucro y de acceso abierto, estará al alcance de técnicos y agricultores que deseen conocer e identificar en campo y laboratorio a esta nueva plaga que se está expandiendo por el Ecuador.

Se ofrece información práctica para reconocer a los adultos y estadios de desarrollo del psílido de la papa, *Bactericera cockerelli* Šulc, en campo a simple vista o con la ayuda de lupas de aumento. También se ofrece información detallada sobre procesos moleculares para una identificación más científica de este insecto y del fitopatógeno *Candidatus Liberibacter solanacearum*.

Finalmente, se ofrecen algunas sugerencias para llevar a cabo monitoreos de la plaga en el campo y una serie de links donde se podrá encontrar información más detallada de *B. cockerelli*.

Esperamos que el manual sea de utilidad para un reconocimiento oportuno de la plaga, con ello se podrá tomar acciones inmediatas de manejo integrado y evitar que la población se establezca y sea difícil su control.

PRÓLOGO

Ofrecemos este manual gratuito para uso de técnicos extensionistas, de laboratorio y agricultores en el reconocimiento del psílido de la papa (*Bactericera cockerelli* Šulc). El contenido práctico permitirá al lector conocer las características morfológicas más relevantes de este insecto para su identificación en el campo. De igual manera, la información detallada sobre técnicas moleculares permitirá al técnico de laboratorio seguir los protocolos de una forma organizada y obtener la identificación de *B. cockerelli*.

Este manual trata estos temas de manera sencilla y puntual para que llegue a los lectores de forma comprensible.

AGRADECIMIENTOS

Al programa de la Unión Europea EUROCLIMA + Componente Producción Resiliente de Alimentos, implementado por La Agencia Francesa para la Cooperación Técnica Internacional (Expertise France) y la Agencia Alemana para la Cooperación Internacional (GIZ); en el marco del proyecto “Biodiversidad y buenas prácticas de agricultura climáticamente inteligente para mejorar la resiliencia y productividad de la agricultura familiar en sistemas alimentarios andinos basados en papa”, ejecutado por el CIP e IICA con apoyo del INIAP.

CONTENIDO

Introducción	9
Aspectos generales	11
Ciclo de vida	11
Plantas hospederas	12
Identificación morfológica de <i>Bactericera cockerelli</i>	14
Identificación morfológica de <i>B. cockerelli</i> en campo	14
Reconocimiento del psílido de la papa en el campo	14
Diferencias morfológicas con otros insectos	17
Identificación de <i>Bactericera cockerelli</i> en el laboratorio	19
Identificación morfológica del psílido de la papa	19
Identificación molecular del psílido de la papa y detección de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i>	21
Toma de las muestras	21
Métodos de extracción de ADN	21
Método del bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB)	21
Extracción rápida para psílicos (RPEX)	23
Cuantificación de ADN	24
Amplificación de ADN	25
Identificación molecular del psílido de la papa	25
Identificación molecular de <i>Candidatus Liberibacter solanacearum</i> (CaLso)	27
Análisis de secuencias	33

Monitoreo de <i>Bactericera cockerelli</i> en campo	34
Metodología de monitoreo.....	34
Trampas amarillas.....	35
Monitoreo de oviposturas y ninfas en el follaje.....	36
Referencias	38
Links para mayor información	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida del psílido de la papa (adulto, oviposturas y ninfas).....	11
Figura 2. Oviposturas del psílido de la papa en hojas del cultivo de papa.....	15
Figura 3. Cambios morfológicos y vista dorsal del psílido de la papa.....	16
Figura 4. Secreciones y oviposturas de psílicos en hojas de papa.....	17
Figura 5. Comparación entre adultos del psílido de la papa y otros insectos.....	18
Figura 6. Características principales del psílido de la papa <i>B. cockerelli</i>	19
Figura 7. Diferencias entre el psílido de la papa (izquierda) y áfidos (derecha).....	20
Figura 8. Procedimiento para determinar haplotipos de CaLso mediante secuenciación.....	33
Figura 9. Monitoreo de la presencia del psílido de la papa en el campo.....	34
Figura 10. Reconocimiento de los psílicos de la papa en trampas amarillas.....	36
Figura 11. Oviposturas y ninfas de <i>B. cockerelli</i> en hojas de papa.....	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Plantas hospederas de <i>B. cockerelli</i> cultivadas y silvestres reportadas en Ecuador y varios países.....	12
Tabla 2.	Principales diferencias morfológicas entre psílicos, saltones de hojas y áfidos.....	18
Tabla 3.	Concentraciones de reacción para la amplificación del gen de la subunidad I del citocromo oxidasa mitocondrial (COI) de <i>B. cockerelli</i>	26
Tabla 4.	Cebadores utilizados para la amplificación de CaLso.....	27
Tabla 5.	Concentraciones de reacción para la amplificación de la subunidad ribosomal 16S de CaLso.....	28
Tabla 6.	Concentraciones de reacción para la amplificación del gen de la subunidad ribosomal 16S de CaLso.....	29
Tabla 7.	Concentraciones de reacción para la amplificación de la región intergénica (IGS) rRNA 16S-23S de CaLso.....	31
Tabla 8.	Concentraciones y volúmenes de reacción para la amplificación de los genes codificantes de proteínas ribosomales rplJ y rplL de CaLso.....	32

Introducción

El psílido de la papa y del tomate, *Bactericera cockerelli* (Šulc), conocido también como pulguilla saltadora, salerillo o paratrioza (que viene de su nombre anterior *Paratrioza cockerelli*) y fue descrito por primera vez en los Estados Unidos en 1909. El adulto es un insecto muy pequeño (2-3 mm) que pertenece a la familia Triozidae del orden Hemiptera (Šulc 1909). Según estudios genéticos presenta cuatro haplotipos o variantes de la misma especie: central, oeste, suroeste y noroeste, nombrados así por encontrarse en esas regiones de los Estados Unidos (Swisher et al. 2012).

B. cockerelli está presente en los países de América del Norte y América Central, en Nueva Zelanda y Australia (Ouvrard 2021). En Ecuador, esta plaga fue observada por primera vez a fines del 2017 en plantas de papa en provincias del norte de donde se ha ido difundiendo hacia el sur por el callejón interandino. Los análisis moleculares realizados hasta la actualidad determinan la presencia del haplotipo central en Ecuador (Castillo et al. 2019).

B. cockerelli es el vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso) (sinónimo *Ca. Liberibacter psyllaourous*), además de reproducirse en el insecto vector, este patógeno vive y se reproduce en el floema de las plantas hospedadoras. CaLso ocasiona la devastadora enfermedad llamada *zebra chip* o papa manchada (Munyaneza et al. 2007; Hansen et al. 2008). Esta bacteria presenta siete variantes genéticas a nivel mundial: A, B, C, D, E, F y U (Nelson et al. 2011; 2013; Swisher et al. 2012; Alfaro-Fernández et al. 2017). En Ecuador hasta el momento está reportado el haplotipo A de CaLso (Caicedo et al. 2020).

El psílido de la papa y CaLso se han convertido en el problema fitosanitario de mayor importancia económica de la papa y otras solanáceas cultivadas en los países donde han sido reportados y son considerados plagas cuarentenarias (CABI 2021a; 2021b).

El presente manual pretende brindar información sobre *B. cockerelli* para su identificación visual - morfológica y molecular. Se incluye protocolos para la extracción del ADN del psílido y la determinación de sus haplotipos, y para la detección de CaLso y de sus haplotipos correspondientes. Además, se presenta información sobre cómo se debe realizar un monitoreo del psílido de la papa en el campo.

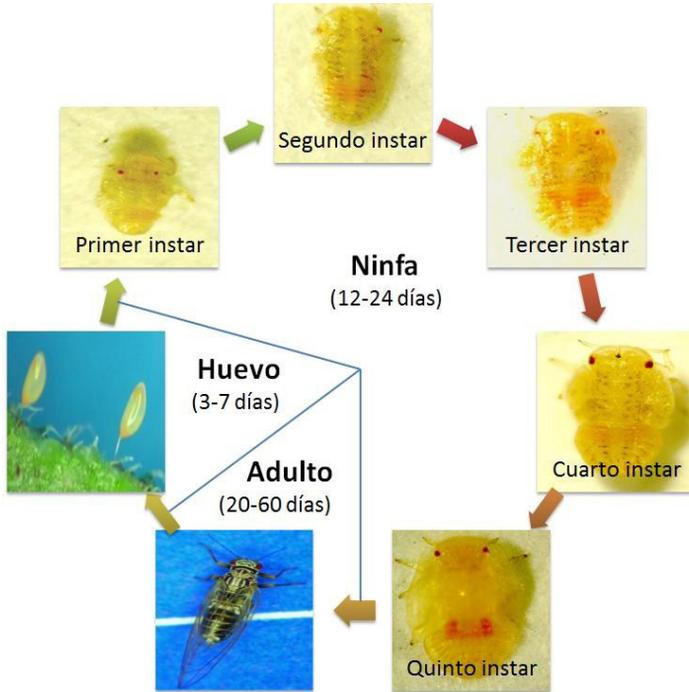
Aspectos generales

Ciclo de Vida

B. cockerelli pasa todo su ciclo de vida en la parte aérea de la planta con una duración de 24 a 35 días, dependiendo de factores bióticos y abióticos. Atraviesa por los estadios de desarrollo de huevo, ninfa (cinco estadios) y adulto, como se observa en la Figura 1.

Figura 1.

Ciclo de vida del psílido de la papa (adulto, oviposturas y ninfas).



Nota. Las fotografías no representan el tamaño real. Adaptado de A. Jensen, Aphidtrek (https://aphidtrek.org/?page_id=294), con permiso del autor, derechos reservados; y de Diagnostic protocol for the detection of the tomato potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Šulc) (Yen y Burckhardt, 2012).

Las oviposturas se encuentran en los brotes jóvenes de la planta, mientras que las ninfas se ubican en el envés de las hojas inferiores de la planta principalmente. Todos los estadios ninfales son móviles y se alimentan activamente de la planta. El adulto, macho y hembra, se moviliza por la planta hasta encontrar un punto de alimentación, que generalmente se encuentra en las nervaduras de las hojas y tallos, donde pueden alcanzar los tejidos del floema para succionar la savia de la planta.

Plantas hospederas

Adultos de *B. cockerelli* se pueden coleccionar en una extensa lista de especies vegetales. Las plantas donde el insecto oviposita y donde las ninfas se desarrollan, son consideradas como verdaderos hospederos. En la Tabla 1, se puede observar las plantas hospederas donde este insecto desarrolla todo su ciclo, las cuales pertenecen a las familias Solanaceae y Convolvulaceae.

Tabla 1.

Plantas hospederas de *B. cockerelli* cultivadas y silvestres reportadas en Ecuador y varios países.

Familia	Nombre común	Nombre científico
Solanaceae	Papa	<i>Solanum tuberosum</i>
	Tomate riñón	<i>Solanum lycopersicum</i>
	Berenjena	<i>Solanum melongena</i>
	Naranjilla	<i>Solanum</i> spp.
	Hierba mora	<i>Solanum nigrum</i>
	Dulcamara	<i>Solanum dulcamara</i>
	Hierba mora de hoja plateada	<i>Solanum elaeagnifolium</i>
	Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>

Familia	Nombre común	Nombre científico
<i>Solanaceae</i>	Tomate de árbol	<i>Solanum betaceum</i>
	Pimiento	<i>Capsicum annuum</i>
	Uvilla	<i>Physalis peruviana</i>
	Tomate verde o tomatillo	<i>Physalis philadelphica</i>
	Chamico	<i>Datura stramonium</i>
	Uvilla del monte	<i>Nicandra physalodes</i>
	Baya de monte	<i>Lycium sp.</i>
<i>Convolvulaceae</i>	Batata o camote	<i>Ipomoea batatas</i>
	Campanilla, porotillo	<i>Convolvulus arvensis</i>
<i>Lamiaceae</i>	Menta	<i>Mentha sp.</i>
	Hierba buena	<i>Clinopodium douglasii</i>

Nota. Información tomada de Ouvrard 2021; CABI 2021a; P. Llumiquinga observación personal.

Identificación morfológica de *Bactericera cockerelli*

Identificación morfológica de *B. cockerelli* en campo

Reconocimiento del psílido de la papa en el campo

Los adultos del psílido pasan desapercibidos en los cultivos, estos saltan inmediatamente luego de sentir vibraciones en la planta. Si los adultos llegan a colonizar un lote, lo primero que se debe observar son las oviposturas o huevos que son amarillos y están adheridos a los bordes de las hojas más jóvenes en la parte apical de la planta.

También se los puede encontrar en el haz y envés de las hojas, sin embargo ahí es más difícil visualizarlos por las vellosidades de las hojas. Los huevos son depositados en forma individual. Las hembras ovipositan varios huevos en una hoja, de 300 a 500 durante su vida (Yang y Liu 2009). Los huevos miden aproximadamente 0.3 mm de largo y 0.1 mm de ancho y depositados en un pequeño hilo de pedestal o pedicelo del mismo largo, como se observa en la Figura 2.

Si ya se detectan las oviposturas, se debe acercar con precaución a las hojas para buscar los adultos que generalmente se ubican en el envés de las hojas. Los adultos tienen la característica de saltar como pulga cuando se sienten amenazados. El término psílido se origina del griego “psylla” que significa pulga.

Figura 2.

Oviposuras del psílido de la papa en hojas del cultivo de papa.



A simple vista, se puede observar en la parte dorsal del insecto una banda blanca horizontal a la altura del primer segmento abdominal (algunos agricultores le llaman el cinturón blanco) y la “V” invertida en el último segmento, como en la Figura 3.

Los adultos recién emergidos del último estadio ninfal tienen una coloración verde amarillenta como se indica en la Figura 3 (A y B); sin embargo, al poco tiempo toman su coloración típica oscura y se evidencian las características de las bandas antes mencionadas. Las otras bandas características de la cabeza, tórax y abdomen se las puede ver con el uso de una lupa. Otra característica importante para reconocer al psílido de la papa en el campo es que sus alas se encuentran dispuestas como techo de doble caída.

Figura 3.

Cambios morfológicos y vista dorsal del psílido de la papa.



Nota. Psílido de la papa. (A) Adulto con poco tiempo de emergido de la ninfa. (B) Adulto empezando a tomar sus características definitivas. (C) Adulto con coloración negra característica con su banda blanca en el primer segmento abdominal (BPS) y la "V" invertida en el último segmento (BV).

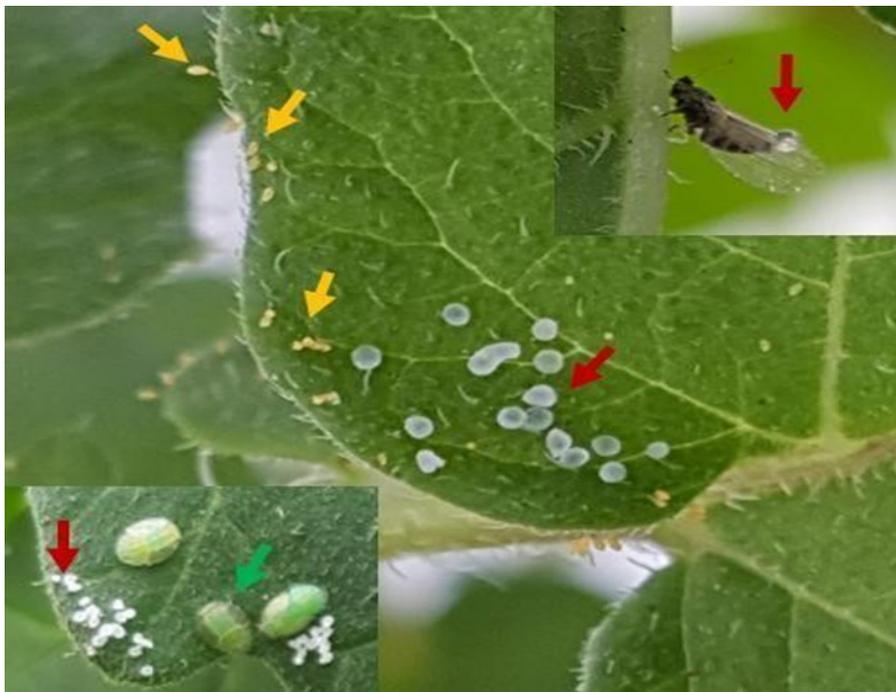
El estado de ninfa pasa por cinco estadios ninfales de desarrollo. La característica más relevante de las ninfas es que su cuerpo es aplanado, de forma elíptica. Las ninfas del primer estadio son amarillas anaranjadas, similares a los inmaduros de los trips pero más redondeadas. En los demás instares son de color verde pálido. Las ninfas de estadios más desarrollados son de color verde claro, se pueden ver las alas vestigiales o rudimentarias de un largo menor que la mitad del cuerpo a partir del tercer instar. Los ojos son rojos y prominentes. El cuerpo tiene filamentos de cera a su alrededor en los márgenes laterales. Si son molestadas, se mueven rápidamente. Al inicio de la colonización de los psílidos, las ninfas se ubican en las hojas inferiores, pero si la infestación es mayor, se las puede encontrar en toda la planta.

En ciertas ocasiones, es más fácil identificar la presencia del psílido de la papa por la detección de sus excrementos que son unas pequeñas bolitas blancas. De ahí su nombre de salerillo.

Tanto los adultos como las ninfas secretan unas pequeñas gotas de una solución azucarada que se solidifica una vez expulsadas, que se acumulan sobre las hojas como se observa en la Figura 4.

Figura 4.

Secreciones y oviposturas de psílidos en hojas de papa.



Nota. Secreciones solidificadas de psílidos (flechas rojas), oviposturas (flechas amarillas) y ninfas (flecha verde). Adulto en la parte superior derecha.

Diferencias morfológicas con otros insectos

En campo se puede confundir a los psílidos con otros insectos parecidos como saltones de hojas o loritos (Cicadellidae, Cixiidae) y áfidos o pulgones (Aphididae) pero sus diferencias son notorias cuando se observan detenidamente estos insectos como se puede apreciar en la Tabla 2, Figura 5 y 7.

Tabla 2.

Principales diferencias morfológicas entre psílicos, saltones de hojas y áfidos.

Parámetro	<i>B. cockerelli</i>	Saltones de hojas	Áfidos
Orden	Hemiptera	Hemiptera	Hemiptera
Familia	Triozidae	Cicadellidae Cixiidae	Aphididae
Ojos	Medianos	Grandes	Pequeños
Alas	Transparentes sin manchas	Color verde, café u otros colores	Transparentes con manchas
Patas	Medianas y robustas	Largas con espinas	Largas y delgadas
Abdomen	Sin cornículos	Las alas cubren el abdomen	Con cornículos
Inmaduros	Ninfas aplanadas, diferentes al adulto	Alargados similares a los adultos	Más pequeños pero semejantes a los adultos

Nota. Adaptado de Borror y White 1970.

Figura 5.

Comparación entre adultos del psílido de la papa y otros insectos.



Nota. (A) Psílido de la papa. (B) Saltón de hoja. (C) Áfidos. Adaptado de A. Jensen, Aphidtek (https://aphidtek.org/?page_id=294), con permiso del autor. Derechos reservados.

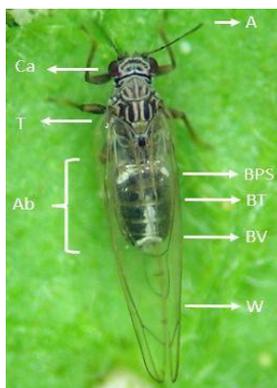
Identificación de *Bactericera cockerelli* en el laboratorio

Identificación morfológica del psílido de la papa

La longitud del cuerpo es de 2.8 a 3.2 mm y 0.6 mm de ancho (a nivel del metatórax). Los adultos recién emergidos son de color verde claro, mientras que los adultos maduros son de color negro con partes más claras, el vértex está rodeado por un margen blanquecino con una banda transversal en la mitad. El margen posventral del ojo es blanquecino también como un punto oval a cada lado. Los ojos son un poco más estrechos que el mesotórax. Las antenas son largas, pero no llegan a la mitad del cuerpo. En el cuarto segmento antenal posee un anillo (rhinarium). Las líneas blancas que se encuentran en la cabeza y tórax hacen fácilmente reconocible a *B. cockerelli*. En el abdomen, la franja más visible es la horizontal del primer segmento abdominal. Luego la transversal a lo largo del abdomen y la “V” invertida que está en el último segmento abdominal como en la Figura 6.

Figura 6.

Características principales del psílido de la papa *B. cockerelli*.

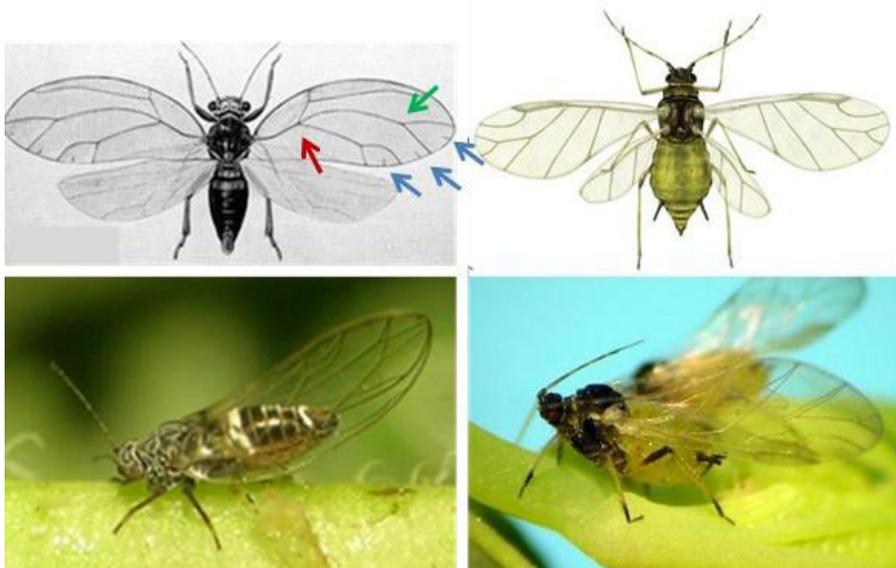


Nota. Cabeza (Ca), tórax (T), abdomen (Ab), antenas (A), banda blanca del primer segmento abdominal (BPS), banda transversal (BT), banda blanca en forma de V invertida (BV), alas en forma de techo de doble caída (W). Adaptado de A.Jensen, Aphidtrek (https://aphidtrek.org/?page_id=294), con permiso del autor. Derechos reservados.

Las alas son 2.6 veces más largas que anchas, más anchas en el tercio apical, son transparentes con venas cafés. La vena basal de la radial (R), medial (M) y cubital 1 (Cu1), se trifurca en el primer tercio del ala, siendo esta una característica de la familia Triozae. Luego, la vena M¹ se bifurca en el tercio distal formando un ángulo cuya abertura abarca la punta del ala. Posee tres marcas en el borde alar inferior, una en cada área (m1, m2 y cu1)¹ (Yen y Burckhardt 2012) como se puede apreciar en la Figura 7.

Figura 7.

Diferencias entre el psílido de la papa (izquierda) y áfidos (derecha).



Nota. La vena basal de la R+M+Cu1 (flecha roja) se trifurca en el primer tercio del ala, característico de la familia Triozae. Luego, la vena M¹ (flecha verde) se bifurca en el tercio distal formando un ángulo cuya abertura abarca la punta del ala. Marcas (tres) en el borde alar inferior, una en cada área (m1, m2 y cu1) (flechas azules). Modificado de Wallis 1955; adaptado de A. Jensen, Aphidtrek (https://aphidtrek.org/?page_id=294), con permiso del autor, derechos reservados; adaptado de *Apple Aphid*, de Encyclopædia Britannica Inc., 2013, Britannica (<https://www.britannica.com/animal/apple-aphid>). Copyright, 2013.

Identificación molecular del psílido de la papa y detección de *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Toma de las muestras

Los psílicos deben colectarse con redes o tubo aspirador e inmediatamente ser preservados con alcohol al 80-90% en tubos plásticos con tapa. De esta manera se puede conservar hasta realizar el análisis molecular o hasta montarlos para conservación en una colección seca.

Cada muestra debe contar con su debida identificación en un lugar legible del frasco o tubo y su respectivo registro en cuaderno de laboratorio o campo. Los datos importantes que deben mencionarse son: el lugar y fecha de colecta y el nombre del colector. En el libro de laboratorio o campo se pueden anotar, además de los datos anteriores, las coordenadas geográficas del lugar de colecta, la planta hospedera y algún otro detalle que el colector crea de relevancia.

Métodos de extracción de ADN

Método del bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB)

Este método se utiliza para la extracción de ADN a partir de plantas y se aísla el ADN según la metodología de Frost et al. (2011). Este procedimiento permite eliminar componentes celulares que interfieran con la pureza del ADN, mediante varias etapas como son: lisis de la membrana celular con buffer de extracción, separación con cloroformo, precipitación con isopropanol y lavado con etanol.

Equipos, materiales y reactivos

► Equipos

- ▷ Baño María
- ▷ Microcentrífuga
- ▷ Sorbona
- ▷ Micropipetas
- ▷ Vórtex
- ▷ Termobloque

► Materiales

- ▷ Puntas de micropipeta
- ▷ Pistilo plástico
- ▷ Tubos de microcentrífuga

► Reactivos

- ▷ Buffer de extracción
 - CTAB 2%
 - Cloruro de sodio 1.2 M
 - Tris HCl 100 mM
 - EDTA 20 mM
- ▷ Cloroformo: Alcohol isoamílico (CIA) 24:1
- ▷ Isopropanol frío
- ▷ Etanol frío 70%
- ▷ Agua ultrapura.

Procedimiento

- Se coloca 0.5 g de material vegetal en un tubo de microcentrífuga con 600 μ l de buffer de extracción y se macera con un pistilo plástico.
- Se incuba a 60°C durante 30 minutos en un baño María.
- Se centrifuga el contenido a 13000 rpm durante 5 minutos, luego se recoge el sobrenadante en un nuevo tubo de microcentrífuga.

- Se añade 600 µl de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1), se agita durante un minuto y se centrifuga a 13000 rpm por 10 minutos.
- Después se coloca el sobrenadante en un tubo de microcentrífuga con 500 µL de isopropanol frío durante 10 – 30 minutos.
- Se centrifuga el contenido a 13000 rpm durante 10 minutos y se desecha el sobrenadante.
- Se realiza un lavado con 1000 µl de etanol frío al 70% y se centrifuga a 13000 rpm por 10 minutos.
- Se elimina el sobrenadante y se seca el pellet en un termobloque a 37°C por 30 minutos.
- Finalmente, se coloca 100 µl de agua ultrapura y se mezcla el contenido en un vórtex hasta obtener una solución homogénea.

Extracción rápida para psíidos (RPEX)

Este método se utiliza para la extracción de ADN a partir de psíidos y se utiliza la metodología según Crosslin et al. (2013). Este procedimiento permite reducir el tiempo de extracción al evitar varios pasos que se realizan en otras metodologías como CTAB, además minimiza la utilización de reactivos peligrosos como cloroformo.

Equipos, materiales y reactivos

► Equipos

- ▷ Termociclador
- ▷ Centrífuga
- ▷ Micropipeta

► **Materiales**

- ▷ Puntas de micropipeta
- ▷ Tubos de microcentrífuga
- ▷ Pistilo plástico

► **Reactivos**

- ▷ Buffer de extracción:
 - Tris-HCl, 100 mM (pH 8.0)
 - Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), 5 mM
 - Tween 20 0.5% (V/V)
- ▷ Proteinasa K (20 mg/ml)

Procedimiento

- Se coloca 75 μ l de buffer de extracción y un psílido en un tubo de microcentrífuga.
- Se macera el psílido con un pistilo plástico o con una punta estéril de micropipeta y se añade 1 μ l de Proteinasa K (20 mg/ml).
- Se incuba en un termociclador por una hora a 37 °C, luego 10 minutos a 100 °C y se almacena el contenido a 10 °C.
- Se centrifuga a 1600 g por 10 segundos y se usa directamente para la amplificación o se almacenan a -20 °C para su posterior uso.

Cuantificación de ADN

Se puede determinar la cantidad de ADN procedente de una extracción mediante fluorometría o espectrofotometría.

Concentración y pureza mediante espectrofotometría

Esta metodología se basa en la capacidad de absorbanza de un compuesto presente en la muestra a una determinada longitud

de onda. La concentración de ADN se mide a 260 nm y para la pureza se utiliza la relación de dos longitudes de onda A_{260}/A_{280} , para lo cual se considera un ADN de buena pureza a un valor entre 1.8 – 2.0. Valores menores a este rango pueden deberse a contaminación por compuestos fenólicos o proteínas y valores superiores se deben a contaminación por ARN.

El procedimiento depende del equipo que se maneje en cada laboratorio por lo que se sugiere remitirse al manual del usuario del espectrofotómetro y tomar las mediciones en las longitudes de onda antes mencionadas.

Cuantificación mediante fluorimetría

La medición se basa en la utilización de fluoróforos que se intercalan en la molécula de ADN y que son excitados mediante luz ultravioleta para de este modo medir la intensidad de radiación. Es un método preciso debido a que los intercalantes sólo se unen a la molécula de interés y no a los contaminantes.

Se sugiere consultar el manual de usuario del fluorómetro donde se realizarán las mediciones, para cuantificar el ADN mediante esta metodología.

Amplificación de ADN

Una vez obtenido el ADN a partir de insecto o de planta, se amplifica mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tanto para identificación del insecto, de la bacteria y sus haplotipos.

Identificación molecular del psílido de la papa

Se amplifica una región de 500 pares de bases (bp) del gen de la subunidad I del citocromo oxidasa mitocondrial (COI) de *B. cockerelli* con los siguientes primers, según la metodología de Crosslin et al. (2011):

COIF3 (5´-TACGCCATACTAGCAATCGG-´3)

COIR3 (5´-GAGTAACGTCGTGGTATTCC-´3)

Condiciones de reacción

El mix de reacción para la identificación de *B. cockerelli* se realiza en un volumen final de 20 µL y las concentraciones finales de cada reactivo se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3.

Concentraciones de reacción para la amplificación del gen de la subunidad I del citocromo oxidasa mitocondrial (COI) de *B. cockerelli*.

Reactivos	Concentración final
Agua	-
Buffer	1x
MgCl ₂	1,5 mM
dNTPs	0,1 mM
COIF3	0,5 uM
COIR3	0,5 uM
Taq Polimerasa	0,005 U/µL
ADN	2 ng/µL

Nota: Adaptado de Crosslin et al. (2011).

El volumen de ADN de la muestra es de 4 µl y la cantidad de agua se ajusta hasta alcanzar el volumen final de la reacción. El programa para el PCR es 94 °C por 2 minutos, 35 ciclos de 94 °C por 15 segundos, 52 °C por 60 segundos y 72 °C por 60 segundos, seguido de una incubación final a 72 °C por 5 minutos.

Se realiza una corrida electroforética de las amplificaciones

realizadas a 100 voltios durante 40 minutos en gel de agarosa al 2% y por último se visualiza los geles en un fotodocumentador.

Determinación de haplotipos del psílido de la papa

Los amplicones obtenidos mediante PCR, se purifican mediante kits comerciales y se cuantifican mediante espectrofotometría. Luego se envían los productos purificados a servicio de secuenciación Sanger (Swisher et al. 2012) para determinar las secuencias de ADN de las muestras de interés. Con los datos obtenidos, se realiza un análisis bioinformático posterior con secuencias conocidas del gen COI encontradas en la base de datos del NCBI (Castillo et al. 2019).

Identificación molecular de *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso)

Se amplifica una región de 1160 bp (OA2/OI2c) ó 1070 bp (Clipo/OI2c) de la subunidad ribosomal 16S de CaLso mediante PCR convencional, con los cebadores que se observan en la Tabla 4, según Satta et al. (2016).

Tabla 4.

Cebadores utilizados para la amplificación de CaLso

Nombre	Secuencia (5´ - 3´)	Amplicón (pb)
OA2	CCGCTTATTTTAAATAGGAGCGGCA	1160
OI2c	GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT	
Clipo	GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT	1070
OI2c	GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT	

Nota: Adaptado de Satta et al. (2016).

Condiciones de reacción

El mix de reacción para la identificación de CaLso se realiza en un volumen final de 25 μ l y las concentraciones de cada reactivo se muestra en la Tabla 5. El volumen de ADN de la muestra es de 1 μ l y la cantidad de agua se ajusta hasta alcanzar el volumen final de la reacción.

Tabla 5.

Concentraciones de reacción para la amplificación de la subunidad ribosomal 16S de CaLso.

Reactivos	Concentración final
Agua	-
Buffer	1x
MgCl ₂	1,5 mM
dNTPs	0,8 mM
OA2/Clipo	0.4 mM
OI2c	0.4 mM
Taq Polimerasa	0.8 U
ADN	-

Nota: Adaptado de Satta et al. (2016).

El programa de PCR es de 94 °C por 2 minutos, luego 40 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 62 °C por 30 segundos y 72 °C por 60 segundos, seguido por una extensión final a 72 °C por 5 minutos, en un termociclador. Se recomienda usar controles positivos y negativos de extracción y amplificación para una buena fiabilidad de resultados.

Se realiza una corrida electroforética de las amplificaciones realizadas a 100 voltios durante 40 minutos en gel de

agarosa al 2% y por último se visualiza los geles en un fotodocumentador.

DetECCIÓN DE HAPLOTIPOS DE CaLso

- Gen del ARN ribosomal 16S

Se amplifica una región de 1163 bp de la subunidad ribosomal 16S de CaLso con los siguientes primers, según Li et al. (2009):

LsoF (5'-GTCGAGCGCTTATTT TTAATAGGA-3')

OI2c (5' - GCCTCGCGACTTCGCAACCCAT- 3')

Condiciones de reacción

El mix de reacción para la identificación de haplotipos de CaLso mediante amplificación del gen de ARN ribosomal 16S se realiza en un volumen final de 25 µL y las concentraciones de cada reactivo se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6.

Concentraciones de reacción para la amplificación del gen de la subunidad ribosomal 16S de CaLso.

Reactivos	Concentración final
Agua	-
Buffer	1x
MgCl ₂	2,5 mM
dNTPs	0,2 mM
LsoF	0.2 µM
OI2c	0.2 µM
Taq Polimerasa	1 U
ADN	-

Nota: Adaptado de Li et al. (2009).

El volumen de ADN de la muestra es de 2 μ l y la cantidad de agua se ajusta hasta alcanzar el volumen final de la reacción.

El programa de PCR es de 94 °C por 2 minutos, luego 35 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 62 °C por 30 segundos y 72 °C por 60 segundos, seguido por una extensión final a 72 °C por 10 minutos, en un termociclador.

Se realiza una corrida electroforética de las amplificaciones realizadas a 100 voltios durante 40 minutos en gel de agarosa al 2% y por último se visualiza los geles en un fotodocumentador.

- **Región intergénica rRNA 16S-23S**

Se amplifica una región de 383 bp de la Región Intergénica (IGS) rRNA 16S-23S de CaLso con los siguientes cebadores, según Ravindran et al. (2011):

Lso TX 16/23F (5'-AAT TTT AGC AAG TTC TAA GGG-3')

Lso TX 16/23R (5'-GGT ACC TCC CAT ATC GC-3')

Condiciones de reacción

El mix de reacción para la identificación de haplotipos de CaLso mediante la amplificación región intergénica rRNA 16S-23S, se realiza en un volumen final de 25 μ L y las concentraciones finales de cada reactivo se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7.

Concentraciones de reacción para la amplificación de la región intergénica (IGS) rRNA 16S-23S de *CaLso*.

Reactivos	Concentración final
Agua	-
Buffer	1x
MgCl ₂	2,5 mM
dNTPs	0,2 mM
LsoF	0.5 μM
OI2c	0.5 μM
Taq Polimerasa	0.5 U
ADN	-

Nota: Adaptado de Ravindran et al. (2011).

El volumen de ADN de la muestra es de 2 μl y la cantidad de agua se ajusta hasta alcanzar el volumen final de la reacción.

El programa de PCR es de 98 °C por 30 segundos, luego 35 ciclos a 98 °C por 10 segundos, 55 °C por 20 segundos y 72 °C por 30 segundos, seguido por una extensión final a 72 °C durante 7 minutos, en un termociclador.

Se realiza una corrida electroforética de las amplificaciones realizadas a 100 voltios durante 40 minutos en gel de agarosa al 2% y por último se visualiza los geles en un fotodocumentador.

- **Genes codificantes de proteínas ribosomales *rplJ* y *rplL***

Se amplifica una región de 669 bp de los genes codificantes de proteínas ribosomales *rplJ* y *rplL* de *CaLso*, según Munyaneza et al. (2009):

CL514F (5'-CTC TAA GAT TTC GGT TGG TT-3')

CL514R (5'-TAT ATC TAT CGT TGC ACC AG-3')

Condiciones de reacción

El mix de reacción para la identificación de haplotipos de CaLso se realiza mediante amplificación de Genes codificantes de proteínas ribosomales *rplJ* y *rplL* en un volumen final de 25 μ l y las concentraciones finales de cada reactivo se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8.

Concentraciones y volúmenes de reacción para la amplificación de los genes codificantes de proteínas ribosomales *rplJ* y *rplL* de CaLso.

Reactivos	Concentración final
Agua	-
Buffer	1x
MgCl ₂	2 mM
dNTPs	0,4 mM
LsoF	0.4 μ M
OI2c	0.4 μ M
Taq Polimerasa	1 U
ADN	-

Nota: Adaptado de Munyaneza et al. (2009).

El volumen de ADN de la muestra es de 2 μ l y la cantidad de agua se ajusta hasta alcanzar el volumen final de la reacción.

El programa de PCR es de 94°C por 30 segundos, luego 40 ciclos de 94 °C por 30segundos, 53 °C por 30 segundos y 72 °C por 30 segundos, seguido por una extensión final a 72 °C por 7 minutos, en un termociclador.

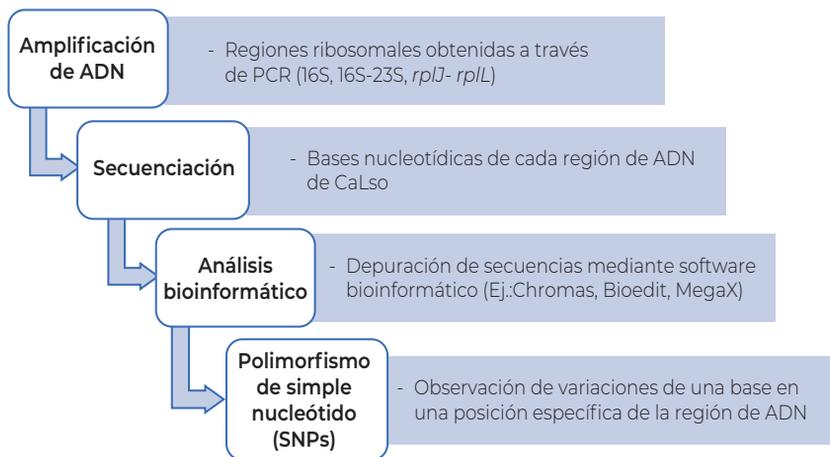
Se realiza una corrida electroforética de las amplificaciones realizadas a 100 voltios durante 40 minutos en gel de agarosa al 2% y por último se visualiza los geles en un fotodocumentador.

Análisis de secuencias

Una vez obtenidas las amplificaciones de las tres regiones del ADN de CaLso citadas arriba, se realiza una purificación con kit comerciales y luego se cuantifica por espectrofotometría. Posteriormente, se realiza un análisis mediante secuenciación, donde se obtienen las bases nucleotídicas que forman estas regiones y se analizan mediante diferentes programas bioinformáticos. En la Figura 8, se muestra las etapas para la determinación de haplotipos de CaLso desde la obtención de las amplificaciones de cada región ribosomal del ADN de la bacteria hasta la comparación con polimorfismos de simple nucleótido (SNPs) para cada haplotipo.

Figura 8.

Procedimiento para determinar haplotipos de CaLso mediante secuenciación.



Se comparan los polimorfismos de un simple nucleótido en sitios específicos de las secuencias depuradas mediante información existente en bases de datos internacionales (International Plant Protection Convention, 2017). Además, se pueden comparar las secuencias obtenidas con accesiones de otras investigaciones mediante la herramienta bioinformática BLAST (Altschul et al., 1990).

Monitoreo de *Bactericera cockerelli* en campo

Metodología de monitoreo

Para poder determinar la incursión de esta plaga a una nueva región o su presencia en un lote de papa o de otras solanáceas cultivables, se necesita realizar monitoreos constantes del psílido en sus diferentes estados de desarrollo. Esta práctica es importante para evitar que se establezca la plaga y llegue a límites incontrolables. Si se determina la presencia del psílido en un nuevo país, se deben tomar acciones de erradicación inmediata. Si se encuentran psílidos en un lote se deben iniciar las medidas de control adecuadas al estado de desarrollo (huevos, ninfas, adultos) prevalente. Algunas prácticas frecuentes de monitoreo se pueden observar en la Figura 9.

Figura 9.

Monitoreo de la presencia del psílido de la papa en el campo.



Nota. (A) Conteo de insectos en la trampa amarilla. (B) Colecta de insectos con red entomológica. (C) Trampa amarilla colocada en el campo a una altura que sobrepasa el cultivo. (D) Bordes de plástico amarillo con pegamento.

El monitoreo debe empezar desde los bordes del lote hacia el centro. Lo mejor es revisar constantemente el campo, como mínimo dos veces por semana. Se pueden emplear redes entomológicas, trampas amarillas pegantes, trampas amarillas de agua (bandejas) y observación directa. De esta manera se puede identificar la presencia o ausencia del psílido de la papa y cuantificar la incidencia de la plaga.

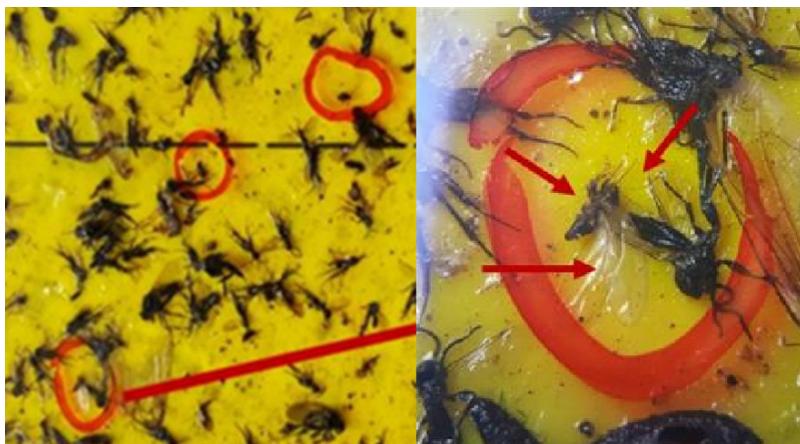
Trampas amarillas

A la siembra, para lotes de hasta una hectárea se recomienda un mínimo de cinco trampas amarillas (amarillo neón) para monitorear la presencia de adultos de los psílidos, cuatro ubicadas en los extremos exteriores y una en el centro de la parcela. Se pueden usar trampas planas pequeñas, cintas largas o cilindros, impregnadas de aceite comestible usado o un producto comercial pegante. Las trampas deben ser revisadas, se recomienda dos a tres veces por semana. Debido al tamaño de los psílidos es necesario utilizar una lupa para verlos con claridad. Tomar en cuenta las características que posee *B. cockerelli* debido a que se observan unas u otras características según como se encuentre el psílido en la trampa, como se muestra en la Figura 10. Al momento de detectar la presencia de psílidos en las trampas se debe iniciar con los controles recomendados en Cuesta et al. (2021).

Si las trampas tienen que ser almacenadas y movilizadas para su evaluación, se recomienda forrarlas con una capa de film plástico adherente (ej. rolopac) y apilarlas sin compactarlas para ser guardadas en cajas o recipientes de plástico firme con tapa. De esta manera los insectos podrán permanecer intactos hasta llegar a su destino. Es importante que cada trampa lleve una etiqueta adhesiva con la información de fecha de colocación, fecha de retirada, lugar (sitio, cantón, provincia/coordenadas geográficas), nombre del agricultor dueño del lote y del técnico responsable.

Figura 10.

Reconocimiento de los psílidos de la papa en trampas amarillas.



Nota. Trampas amarillas con presencia de psílidos (izquierda). Vista en aumento donde destacan la forma del cuerpo, antenas y nervadura de las alas (derecha).

Monitoreo de oviposturas y ninfas en el follaje

Esta actividad permite detectar la presencia de huevos (oviposturas) y ninfas en el follaje y debe realizarse por lo menos una vez por semana desde la emergencia de la planta hasta el aporque. Después del aporque se recomienda realizarlo dos veces por semana. El monitoreo debe realizarse desde el borde hacia el centro del lote. Cada 10 pasos se seleccionará una planta en donde se buscarán oviposturas (huevos), especialmente en los brotes terminales de las plantas revisar minuciosamente ambos lados de las hojas. Para observar las ninfas se deben examinar las hojas del tercio inferior de la planta principalmente. En foto superior de la Figura 11, se observan las oviposturas y en la foto inferior las ninfas. Al detectar la presencia de oviposturas y ninfas en las plantas se debe iniciar el programa de manejo integrado de esta plaga. Además, este muestreo nos permitirá determinar la eficacia de las prácticas de control realizadas para el manejo de la plaga sugerido por Cuesta et al. (2021).

Figura 11.

Oviposturas y ninfas de *B. cockerelli* en hojas de papa.



Nota. (A) Oviposturas. (B) Ninfas del psílido *B. cockerelli* sobre hojas en una planta de papa.

Referencias

- Alfaro-Fernández, A., D. Hernández-Llopis, y M. I. Font. (2017). Haplotypes of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” identified in umbeliferous crops in Spain. *Eur. J. Plant Pathol.* 149, 127–131.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) “Basic local alignment search tool.” *J. Mol. Biol.* 215:403-410. PubMed
- Borrer, D. J. y White, R. E. (1970). A field guide to insects: America north of Mexico (Vol.19). Houghton Mifflin Harcourt. CABI (2021a). *Bactericera cockerelli*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/45643>
- CABI (2021a). *Bactericera cockerelli*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/45643>
- CABI (2021b). *Candidatus Liberibacter solanacearum*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/109>
- Caicedo, J. D., Simbaña, L. L., Calderón, D. A., Lalangui, K. P., & Rivera-Vargas, L. I. (2020). First report of *Candidatus Liberibacter solanacearum* in Ecuador and in South America. *Australasian Plant Disease Notes*, 15(1), 1-3.
- Castillo Carrillo, C., Fu, Z., Burckhardt, D. (2019). First record of the tomato potato psyllid *Bactericera cockerelli* from South America. *Bulletin of Insectology*, 72(1), 85-91.
- Crosslin, J., Lin, H., Munyaneza, J. (2011). Detection of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” in potato psyllids, *Bactericera cockerelli* Sulc, by conventional and real-time PCR. *Southwestern Entomologist*, 36, 125-135.
- Crosslin, J., Swisher, K., Hamlin, L. (2013). A rapid method for preparation of nucleic acid extracts from potato psyllids for detection of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” and molecular analysis. *Southwestern Entomologist*, 38 (1), 41-48.
- Cuesta, X., Peñaherrera, D., Velásquez, J., Racines, M., Castillo, C. (2021). Guía de manejo de la punta morada de la papa. Segunda edición. Manual técnico No. 104. Quito (Ecuador). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 20 p.
- Frost, K., Willis, D., y Groves, R. (2011). Detection and Variability of Aster Yellows Phytoplasma Titer in Its Insect Vector, *Macrostelus quadrilineatus* (Hemiptera: Cicadellidae). *Jornal of Economic Entomology*, 104 (6), 1800-1815.
- Hansen, A. K., J. T. Trumble, J. T., Stouthamer, R. y Paine, T. D. (2008). A new Huanglongbing Species, “*Candidatus Liberibacter psyllauros*,” found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid *Bactericera cockerelli* (Sulc). *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 5862–5865.
- International Plant Protection Convention. (2017). DP 21: “*Candidatus Liberibacter solanacearum*”. Roma, Italia: Food and Agriculture Organization. https://assets.ippc.int/static/media/files/publication/en/2017/04/DP_21_2017_En_2017-03-31.pdf

- Li, W., Abad, J.A., French-Monar, R.D., Rascoe, J., Wen, A., Gudmestad, N.C., Secor, G.A., Lee, I.M., Duan, Y. y Levy, L. (2009). Multiplex real-time PCR for detection, identification and quantification of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in potato plants with zebra chip. *Journal of Microbiological Methods*, 78, 59–65.
- Munyanza, J. E., J. M. Crosslin, y J. E. Upton. (2007). Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "zebra chip", a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *J. Econ. Entomol.* 100, 656–663.
- Munyanza, J.E., Sengoda, V.G., Crosslin, J.M., De la Rosa-Lozano, G. y Sanchez, A. (2009). First report of "*Candidatus Liberibacter psyllaurosus*" in potato tubers with zebra chip disease in Mexico. *Plant Disease*, 93, 552.
- Nelson, W. R., T. W. Fisher, y J. E. Munyanza. (2011). Haplotypes of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" suggest long-standing separation. *Eur. J. Plant Pathol.* 130, 5–12.
- Nelson, W. R., V. G. Sengoda, A. O. Alfaro-Fernandez, M. I. Font, J. M. Crosslin, y J. E. Munyanza. (2013). A new haplotype of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" identified in the Mediterranean region. *Eur. J. Plant Pathol.* 135, 633–639.
- Ouvrard, D. (2021) Psyllist - The World Psylloidea Database. <http://www.hemiptera-databases.com/psyllist> - searched on 1 June 2021 doi:10.5519/0029634
- Ravindran, A., Levy, J., Pierson, E. y Gross, D.C. (2011). Development of primers for improved PCR detection of the potato zebra chip pathogen, "*Candidatus Liberibacter solanacearum*". *Plant Disease*, 95, 1542–1546.
- Satta, E., Ramirez, A. S., Paltrinieri, S., Contaldo, N., Benito, P., Poveda, J. B., y Bertaccini, A. (2016). Simultaneous detection of mixed '*Candidatus Phytoplasma asteris*' and '*Ca. Liberibacter solanacearum*' infection in carrot. *Phytopathologia Mediterranea*, 401–409.
- Šulc K. (1909) - *Trioza cockerelli* n.sp, novinka ze Severní Ameriky, mající i hospodářský význam [*Trioza cockerelli* n.sp., a novelty from North America, being also of economic importance]. *Acta Societatis Entomologicae Bohemiae* 6(4), 102-108 [102].
- Swisher, K., Munyanza, J., Crosslin, J. (2012). High resolution melting analysis of the cytochrome oxidase I gene identifies three haplotypes of the potato psyllid in the United States. *Environmental Entomology*, 41 (4), 1019- 1028.
- Wallis, R. L. (1955). Ecological studies on the potato psyllid as a pest of potatoes. *USDA Technical Bulletin*, 1107, 25.
- Yang Xiang Bing, Liu TX. (2009). Life history and life tables of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) on eggplant and bell pepper. *Environmental Entomology*, 38(6),1661-1667. <http://esa.publisher.ingentaconnect.com/content/esa/envent/2009/00000038/00000006/art00019>
- Yen, A., Burckhardt, D. (2012). Diagnostic protocol for the detection of the tomato potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Šulc). Department of Agriculture, Australian Government, Australia. www.plantbiosecuritydiagnostics.net.au

Links para mayor información

<https://www.oirsa.org/contenido/Manual%20Bactericera%20Cockerelli%20version%201.3.pdf>

<https://www.hemiptera-databases.org/psyllist/?db=psylles&card=searching&lang=en>

<http://www.bulletinofinsectology.org/pdfarticles/vol72-2019-085-091castillo-carrillo.pdf>

<https://www.cabi.org/isc/datasheet/45643>

<https://www.plantbiosecuritydiagnostics.net.au/app/uploads/2018/11/NDP-20-Tomato-potato- psyllid-Bactericera-cockerelli-v1.2.pdf>

<https://academic.oup.com/jipm/article/9/1/13/4970867>

<https://worldwidescience.org/topicpages/p/potato+psyllid+bactericera.html>

<https://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5345>

<https://gd.eppo.int/taxon/PARZCO>





INSTITUTO NACIONAL DE
INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS

ISBN: 978-9942-22-548-1



9 789942 225481



@agroinvestigacionecuador



@iniapecuador



@iniapecuador

Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)

Estación Experimental Santa Catalina.

Panamericana Sur km 1, Distrito Metropolitano de Quito, Cantón Mejía, Provincia de Pichincha.

Casilla: 17-01-340. Teléfono: (593 2) 3076002. E-mail: iniap@iniap.gob.ec



República
del Ecuador



Gobierno
del Encuentro

Juntos
lo logramos