UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE

UNIDAD REGIONAL LOS MOCHIS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

MAESTRÍA EN FITOPATOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE

TESIS

"CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DEL AGENTE CAUSAL DE LA ROÑA COMÚN DE LA PAPA *Solanum tuberosum* L. Y SU BIOCONTROL CON EL HONGO *Trichoderma harzianum in vitro*".

PRESENTA

JESÚS ALVARO MORENO HEREDIA

18021491

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN FITOPATOLOGÍA Y MEDIO AMBIENTE

DIRECTORES:

M.C. GABRIEL HERRERA RODRÍGUEZ

DR. RUBÉN FÉLIX GASTÉLUM

ASESORES:

DR. BARDO HELEODORO SÁNCHEZ SOTO

M.C. CECILIA DE LOS ÁNGELES ROMERO URÍAS

El presente trabajo de investigación titulado "**Caracterización morfológica y molecular del agente causal de la roña común de la papa *Solanum tuberosum* L. y su biocontrol con el hongo *Trichoderma harzianum in vitro***" realizado por el **Lic. Jesús Alvaro Moreno Heredia** con matrícula **18021491**, dirigido por los integrantes del Comité de Tesis abajo indicados, ha sido aprobado por el mismo y aceptado como requisito parcial, para la obtención del grado de Maestro en Ciencias.

COMITÉ DE TESIS:

M.C. Gabriel Herrera Rodríguez
Director de Tesis

Dr. Rubén Félix Gastélum
Director de Tesis

M.C. Cecilia de los Ángeles Romero Urías
Asesora de Tesis

Dr. Bardo Heleodoro Sánchez Soto
Asesor de Tesis

Los Mochis, Sinaloa, A diciembre de 2020

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE OCCIDENTE

CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Los Mochis, Sinaloa, el día _04_ del mes _diciembre_ del año _2020_, quien suscribe _Jesús Alvaro Moreno Heredia__ alumno del Programa Educativo de Maestría en Fitopatología y Medio Ambiente (Registro CONACyT 004128) con número de matrícula _18021491_, de la Unidad Regional Los Mochis manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de _M.C. Gabriel Herrera Rodríguez y Dr. Rubén Félix Gastélum_ y cede los derechos del trabajo titulado "Caracterización morfológica y molecular del agente causal de la roña común de la papa *Solanum tuberosum* L. y su biocontrol con el hongo *Trichoderma harzianum in vitro*", a la Universidad Autónoma de Occidente para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Alvaro Moreno

Jesús Alvaro Moreno Heredia

AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a Dios por la vida, el amor, la familia y amistades, además de los triunfos y tropiezos a lo largo de mi vida, los cuales me han forjado como el ser humano que soy.

A mi madre, que se encuentra en el reino de dios, muchas gracias por brindarme educación, por amarme incondicionalmente y por siempre querer lo mejor para sus hijos. Te extraño enormemente, por ti seguiré creciendo profesionalmente, sigue guiando mis pasos y protégenos. ¡Te amare eternamente!

A mi esposa, por su gran amor, por siempre ser la mejor consejera y amiga y decir siempre ¡Tú puedes! por haberme convertido en padre de un hermoso niño y del próximo (a) integrante de la familia, son el motor que impulsa este barco hacia el éxito. ¡Los amo con todo mí ser!.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento durante mi programa de estudios de la maestría en Fitopatología y Medio Ambiente.

A la Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte, por brindarme su apoyo económico, personal y por recibirme en sus instalaciones, para llevar a cabo esta investigación.

A la Universidad Autónoma de Occidente, Unidad Regional, Los Mochis. Por formarme académicamente dentro del programa de maestría en Fitopatología y Medio Ambiente.

Al M.C. Gabriel Herrera Rodríguez por impulsarme a seguir creciendo profesionalmente, por brindarme su apoyo incondicional y su amistad, por confiar en mis capacidades como profesional y dirigirme en el camino de la investigación.

Al Dr. Rubén Félix Gastélum, por haberme brindado la oportunidad de ser parte de este programa de posgrado, por ser parte de mi formación personal en el aula, así como por la dirección, planeación, ejecución y culminación de este trabajo de investigación.

A mis asesores de tesis: M.C. Cecilia de los Ángeles Romero Urías y Dr. Bardo Heleodoro Sánchez Soto, por sus aportaciones al trabajo de investigación y brindarme siempre su apoyo.

A mis compañeros y amigos de la maestría en Fitopatología y Medio Ambiente: Daniela, Juan Luis, Luis Felipe, Abelard, Edgar y David por las convivencias vividas durante nuestra formación.

A mis amigos y amigas: Odet, Sara, Laura, Aracely, Flor, Karla, Itzel, Juan y Manuel por todo el apoyo brindado y por su amistad.

Al grupo de Jóvenes Construyendo el Futuro: Jesús Ramón, Daniela, Aleika, Celina, Kevin, Juan Pablo, por su apoyo en muestreos de campo y procesamiento de muestras, durante el periodo de este trabajo de investigación.

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS i

INDICE DE FIGURAS ii

RESÚMEN 1

ABSTRACT 2

I. INTRODUCCIÓN 3

II. OBJETIVOS 5

2.1. Objetivos Generales 5

2.2. Objetivos Específicos 5

III. REVISIÓN DE LITERATURA 6

3.1. Origen y distribución de la papa (*Solanum tuberosum* L.). 6

3.2. Generalidades del cultivo de papa 6

3.3. Clasificación taxonómica 7

3.4. Importancia económica del cultivo de papa. 7

3.5. Enfermedades de la papa 8

3.6. Enfermedades de la papa causadas por hongos y oomicetes 8

3.7. Enfermedades de la papa causada por virus 9

3.8. Enfermedades de la papa causada por bacterias 9

3.9. Importancia y distribución de la roña común de la papa 9

3.10. Síntomas de la roña común de la papa 10

3.11. Agente causal de la roña común de la papa 10

3.12. Características generales del género *Streptomyces* 11

3.13. Clasificación taxonómica de *Streptomyces* spp 11

3.14. Ciclo de vida de *Streptomyces* spp 12

3.15. Condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad 13

3.16. Uso de cultivares tolerantes para el manejo de la roña común 13

3.17. Control químico de la roña común 14

3.18. Control cultural de la roña común 14

3.19. Control biológico de la roña común 15

3.20. Aspectos generales de *Trichoderma harzianum* 15

3.21. Características morfológicas de *Trichoderma* 16

3.22. Mecanismos de acción de *Trichoderma* 16

3.22.2. Micoparasitismo 17

3.22.3. Crecimiento quimiotrófico 18

3.22.4. Reconocimiento 18

3.22.5. Adhesión y enrollamiento 18

3.22.6. Actividad lítica 18

3.22.7. Antibiosis 19

IV. ANTECEDENTES 20

V. HIPÓTESIS 23

VI. JUSTIFICACIÓN 24

VII. MATERIALES Y MÉTODOS 25

7.1. Colecta de muestras 25

7.2. Aislamiento, purificación y conservación de aislados 26

7.3. Caracterización fisiológica y bioquímica 26

7.4. Identificación molecular de los aislamientos 26

7.5.2. Patogenicidad en discos de papa 30

7.6. Confrontación dual *in vitro* (prueba de antagonismo en placa) 31

VIII. RESULTADOS 33

8.1. Aislamiento, purificación y conservación de aislados 33

8.2. Caracterización fisiológica y bioquímica 34

8.3. Caracterización molecular 52

8.4. Prueba de patogenicidad en bulbo de rábano 56

8.5. Patogenicidad en discos de papa..... 59

8.6. Confrontación dual *in vitro* (prueba de antagonismo en placa). 62

IX. DISCUSIONES 66

X. CONCLUSIONES..... 71

XI. REFERENCIAS 72

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Sitio, fecha de colecta, cultivar y parte vegetal de papa de los aislados de *Streptomyces* incluidos en este estudio para caracterización morfológica y molecular……33

Cuadro 2. Características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas de 15 aislados de *Streptomyces* spp., asociados a la roña común de la papa en Sinaloa y Sonora y su comparación con otras especies consignadas como agentes causales de la enfermedad. ……..**¡Error! Marcador no definido.**35

Cuadro 3. Comparación de secuencias de los fragmentos generados con los oligonucleótidos Sm6F y Sm5R, con secuencias documentadas en la base de datos de NCBI, correspondientes a una secuencia parcial del gen 16S del ARN ribosómico…….....53

Cuadro 3. Comparación de patogenicidad y virulencia relativa de 15 aislados de *Streptomyces* en bulbos de rábano en invernadero……52

Cuadro 4. Comparación de patogenicidad y virulencia relativa de 15 aislados de *Streptomyces* en bulbos de rábano en invernadero……57

Cuadro 5. Porcentaje de área afectada en cm^2 de 15 aislamientos de *Streptomyces* en discos de papa variedad Fianna.……60

Cuadro 6. Inhibición del hongo *Trichoderma harzianum* sobre especies de *Streptomyces*, agentes causales de la roña común de la papa en Sonora y Sinaloa……63

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de *Streptomyces* spp……..……....12
Figura 2. Síntomas causados por *Streptomyces* spp., en tejidos de papa del cultivar Fianna…….....25
Figura 3. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado AS-10)…….37
Figura 4. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado AS-13)…….38
Figura 5. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado AS-31)…….39
Figura 6. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado AS-45)…….40
Figura 7. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado AS-46)…….41
Figura 8. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado AS-48)…….42
Figura 9. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado AS-49)…….43
Figura 10. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado AS-53)……...44
Figura 11. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado SR-1)……45
Figura 12. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado SR-2)……46

Figura 13. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado SR-3)……47
Figura 14. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado SEST)…….....48
Figura 15. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado STRAT)……49
Figura 16. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado SPROF)…….....50
Figura 17. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislado RET/ACT)……51
Figura 18. Filograma del vecino más cercano, basado en una secuencia parcial del gen 16S del ARN ribosómico……..55
Figura 19. Lesiones; necróticas, corchosas, superficiales y afectación del desarrollo del bulbo de rábano variedad Champion…….58
Figura 20. Lesiones necróticas irregulares típicas de la roña común en rodajas de papa variedad Fianna……..61
Figura 21. Competencia por espacio y nutrientes por parte del antagonista *T. harzianum* en confrontación *in vitro* contra *Streptomyces*…….64
Figura 22. Mecanismo de acción del antagonista *T. harzianum*, *Streptomyces,* en prueba de antagonismo *in vitro*…….…….64
Figura 23. Mecanismo de defensa “inhibición” por parte del aislado bacteriano STRAT, sometido a confrontación dual *in vitro* contra el hongo antagonista *T. harzianum*……...65

RESÚMEN

La roña común de la papa, es una importante enfermedad de la papa causada por un complejo de especies del género *Streptomyces*, cuyo representante más antiguo es *Streptomyces scabies*, distribuido mundialmente. Esta enfermedad se caracteriza por lesiones necróticas, reticuladas, corchosas y profundas en la superficie del tubérculo. La presencia de síntomas de roña reduce la calidad comercial de los tubérculos y sanitaria de la papa. En México, esta enfermedad se ha asociado a *Streptomyces acidiscabies* para el norte de Sinaloa y *Streptomyces scabies* en el Valle del Mayo en Sonora. Su manejo y control se ha basado en el uso de fungicidas y antibióticos. En este estudio, se utilizó caracterización morfológica, molecular y patogenicidad en bulbos de rábano y rodajas de papa para identificar a las especies de *Streptomyces* responsables de causar la roña común de la papa en Sonora y Sinaloa. Adicionalmente, se determinó el biocontrol *in vitro* del hongo *Trichoderma harzianum*, en 15 aislados de *Streptomyces* colectados en 2019 en parcelas comerciales de papa distribuidos en Sinaloa y Sonora. La caracterización morfológica y cultural indicó a 8 aislados como *S. scabies* y 7 aislados como *S. acidiscabies*. Todos los aislados fueron patogénicos en rábano y papa y solo 14 mostraron sensibilidad al hongo *T. harzianum* en la prueba de confrontación dual *in vitro*.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, Roña común de la papa, *Streptomyces*, Biocontrol, *Trichoderma harzianum*.

ABSTRACT

The common potato scab is an important potato disease caused by a complex of species of the genus *Streptomyces*, the oldest representative of which is Streptomyces scabies, distributed worldwide. This disease is characterized by deep, corky, reticulated, necrotic lesions on the surface of the tuber. The presence of scab symptoms reduces the commercial quality of the tubers and the health of the potato. In Mexico, this disease has been associated with *Streptomyces acidiscabies* in northern Sinaloa and *Streptomyces scabies* in Valle del Mayo in Sonora. Its management and control has been based on the use of fungicides and antibiotics. In this study, morphological, molecular and pathogenicity characterization was used in radish bulbs and potato slices to identify the *Streptomyces* species responsible for causing common potato scab in Sonora and Sinaloa. Additionally, the in vitro biocontrol of the *Trichoderma harzianum* fungus was determined in 15 *Streptomyces* isolates collected in 2019 in commercial potato plots distributed in Sinaloa and Sonora. Morphological and cultural characterization indicated 8 isolates as *S. scabies* and 7 isolates as *S. acidiscabies*. All the isolates were pathogenic in radish and potato and only 14 showed sensitivity to the fungus *T. harzianum* in the *in vitro* dual confrontation test.

Keywords: *Solanum tuberosum*, common potato scab, *Streptomyces*, Biocontrol, *Trichoderma harzianum*.

I. INTRODUCCIÓN

El cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) se originó en la cordillera de los Andes, fue introducido en Europa a partir de la conquista de América, es una planta perteneciente a la familia Solanaceae. A nivel mundial ocupa el cuarto lugar en importancia como fuente de alimentación humana, después del maíz, trigo y arroz y el segundo lugar después de la soya (SIAP, 2019). Su cultivo se produce desde el nivel del mar hasta más de 2400 metros sobre el nivel del mar, se cultiva todo el año bajo condiciones de temporal y riego (FAO, 2008; FAO, 2018; Haro 2019). Durante el periodo 2018-2019, México se colocó en el lugar número 31 en la producción mundial de este importante tubérculo, siendo China el principal productor. En México, la producción de papa se distribuye en 23 estados, sin embargo el 24.5% de la producción se concentra en Sonora y en un 17% de la producción para Sinaloa. (SIAP, 2019; Haro, 2019). El municipio de Ahome, Sinaloa se ubica como el principal productor de papa a nivel estado con 174,515 (t), seguido del municipio de Guasave, Sinaloa con 168,147 (t) (SIAP, 2018). La papa es uno de los cultivos más susceptibles a patógenos y enfermedades (Salazar, 1997). Su productividad se ve obstaculizada por numerosas enfermedades causadas por bacterias (Kirk, 2015). La roña común de la papa, causada por un complejo de especies del género *Streptomyces*, es una enfermedad generalizada a nivel mundial, resultando en importantes pérdidas económicas debido a lesiones que afectan superficies de tubérculos, pudiendo llegar a afectar hasta en un 80% de la producción si se presenta antes de la floración (Lambert & Loria, 1989ª). Infecta además a cultivos de rábano (*Raphanus sativus*), remolacha (*Beta vulgaris*) y zanahoria (*Daucus carota*) (Wharton, 2015) (Loria *et al*., 1997). Se han asociado a un complejo de especies del género *Streptomyces*. En este sentido, se han implicado a *Streptomyces scabies* (Lambert & Loria 1989a), *Streptomyces acidiscabies* (Lambert & Loria, 1989b), *Streptomyces turgidiscabies* (Miyajima *et al*., 1998)*, Streptomyces reticuliscabiei, Streptomyces europaeiscabiei y Streptomyces stelliscabiei* (Bouchek *et al*., 2000), entre otras, como agentes causales de la enfermedad en papa. En los años 2011 y 2012, se observaron tubérculos de papa

cv. Fianna con síntomas severos de pudrición y roña en campos agrícolas del Valle del Mayo, Sonora, México. Dicha enfermedad presentó una incidencia en la región que fluctuó entre 30 a 40%, lo que ocasionó pérdidas en la calidad de los tubérculos de papa cosechados durante ambos ciclos de producción. Los síntomas se asociaron a *Streptomyces scabies* (Leyva-Mir *et al*., 2014).

La infección por roña común en lotes comerciales de papa se reportó por primera vez en El Valle del Fuerte, Sinaloa, México, ubicado en al norte del estado de Sinaloa. Se demostró la capacidad patogénica en hospederos reportados para *Streptomyces*, papa, rábano, zanahoria y betabel. Se determinó como agente causal a *Streptomyces acidiscabies*, mediante caracterización morfológica y molecular (Santos-Cervantes *et al*., 2016).

Actualmente existen diferentes herramientas que permiten la identificación y detección de *Streptomyces*. La identificación de estas bacterias sigue siendo difícil, y aún hoy en día su diagnóstico y clasificación principalmente se basa en el estudio de las características morfológicas (macro y microscópicas), en las quimiotaxonómicas, en las bioquímicas y moleculares (Hidrin *et al*., 2001).

El control de la roña común de la papa se ha basado en el uso de fungicidas, bactericidas y antibióticos (Leyva-Mir et al., 2014; Santos-Cervantes et al., 2016)

Especies de *Streptomyces* patógenas emergentes en cultivares de papa hacen de su estudio una prioridad. Por esta razón los objetivos de este estudio fueron caracterizar morfológica y molecularmente a especies de *Streptomyces* asociadas a la roña común de la papa en el Sinaloa y Sonora, determinar la patogenicidad de las especies en bulbos de rábano y rodajas de papa y determinar efectividad biológica de *Trichoderma harzianum*, en el control de *Streptomyces* spp., obtenidas de tubérculos de papa.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Generales

- Determinar la diversidad de especies de *Streptomyces* causantes de la roña común de la papa, mediante caracterización fenotípica, pruebas de patogenicidad y análisis de secuencias.

- Determinar la efectividad biológica de *Trichoderma harzianum*, en el control de *Streptomyces* spp. obtenidas de tubérculos de papa.

2.2. Objetivos Específicos

- Obtener aislados de *Streptomyces* spp. de tubérculos de papa sintomáticos en Sinaloa y Sonora.

- Identificar las especies de *Streptomyces* asociadas a tejidos de tubérculos de papa con síntomas de roña común, mediante la caracterización morfológica, cultural y análisis de secuencias.

- Determinar las especies de *Streptomyces* causantes de la roña común de la papa, mediante pruebas de patogenicidad en bulbos de rábano y rodajas de papa.

- Determinar la efectividad biológica de *Trichoderma harzianum*, en el control de *Streptomyces* spp. obtenidas de tubérculos de papa.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Origen y distribución de la papa (*Solanum tuberosum* L.).

Las papas del grupo Andigena (*andigenum*) (*Solanum tuberosum* L.), constituyen un grupo importante de cultivares nativos de la cordillera andina del Perú, donde se concentran cerca de 4,000 variedades conocidas a nivel mundial. Llegó a Europa en el siglo XVII por dos vías diferentes: una por España en 1570 y en las islas Británicas en los años 1588-1593, expandiéndose por todo el continente Europeo y de ahí a Asia y África. Su desarrollo como cultivo comenzó en el siglo XVIII, a partir de producciones marginales, adquiriendo importancia con los años (Ochoa, 1999; Rodríguez, 2010).

3.2. Generalidades del cultivo de papa

La papa es una planta anual, de tallo erecto, puede medir hasta un metro de altura, sus hojas son compuestas, con siete foliolos de forma lanceolada; las flores tienen forma de estrella, sus pétalos están fusionados; el color de la flor puede ser blanco, rosado o violeta, con el centro amarillo. Su fruto es una baya verde pequeña, que tiene forma semejante a un tomate. La parte que se consume es el tubérculo, es el engrosamiento subterráneo de los tallos, que sirven para almacenar sustancias de reserva. El peridermo cubre a los tubérculos, aparece al romperse la epidermis que va engrosándose con el tiempo, sobre su superficie existen “ojos”, hundimientos para resguardar las yemas vegetativas, que dan origen a tallos dispuestos en forma helicolidal, además presenta orificios que permiten la respiración, llamados lenticelas (Román & Hurtado, 2002; Patil *et al*., 2016).

3.3. Clasificación taxonómica

Existe controversia sobre la conveniencia de clasificar la papa como varias especies, bajo la clasificación propuesta por Linneaus (1753) y adoptada por el Código Internacional de Nomenclatura Botánica (ICBN-International Code of Botanical Nomenclature), o como única especie con diferentes grupos cultivados ubicados dentro de *S. tuberosum*, utilizando la nomenclatura propuesta por el Código Internacional de Nomenclatura de Plantas Cultivadas (Icncp-International Code of Nomenclature of Cultivated Plants) (Spooner & Hetterscheid, 2005).Actualmente, la papa cultivada es conocida colectivamente bajo el nombre de *S. tuberosum* L. Posee un rico pool de genes, constituido por 190 especies silvestres que forman tubérculos. Representa una reserva de germoplasma amplia y única, parcialmente explorada y poco usada en el mejoramiento genético (Estrada, 2000; Spooner & Salas, 2006).

Según el índice global de especies autorizado y más completo actualmente disponible Catalogue of life (2020) la clasificación de la papa es:

Reino: Plantae
Filo: Tracheophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Solanales
Familia: Solanaceae
Género: *Solanum*
Especie: *Solanum tuberosum* L.

3.4. Importancia económica del cultivo de papa.

El cultivo de papa ocupa el cuarto lugar en el mundo después del maíz, trigo y arroz, y el segundo lugar después de la soya, en la producción de proteína (SIAP, 2019; Haro, 2019). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) informa que el año 2018, a nivel mundial se cosecharon 17.6

millones de hectáreas, obteniéndose una producción de 368 millones de toneladas con un rendimiento promedio mundial de 20.9 toneladas por hectárea. China se ubicó como el país con mayor participación mundial, ya que destinó una superficie del 30% del total para el cultivo de la papa, alcanzando una cosecha de 90 millones de toneladas (t), seguido de la India con 48.5 millones (t), Ucrania, Rusia y Estados Unidos con producciones de 22.5 (t), 22.4 (t) y 20.6 millones de toneladas respectivamente, representando el 55.5% del total de la producción mundial. En México, la producción de papa en el año 2019, se estimó en: 1,802,592.00 toneladas con una superficie cosechada de 58,442 hectáreas, presentando un rendimiento promedio de 30.5 toneladas por hectárea y un valor de producción de 13, 987 millones de pesos. En México, la producción de papa se distribuye en 23 estados, se siembran alrededor de 68,000 hectáreas, obteniendo 1.8 millones de toneladas, lo que permite satisfacer las demandas de consumo internos. Sin embargo la mayor producción se concentra en los estados de Sonora y Sinaloa con un 24.5% y un 17% respectivamente. (FAO, 2018; SIAP, 2018; Haro, 2019). Ubicando al municipio de Ahome, Sinaloa en primer lugar con 174,515 (t), seguido de Guasave, Sinaloa con 168,147 (t) y Cajeme, Sonora con 103, 053 (t) (SIAP, 2018).

3.5. Enfermedades de la papa

La papa es uno de los cultivos más susceptibles a patógenos y enfermedades. Estas últimas pueden ser causadas por hongos, nematodos, fitoplasmas, virus y bacterias, nuevos agentes de enfermedades aparecen y la lucha contra ellos, se ha convertido en un esfuerzo continuo (Torres, 2002; Centro Internacional de la Papa, 2015).

3.6. Enfermedades de la papa causadas por hongos y oomicetes

Las enfermedades causadas por hongos que se ha reportado que inducen daños importantes en el cultivo de papa son: tizón tardío (*Phytophthora infestans*) y la pudrición rosada (*Phytophthora eritrhoseptica*), el tizón temprano (*Alternaria*

grandis, *Alternaria protenta*) (García-Gastélum, 2015), sarna pulverulenta (*Spongospora subterránea*) entre otras causantes de grandes pérdidas económicas (Stevenson *et al*., 2001; Torres, 2002; Pérez & Forbes, 2011).

3.7. Enfermedades de la papa causada por virus

Las enfermedades causadas por virus constituyen uno de los principales factores limitantes del cultivo de la papa en todo el mundo, teniendo que los virus más importantes a nivel mundial en orden descendente son; virus del enrollamiento de la hoja (PLRV), virus Y de la papa (PVY), el virus X de la papa (PVX), virus S de la papa (PVS) y virus M de la papa (PVM), causando estos reducciones significativas en el rendimiento (Barrera, 1988; Stevenson *et al*., 2001; Wale, 2008).

3.8. Enfermedades de la papa causada por bacterias

La productividad de la papa se ve obstaculizada por numerosas enfermedades causadas por bacterias (Kirk, 2015). Las enfermedades causadas por bacterias que se han reportado que inducen daños importantes en el cultivo de papa son: marchitez bacteriana o podredumbre parda (*Ralstonia solanacearum*), pudrición blanda o suave (*Pectobacterium carotovorum, Dickeya* spp), pudrición anular (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*). Roña común de la papa, asociada a especies de *Streptomyces* (Stevenson *et al*., 2001).

3.9. Importancia y distribución de la roña común de la papa

La roña común de la papa, causada por *Streptomyces* spp., es una enfermedad que afecta al cultivo de papa y otros cultivos de raíces y tubérculos, incluyendo rábano, zanahoria y remolacha entre otros (Goyer & Beaulieu, 1997; Loria *et al.*, 1997). Sin duda es la enfermedad de mayor importancia económica dentro de las causadas por especies del género *Streptomyces*. Son habitantes naturales del suelo, donde

sobreviven como esporas en restos de cultivo, resistiendo a factores ambientales adversos, estas esporas presentes en el suelo son la principal fuente de inóculo de la enfermedad (Agrios, 2005). El daño aparente en tubérculos reduce la comercialización, el procesamiento de la papa y los tubérculos semilla de papa debido a la naturaleza de la transmisión de los patógenos. La mayoría de las variedades de papa cultivadas son susceptibles a la roña común (Loria *et al*., 1997). La cual se ha reportado en las Américas, India, África y Asia (Wanner, 2006).

3.10. Síntomas de la roña común de la papa

Los síntomas de la roña común de la papa son bastante variables y ocurren en la superficie del tubérculo de la papa. La enfermedad forma varios tipos de lesiones similares a corcho: lesiones superficiales, elevadas y profundas. Los síntomas comunes incluyen lesiones redondeadas a estrelladas, con bordes agrietados o rotos, o una serie de capas irregulares, pero concéntricas similares al súber rodeando una depresión central. A veces, las lesiones superficiales, son simplemente manchas suberosas superficiales que recubren gran parte de la superficie del tubérculo. Las lesiones profundas varían en profundidad, aunque en promedio se extienden 1/8 de pulgada de profundidad, las lesiones pueden permanecer aisladas. Se cree que el tipo de lesiones formadas en un tubérculo está determinado por una combinación de resistencia del huésped, agresividad de la cepa del patógeno, tiempo de infección y condiciones ambientales (*Doering et al*., 1992; Wharton, 2015; Acuña & Araya, 2017).

3.11. Agente causal de la roña común de la papa

La roña común en la papa, es una enfermedad causada por un complejo de especies de bacterias del suelo, del género *Streptomyces* (Wanner, 2009). La patogenicidad en plantas en este género es rara, de más de 900 especies descritas, solo una docena poseen esta característica (Bignell *et al*., 2010). En este sentido se

han implicado a *Streptomyces scabies* (Lambert & Loria, 1989a), *Streptomyces acidiscabies* (Lambert & Loria, 1989b), *Streptomyces turgidiscabies* (Miyajima *et al*., 1998), *Streptomyces reticuliscabiei*, *Streptomyces europaeiscabiei* y *Streptomyces stelliscabiei* (Bouchek-Mechiche *et al*., 2000), entre otras (Doering *et al*., 1992).

3.12. Características generales del género *Streptomyces*

El género *Streptomyces* pertenece a la familia Streptomycetaceae y al orden Actinomicetales, incluye bacterias Gram-positivas, filamentosas, aerobias, saprofitas, habitantes naturales del suelo, de distribución cosmopolita. La mayoría produce esporas en los extremos de hifas aéreas. Forman colonias liquenoides, butirosas, generalmente secas pero también son capaces de producir colonias relativamente suaves e incluso cremosas. Pueden crecer en condiciones ambientales en intervalos de pH de 5.0 a 11.5, y temperaturas de 25 a 35°C, la mayoría son quimio-organotróficos con metabolismo oxidativo y son capaces de utilizar una amplia gama de compuestos orgánicos, utilizando carbono como fuente de energía y para su crecimiento. Al momento se han descrito más de 900 especies del género *Streptomyces*. (Dawn *et al*., 2010). Algunas especies son agentes causantes de importantes enfermedades humanas y animales, patógenos en plantas y el resto están involucradas en la descomposición de la materia orgánica (Goodfellow *et al.*, 1984; Lambert & Loria, 1989; Bouchek-Mechiche *et al*., 2000; Park *et al*., 2003; Quintana *et al*., 2007).

3.13. Clasificación taxonómica de *Streptomyces* spp

Streptomyces es un género muy extenso de actinobacterias. Según Schoch *et al*., 2020 con datos publicados en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica [NCBI], *por sus siglas en inglés*. Ubica taxonómicamente al género *Streptomyces* de la siguiente manera:

Dominio: Bacteria

Filo: Actinobacteria

Orden: Streptomycetales

Familia: Streptomycetaceae

Género: *Streptomyces*

3.14. Ciclo de vida de *Streptomyces* spp

Es un microorganismo no muy común, con crecimiento filamentoso, similar a los hongos filamentosos. Sin embargo, sus filamentos son mucho menores que las hifas de estos hongos. Sobreviven en el suelo y en tejido infectado en forma de esporas. Se propaga a través del agua y el viento. *Streptomyces* infecta tejidos jóvenes (tubérculos en desarrollo) directamente, accede a la planta a través de heridas y aberturas naturales, produce una toxina, una vez dentro del tubérculo crece entre las células de la epidermis generando la formación de múltiples capas corchosas, que se traduce en la aparición de costras de las lesiones (Lehtonen *et al*., 2004; Agrios, 2005).

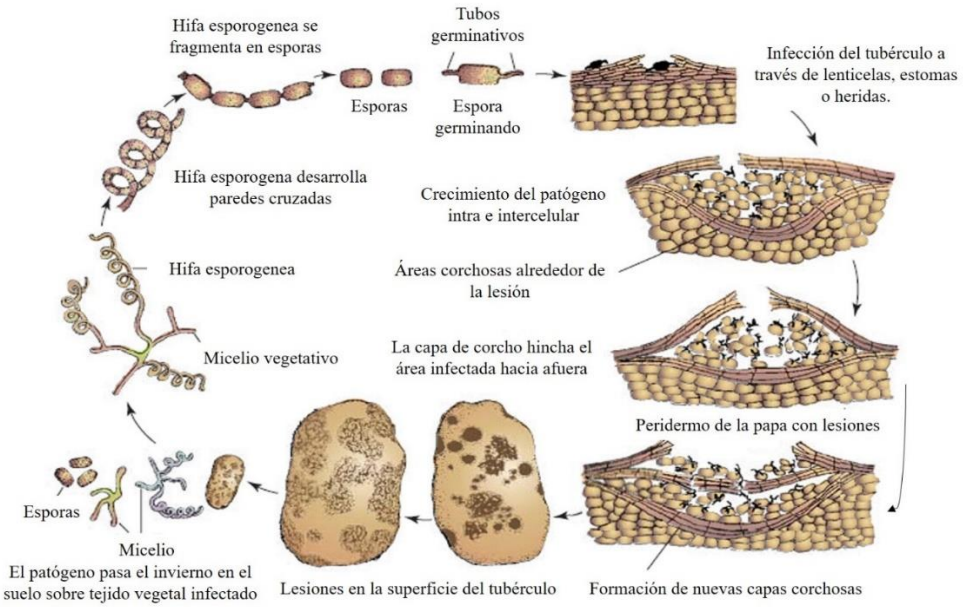

Figura 4. Ciclo de vida de *Streptomyces* spp., (Agrios, 2005).

3.15. Condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad

Las condiciones óptimas para su desarrollo son temperaturas de 20 a 22° C, produciéndose más lentamente a temperaturas de 11, 13 y 30° C. Factores ambientales como la humedad del suelo y el pH juegan un papel fundamental en la variabilidad, incidencia y severidad de la roña común (Wanner, 2009). Dependiendo del patógeno que esté en juego, las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad varían. La roña causada por *S. scabies*, se asocia con estaciones secas y calientes. El mantenimiento de humedad alta en los suelos durante las etapas tempranas del crecimiento del tubérculo, es una estrategia muy usada para prevenir esta enfermedad. La alcalinidad del suelo (pH superior a 7) se ha considerado tradicionalmente a favor de la roña, aunque la "roña ácida" ocurre a un pH 5 o menor y es causada por *S. acidiscabies* (Wanner, 2006). Estas bacterias sobreviven indefinidamente en suelos infestados como saprófito, trasladándose a otro suelo a partir de tubérculos infectados, donde infectan nuevos tubérculos dispersándose por el suelo o guano que tenían adherido. La principal fuente de contaminación es el suelo infestado con el patógeno y el tubérculo semilla enfermo. La infección ocurre por las lenticelas y/o heridas en el periodo de inicio de formación del tubérculo, cuando se está diferenciando el peridermo. Los primeros síntomas se pueden apreciar pocas semanas posteriores a la infección. Tubérculos maduros ya no son susceptibles al ataque, no obstante, las lesiones ya ocasionadas se expanden a medida que la papa crece, aumentando la severidad (Acuña & Araya, 2017). La evolución de las cepas de *Streptomyces* para adaptarse a nuevas condiciones no es sorprendente, considerando la ubicuidad del género junto con la transferencia horizontal de una isla de patogenicidad que poseen (Wanner, 2006).

3.16. Uso de cultivares tolerantes para el manejo de la roña común

En los cultivos varía el nivel de resistencia; hoy en día no existen cultivares inmunes a la infección, pero hay algunos con niveles altos de resistencia. Sin embargo, bajo

condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad, presentan la sintomatología (Wanner, 2009). La penetración del patógeno estimula a los tejidos del tubérculo a formar una barrera dependiendo de la susceptibilidad del tubérculo, esta barrera se limita a unas pocas células por debajo de la superficie. Si esta primera barrera impide que la invasión avance, se forma una sarna superficial. Si por el contrario, la barrera es vencida, se forma una segunda barrera y a menudo una tercera antes que la penetración se detenga provocando de esta forma una lesión más profunda (Cancino, 2003).

3.17. Control químico de la roña común

Para el control químico de esta enfermedad actualmente se utilizan productos que atacan o previenen infecciones o infestaciones fungosas y bacterianas como es el caso de fungicidas y antibióticos. La efectividad de fluazinam, tanto in vitro como bajo condiciones de invernadero y campo, representa una opción para el control químico de esta enfermedad (Santos-Cervantes *et al*., 2016). Tratamientos a la semilla con fluazinam, oxitetraciclina + streptomycina, clorotalonil y mancoceb han mostrado una disminución en el porcentaje de infección de la enfermedad (Leyva-Mir *et al*., 2014).

3.18. Control cultural de la roña común

Haynes *et al*., 2003 recomiendan realizar prácticas culturales como: el uso de tubérculos semilla sanos, procedentes de campos sanos, llevar a cabo rotaciones de cultivo con plantas no hospederas (maíz, trigo, alfalfa). Mantener el pH del suelo entre 5 a 5.2, utilizando fertilizantes que producen acidez como el sulfato de amonio, especialmente para controlar *S. scabies*. Evitar el uso de estiércol de ganado vacuno en suelos infestados; el estiércol mantiene la sobrevivencia del patógeno y favorece su desarrollo. Es importante mantener la humedad del suelo, al nivel de capacidad de campo, desde el inicio de la tuberización hasta 6 semanas después.

3.19. Control biológico de la roña común

El control biológico es una herramienta útil para tratar de erradicar o controlar plagas y/o enfermedades en suelos agrícolas, más cuando los microorganismos que utilizamos pueden darle cierto beneficio al suelo o a las mismas plantas (Baker & Cook, 1974). Se ha investigado si el control biológico de la enfermedad puede servir como un enfoque alternativo. Especies de *Bacillus* han sido utilizadas para el control de la enfermedad, dentro de estas especies *Bacillus amyloliquefaciens*, ha mostrado disminuir la gravedad de la enfermedad ocasionada por *S. scabies* (Lin *et al*., 2018). *Bacillus subtilis*, ha mostrado ser un buen controlador biológico de la roña común tanto in vitro como en invernadero y campo (Castro-Rodríguez, 2011; Ramírez-García, 2011; Mendoza-Siller, 2015). Especies no patogénicas de *Streptomyces* han sido utilizadas para el control de la roña común de la papa, dentro de ellas *Streptomyces rochei*, ha resultado ser un excelente controlador biológico de la enfermedad (Ramírez & Sains, 2017). Se ha reportado especies de hongos como controladores biológicos de la roña común de la papa. *Trichoderma harzianum*, es una especie ampliamente utilizada para el control de especies de *Streptomyces* patógenas (Castro-Rodríguez, 2011; Ramírez-García, 2011; Muhammad & Bukhari, 2014; Ramírez & Sains, 2017).

3.20. Aspectos generales de *Trichoderma harzianum*

T. harzianum, pertenece a la familia Hypocreaceae. Es un hongo filamentoso que habita en suelos donde los nutrientes de fácil asimilación son escasos, y es alta la competencia con otros organismos. *T. harzianum* posee una gama extraordinaria de enzimas hidrolíticas y quitinolíticas que le confieren gran capacidad de interactuar de forma parasítica y simbiótica con microorganismos y plantas. Se ha demostrado que existen varios mecanismos de acción antagónica del hongo *Trichoderma* en el control microbiano de fitopatógenos como la antibiosis, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática),

inducción de resistencia, competencia por espacio y nutrientes (Lecuona, 1996; Fernández-Larrea, 2001; Ezziyyani *et al*., 2004; Lorito, 2006); de ahí que estas cepas se empleen en la agricultura para el control de enfermedades fúngicas, así como bioestimulantes de plantas y biofertilizantes (Kubicek & Harman, 1998; Harman *et al*., 2004).

3.21. Características morfológicas de *Trichoderma*

Rifai (1969), menciona qué, morfológicamente, la mayoría de las colonias de *Trichoderma* en su inicio tienen color blanco, que se tornan a verde oscuro o amarillento, con esporulación densa. El micelio es ralo en su mayoría, y visto al microscopio es fino, los conidióforos son ramificados, parecen un árbol pequeño. Los mismos se presentan como penachos compactados que forman anillos con un sistema de ramas irregular de manera piramidal. Estos terminan en fiálides donde se forman las esporas asexuales o conidios, de gran importancia para la identificación taxonómica a nivel de especies. Los conidios aseguran las generaciones del hongo durante gran parte del período vegetativo de las plantas. Son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucanos (Harman, 2003). Además de los conidióforos, estas se pueden producir sobre fiálides que emergen directamente del micelio.

3.22. Mecanismos de acción de *Trichoderma*

Se han descrito diferentes mecanismos de acción en organismos del género *Trichoderma*, que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos. Entre éstos, se encuentra la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno (Lorenzo, 2001). Otros autores sugieren mecanismos que incluyen además de los mencionados, la secreción de enzimas y la producción de compuestos inhibidores (Haram, *et al*., 1996; Zimand, *et al*., 1996).

Trichoderma también presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora se da de forma indirecta; entre estos se pueden mencionar a) los que elicitan o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (Harman, *et al*, 2004), b) la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos, c) la desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección, y d) la solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son accesibles para las plantas. Tienen la capacidad además, de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés (Harman, 2003).

3.22.1. Competencia

La competencia se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes, luz), ésta se dará siempre y cuando la utilización del requerimiento por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Hjeljord & Tronsomo, 1998; Ahmad & Baker, 1987).

3.22.2. Micoparasitismo

El parasitismo o micoparasitismo se puede definir como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados (Díaz, 1994). Por ser un proceso complejo, se ha separado en cuatro etapas para su estudio, Chet & Benhamou (1998), lo explican detalladamente.

3.22.3. Crecimiento quimiotrófico

El quimiotropismo positivo es el crecimiento directo hacia un estímulo químico (Chet, 1990). En la etapa de localización del hospedante, se ha demostrado que *Trichoderma* puede detectarlo a distancia y sus hifas crecen en dirección al patógeno como respuesta a un estímulo químico.

3.22.4. Reconocimiento

Éste se realiza a través de interacciones lectinas-carbohidratos. Las lectinas son proteínas enlazadas a azúcares o glicoproteínas, las cuales aglutinan células y están involucradas en las interacciones entre los componentes de la superficie de las células y su ambiente extracelular (Chet *et al.*, 1998). La producción de lectinas se ha investigado en *R. solani* y *S. rolfsii* . En todos los casos se encontraron evidencias directas, de que las lectinas están involucradas en el micoparasitismo (Pérez, 2004; Chet & Inbar, 1994).

3.22.5. Adhesión y enrollamiento

Cuando la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos y apresorios, se enrollan alrededor de estas, todo esto está mediado por procesos enzimáticos (Pérez, 2004). Según Elad & Chet (1983), la adherencia de las hifas de *Trichoderma* ocurre gracias a la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno.

3.22.6. Actividad lítica

En la actividad lítica ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes

celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista. En los puntos de contacto donde se produce la lisis y aparecen los orificios, penetra la hifa del micoparásito en las del hongo hospedante (Haram, *et al*, 1996).

3.22.7. Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico (Vero, *et al*, 1999).

Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibidoras son consideradas “antibióticos” (Hjeljord & Tronsomo, 1998).

IV. ANTECEDENTES

Wanner (2004) aislaron 61 estreptomycetos de plantas de papa con roña común, provenientes de lotes comerciales de papa en Estados Unidos. Los tubérculos colectados mostraban una variedad de síntomas desde pequeñas lesiones superficiales discretas que cubrían partes de un tubérculo hasta lesiones grandes, profundas, coalescentes, elevadas o con hoyos que cubrían la mayor parte o la totalidad del tubérculo. Los aislamientos obtenidos variaron en su tasa de crecimiento y hábito en cultivo sólido y líquido, color y morfología de colonias, color de esporas y producción de pigmentos difusibles. Se evaluó la patogenicidad y virulencia de los aislados en rábano, donde las lesiones de la roña común variaron en apariencia y severidad. Los síntomas de la enfermedad también incluyeron retraso del crecimiento, marchitamiento, necrosis y muerte. Determino además la presencia de los genes de patogenicidad *nec 1*y *txtA*.

Leiminger et al. (2013) tomaron muestras de papa cultivadas en campo, que mostraban infecciones por roña común de la papa en Alemania. Obtuvieron 293 aislados y se analizaron en cuanto a morfología, patogenicidad y tipo de cepa. Los aislamientos variaron en el color del micelio, la esporulación y la pigmentación. Caracterizaron molecularmente los aislados utilizando cebadores específicos de ARNr 16S y PCR-RFLP del espaciador transcrito interno 16S-23S (ITS) con Hpy99I. Los datos de este estudio muestran que la diversidad entre las especies que causan roña común en Alemania es mucho mayor de lo esperado. Determinaron que el agente causal de la enfermedad se asocia a cinco especies de *Streptomyces* patógenas; *S. europaeiscabiei*, *S. stelliscabiei*, *S. acidiscabiei* y *S. bottropensis.* Siendo este el primer informe de cepas patógenas causantes de la roña común de la papa en Alemania.

Leyva-Mir et al. (2014) observaron y recolectaron tubérculos de papa cv. Fianna con síntomas severos de pudrición y sarna en campos agrícolas del Valle del Mayo, Sonora, México, de donde aislaron y purificaron una cepa de *Streptomyces* spp., La

detección e identificación del fitopatógeno se basó en análisis morfológicos, fisiológicos, patogénicos y moleculares mediante el uso de los partidores los partidores 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'), los cuales amplifican un fragmento del gen ribosomal 16S de 1484 pb; y los partidores específicos para especies patogénicas de *Streptomyces*, Nf (5'-ATGAGCGCGAACGGAAGCCCCGGA-3') y Nr (5'-GCAGGTCGTCACGAAGGATCG-3') que amplifican el gen *nec I* con un producto esperado de aproximadamente 700 pb. Además, evaluaron la efectividad de fluazinam, hidróxido de cobre, mancozeb, clorotalonil, estreptomicina + oxitetraciclina y bacterias antagónicas, como tratamientos a la semilla infectada con la finalidad de disminuir la severidad de la enfermedad. Los resultados de la combinación de análisis morfológicos, fisiológicos, moleculares y pruebas de patogenicidad, determinaron a *Streptomyces scabies* como el responsable de inducir los síntomas de sarna y pudrición en tubérculos de papa. Los tratamientos a la semilla que presentaron el menor porcentaje de infección fueron fluazinam, oxitetraciclina + estreptomicina, clorotalonil y mancozeb.

Santos-Cervantes et al. (2016) investigaron la patogenicidad de diez aislamientos bacterianos en papa, rábano, zanahoria y betabel, probaron la sensibilidad y eficacia del control del patógeno de fungicidas como: mancozeb, fluazinam y benzothiazole, a nivel *in vitro*, invernadero y campo. Identificaron a los aislamientos mediante métodos morfológicos, bioquímicos y moleculares. Los aislamientos antes mencionados se obtuvieron en distintos lotes donde se cultiva papa en el Valle del Fuerte, Sinaloa, México. Los resultados obtenidos indicaron que todos los aislamientos bacterianos fueron patogénicos en rábano, zanahoria y betabel, y fueron altamente virulentos en papa. Todos los aislamientos fueron similares en sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas, las secuencias del gen 16S Rrna obtenidas por PCR fueron idénticas para todos los aislamientos, en conjunto estos resultados indicaron que los aislamientos pertenecen a *S. acidiscabies*. La efectividad de fluazinam, tanto in vitro como bajo condiciones de invernadero y

campo, representa una posible opción para el control químico de la enfermedad. Siendo la aspersión en la siembra la más efectiva en el control de la roña común.

En un estudio realizado en Uruguay en 2017 por Lapaz y colaboradores, aislaron y caracterizaron al agente causal de la roña común de la papa en tubérculos y suelos uruguayos, en respuesta a pérdidas económicas significativas debido a roña común en papa en otoño de 2010. Obtuvieron un total de 331 aislados, los cuales fueron sometidos a caracterización fisiológica y bioquímica de acuerdo al proyecto internacional para *Streptomyces*, para determinar color, forma, tipo de espora y producción de pigmento de las colonias bacterianas. A su vez determinaron la patogenicidad en rodajas de papa y semillas de rábano. Para la caracterización molecular de los aislados emplearon los marcadores genéticos de patogenicidad TxtAB1/TxtAB2, TxtA1/TxtA2 para *taxA* y *txtB*; Tom3/Tom4 para el gen *tomA* y Nf/Nr para el gen *nec1*. Genotipificaron los aislamientos usando rep-PCR, mediante la técnica de huella genética rep-PCR(BOX y ERIC-PCR), usando primers BOXA 1R y ERIC2/ERIC1R respectivamente. Resultados obtenidos indican solo 70 aislamientos como patógenos de los 331 obtenidos, debido a su capacidad para inducir necrosis en discos de tubérculos y retraso en el crecimiento de plántulas de rábano. Se encontró que el agente causal de la roña común en la papa, representan una gama de diferentes especies en virtud de sus diversos rasgos morfológicos y fisiológicos, así como rep-PCR, análisis filogenético rpoB y análisis de secuencias de múltiples locus. Identificando principalmente a *S. scabiei*, *S. acidiscabies* y *S. europaeiscabiei*. Se analizó la presencia de genes de la isla de patogenicidad de Streptomyces (PAI), incluidos los genes que codifican la taxtomina sintetasa (txtA, txtB), la tomatinasa (tomA) y una proteína de necrosis (nec1). Entre los aislados que eran patógenos, el 50% contenía los cuatro genes de patogenicidad, el 33% tenía una composición atípica de genes marcadores PAI y el 17% no contenía ningún gen. La ausencia de los genes de los que se informó que participan en la biosíntesis de taxtomina (txtA, txtB) se confirmó mediante la secuenciación del genoma completo de dos cepas representativas de este grupo. Este hallazgo sugiere la participación de otros factores de virulencia en la patogenicidad de las plantas.

V. HIPÓTESIS

Diferentes especies de *Streptomyces* spp., se encuentran asociadas a la roña común de la papa. Estas especies son sensibles a especies del hongo *Trichoderma harzianum* y representa una alternativa de biocontrol de la roña común de la papa.

VI. JUSTIFICACIÓN

La roña común es una seria enfermedad que afecta el cultivo de papa y otros cultivos de raíces y tubérculos. Esta enfermedad reduce la comercialización, el procesamiento y los tubérculos semilla de papa debido a los síntomas externos y la naturaleza de transmisión de los patógenos. Es considerada una de las principales enfermedades que afectan al cultivo de papa en el mundo. En un estudio realizado en la región se determinó a *Streptomyces acidiscabies* como el agente causal de la roña común y su control con el uso de diferentes productos químicos. En los últimos ciclos agrícolas se ha observado un incremento en el daño ocasionado por la roña común en Sinaloa y Sonora. Actualmente se desconoce si están involucradas nuevas especies de *Streptomyces*, por tal motivo este trabajo de investigación permitirá determinar las especies de *Streptomyces* mediante pruebas fisiológicas, bioquímicas y moleculares y elucidar si estos están asociados a especies patógenas ya conocidas o desconocidas. Por otra parte, el manejo de la enfermedad se basa en el uso de químicos, afectando al medio ambiente, por ello la presente investigación generará información sobre el manejo biológico de la enfermedad mediante el uso del hongo antagonista *Trichoderma harzianum*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Colecta de muestras

Durante muestreos realizados en el periodo 2018 a 2019 se recolectaron tubérculos de papa con síntomas típicos de roña común (Figura 2) en 8 lotes comerciales de papa de los principales municipios productores de Sinaloa (Ahome, El Fuerte y Guasave) las variedades correspondieron a cultivares de papa Fianna, Atlantic y FL-1867). Mientras que los tubérculos colectados en 7 lotes comerciales del estado de Sonora correspondieron a la variedad Fianna.

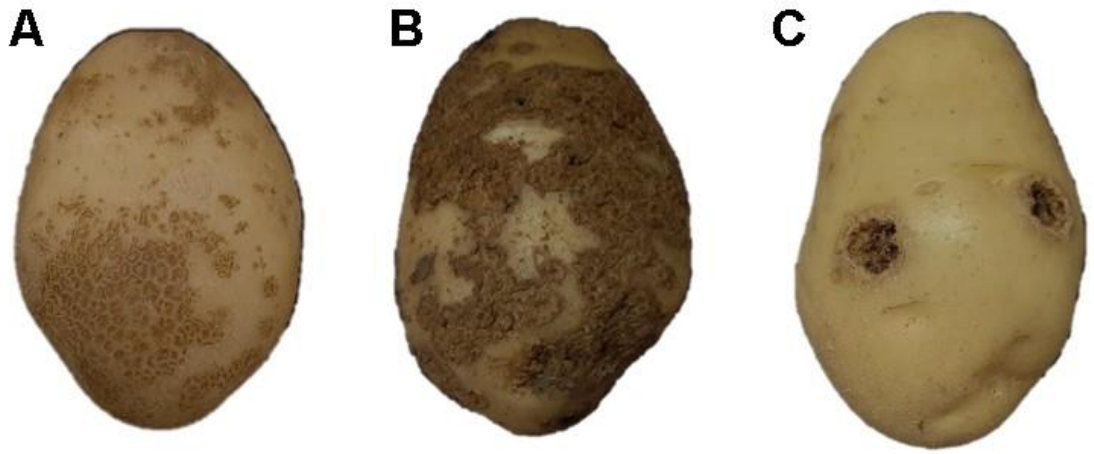

Figura 5. Síntomas causados por *Streptomyces* spp., en tejidos de papa del cultivar Fianna. (A) Tubérculo con lesiones marrones reticuladas. (B) Tubérculo con lesiones corchosas, asociadas a los aislados de *S. acidiscabies* (C) Tubérculo mostrando lesiones profundas, asociados a *S.scabies*.

7.2. Aislamiento, purificación y conservación de aislados

Los aislados de *Streptomyces* spp., se obtuvieron como lo describe Loria *et al*., 2010. Los tubérculos sintomáticos se lavaron para eliminar la tierra adherida y se secaron a temperatura ambiente, brevemente se obtuvieron aislamientos sembrando directamente mediante raspado de micelio o esporulación de la bacteria con bisturí, en cajas de petri conteniendo 20ml de medio de cultivo semiselectivo Nistatina, Polimixina sulfato B, Penicilina, Ciclohexamida NPPC (Williams & Davies, 1965), se incubaron durante 15 días a 28°C. Los cultivos se preservaron por el método de liofilización para su posterior uso.

7.3. Caracterización fisiológica y bioquímica

La forma, el color de las colonias, el tipo de las cadenas de esporas y el color inverso del micelio se determinó en los medios de cultivo del Proyecto Internacional de *Streptomyces* (ISP, *por su abreviatura en inglés*) ISP 2, 3, 4 y 5, mientras que la producción de pigmento se resolvió en el medio ISP 6, la utilización de compuestos de carbono y el pH mínimo que permitió el crecimiento se determinó como lo describió previamente (Lambert & Loria 1989b). Los aislamientos se incubaron durante 15 días a 28° C (Shirling & Gottlieb, 1996).

7.4. Identificación molecular de los aislamientos

7.4.1. Extracción de ADN genómico mediante el método CTAB al 2%

El ADN genómico de las 15 cepas anteriormente descritas, se extrajo usando una versión modificada del protocolo descrito por (Chen & Kuo, 1993). Para su obtención, colonias individuales cultivadas en medio Czapek se transfirieron a 5 ml de caldo CRM, las cepas se incubaron agitando a 150 rpm y 28°C durante 48 h. La

esporulación resultante del crecimiento bacteriano, se obtuvo utilizando filtros de papel estériles.

Para llevar a cabo el proceso, se colocó la esporulación de las distintas cepas en un mortero estéril y se trituró la muestra usando nitrógeno líquido hasta obtener una consistencia de polvo. Se depositó el polvo en un tubo de 2.0 ml con 1,500 µL de solución de lisis celular CTAB (2%), se agregaron 2 µl de proteinasa K a una concentración de 20 µg/µl y homogenizó por inversión del tubo. Los tubos fueron incubados a 60 °C por 30 min. Una vez concluido el periodo de incubación, se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregaron 500 µL de cloroformo y se agitó vigorosamente; se centrifugo a 13,000 r.p.m y se transfirió el sobrenadante (aproximadamente 1,000 µL) a un tubo limpio, en el que se agregaron 4 µl de RNAsa a una concentración de 30 µg/µl y se incubó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Luego, se agregó medio volumen (500 µL) de etanol absoluto y se agitó vigorosamente; se centrifugó a 13,000 r.p.m por 3 min y se desechó el sobrenadante. En cada tubo, se agregaron 300 µL de etanol al 70%, se agitó vigorosamente, se centrifugó a 13,000 rpm por 3 min y se descartó el sobrenadante para eliminar las sales contenidas en la muestra, cuidando de no perder el precipitado, mismo que se secó a temperatura ambiente. Las pastillas o precipitado obtenidos, se eluyeron en 50 µl de agua libre de nucleasas y se almacenaron a –20 °C para usos posteriores.

La integridad del ADN extraído, se verificó por electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando el fotodocumentador Gel Doc™ xR+ con el programa Image Lab (BiO-RAD). La calidad y concentración se verificó mediante espectrofotometría usando el equipo NanoDrop One (Thermo Scientific).

7.4.2. Amplificación y secuenciación parcial del gen 16S del ARN ribosómico

Para confirmar que los aislados obtenidos pertenecían a especies del género *Streptomyces* se prepararon reacciones con el fin de amplificar un fragmento del gen 16S del ARN ribosómico, de acuerdo con los parámetros de ciclado e

iniciadores especificados por (Monciardini *et al*., 2002). Para lo anterior, se utilizó el par de cebadores específicos Sm6F (5´-GGTGGCGAAGGCGGA-3´) y Sm5R (5´-GAACTGAGACCGGCTTTTTGA-3´), para obtener un fragmento de 620 pb de dicho gen.

La mezcla de reacción consistió en un volumen final de 25µl de 5 µl buffer Gotaq 10x, 0.5 µl dNTPs (µM), 1.25 µl de cada oligonucleótido (Sm6F y Sm5R), 0.25 µl de Taq polimerasa, 14.25 µl de agua ultrapura, 1.5 µl de Cloruro de Magnesio y 1 µl de DNA. La amplificación fue llevada a cabo en el equipo C1000™ Thermal Cycler, donde las condiciones para la amplificación por PCR fueron las siguientes: desnaturalización inicial de 95°C durante 5 min; seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 94°C por un min; alineamiento a 65°C por 45 segundos, y extensión a 72 °C durante 1 min y 10 min de extensión final a 72°C.

Los productos de PCR obtenidos se corrieron en un gel de agarosa al 2% en Tris-acetato-EDTA 1X (TAE). El volumen utilizado para la electroforesis fue de 4 µl de Buffer de carga naranja G (contenido el colorante de ácidos nucleicos Gel red) y 5 µl de producto de reacción. Para determinar el tamaño de los fragmentos se utilizó el marcador de peso molecular 100 bp DNA Ladder, Lot # 00730301 (Invitrogen), y se expuso el gel a 90 Volts durante 60 minutos. Los fragmentos fueron observados por exposición a luz ultravioleta en el fotodocumentador Gel Doc XR+ y el tamaño de los mismos se estimó con el programa Image Lab (Analysis Software).

Los productos de PCR de cada reacción fueron enviados para su secuenciación al laboratorio de servicios de secuenciación Lanbama del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. (IPICYT).

Una vez obtenidas las secuencias, estas se compararon utilizando el algoritmo BLAST del NCBI (por sus siglas en Inglés National Center for Biotechnology Information). Finalmente, se alinearon utilizando el programa Mega 7.0.26 con las secuencias que mostraron mayor porcentaje de similitud (ver cuadro 5), además de una secuencia del mismo gen de la bacteria *Escherichia coli*, que fue obtenida del GenBank, para ser usadas como control. Una vez obtenido el alineamiento de las

secuencias, se obtuvo un filograma de vecino más cercano utilizando el mismo programa bioinformático (Figura 18).

7.5. Pruebas de patogenicidad

7.5.1. Pruebas de patogenicidad en bulbos de rábano.

Se preparó inóculo de 15 aislados de *Streptomyces* de acuerdo a la metodología previamente descrita por Wanner (2007). El inóculo de cada aislado de *Streptomyces* se preparó en 100 ml de caldo YEME, la cual se esterilizó a 121°C por 15 min. El caldo YEME previamente enfriado se inoculó con un disco de la siembra de *Streptomyces* (5 días de crecimiento); el cultivo se incubó durante tres días a 28°C en agitación constante a 140 rpm. Enseguida, se tomaron 100 ml y se mezclaron con 100 ml de solución Say´s más 100 ml de agua destilada estéril. Cada aislado se mezcló en una bolsa de alta densidad, la cual contenía 2 litros de vermiculita previamente esterilizada; la mezcla se incubó a 28°C por 15 días. El contenido de cada bolsa se mezcló con 18 litros de suelo de textura franco arenoso (arcilla, limo y arena, 28.1, 27.0 y 44.9%, respectivamente), hasta alcanzar una densidad de $2.5X10^8$ – $5.3X10^8$ UFC/ml de suelo; el sustrato infestado se depositó en macetas de 8 litros. En cada maceta con suelo infestado se sembraron 6 semillas de rábano pre germinadas a 5 cm de profundidad. Las plantas se regaban conforme lo requerían y la cosecha de los bulbos de rábano se realizó a los 40 días después de la siembra. Los tratamientos se distribuyeron en un arreglo de bloques al azar completos con 6 repeticiones.

Cada patógeno se re-aisló a partir del tejido infectado de los bulbos de rábano inoculados. Las características de las colonias y estructuras morfológicas de las cepas bacterianas re-aisladas coincidieron con las de las cepas obtenidas de tubérculos en campos de papa, cumpliendo con los postulados de Koch.

7.5.1.1. Evaluación de daño en bulbos de rábano.

Para determinar el porcentaje de infección se utilizó la escala elaborada por James (1971), en donde: 0 = bulbos sin daño; 1 = 1% de la superficie con daño; 2 = 5% de la superficie con daño: 3 = 10% de la superficie con daño; 4 = 25% de la superficie con daño; 5 = Más del 50% de la superficie del bulbo con daño. Los datos se sustituyeron en la fórmula de Townsend & Heuberger (1943), considerando el grado de infección por roña en bulbos de rábano.

El porcentaje de infección causado por los patógenos se calculó de la siguiente manera:

$$\% \text{ de infección} = \frac{\sum ni\ vi}{NV} \times 100$$

Donde ni, es el número de lesiones en cada categoría, vi, es el valor numérico de cada categoría, N, es el número de bulbos en la muestra y V es el valor de la categoría más alta.

Los porcentajes de infección en lesiones, expresado por la presencia de *Streptomyces* spp. (PDS), se obtuvieron mediante la sustitución de datos en la fórmula arriba descrita, se transformaron a la forma $\text{Arc sen}^{-1} \sqrt{X + 0.005}$ para finalmente someterlos a análisis de varianza y comparaciones de medias utilizando la prueba de Tukey (P=0.05) (Little & Hills 1973).

7.5.2. Patogenicidad en discos de papa

Se desinfectaron tubérculos de papa variedad Fianna sanos con una solución de hipoclorito de sodio al 1% y se enjuagaron con agua destilada estéril. Bajo cámara de flujo laminar se cortaron de forma aséptica, en cuadrados de 5x5 cm, de aproximadamente un centímetro de espesor y se colocaron en placas de Petri con

papel de filtro humedecido con agua destilada estéril. Los discos de papa se inocularon con 7 µl de suspensión de esporas de cada aislamiento a una concentración de $1x10^6$ esporas mL^{-1}, en su superficie, en tres repeticiones. Luego se incubaron a 28°C por tres días en la oscuridad. El mismo procedimiento se realizó con el testigo negativo, inoculando los discos de papa con agua estéril (Faucher *et al*., 1995; Park *et al*., 2003), el experimento completo se realizó dos veces. El porcentaje de área dañada se evaluó empleando una cuadricula con escala de .5 x.5 cm, contando todos los puntos que quedaban dentro de la zona necrótica en la rodaja de papa, brevemente el resultado se dividió entre 4 para convertirlos a cm^2, según lo descrito por Zadoks & Shein, 1979. Porciones de rodaja de papa con daño, se sembraron en medio de cultivo agar agua, obteniendo los mismos microorganismos usados inicialmente para esta prueba, con ello se cumple con lo establecido en los postulados de Koch.

7.6. Confrontación dual *in vitro* (prueba de antagonismo en placa)

Los aislamientos de *Streptomyces* spp., agentes causales de la roña común de la papa en Sonora y Sinaloa, se retaron contra *T. harzianum*, para observar si este hongo presentan antagonismo contra el agente causal de la roña común de la papa, de acuerdo a lo descrito por (Castro-Rodríguez, 2011). En breve, los aislados de *Streptomyces* se pusieron a crecer en medio Czapek, por cinco días, debido a que esta tarda un poco más de tiempo en desarrollarse que el antagonista. Una semana después se puso a crecer el hongo en medio PDA. Una vez que todas las cepas estuvieron totalmente expandidas en el medio de cultivo se procedió a realizar la prueba de confrontación dual. Esta prueba se realizó siguiendo la técnica de cultivo dual de Dennis & Webster (1971), en placas Petri de 9 cm de radio, conteniendo Agar Agua, se colocó en el extremo de la placa Petri un disco de agar de 5 mm de diámetro con micelio de las cepas en estudio y en el extremo opuesto otro disco de agar (*Trichoderma harzianum*), posteriormente los cultivos se incubaron a 28 ºC, durante 10 días, midiendo a las 96 h el crecimiento radial del micelio de la colonia de los hongos en estudio. El control negativo fue *Streptomyces* spp, sin antagonista.

Los tratamientos se distribuyeron en un arreglo completamente al azar con tres repeticiones. El experimento completo se realizó en dos ocasiones. La inhibición del desarrollo del patógeno en cultivo dual se evaluó mediante el porcentaje de colonización de *Trichoderma harzianum* según Camporota (1985) [C= DT X 100/ DE] (Donde C es el antagonismo de *T.harzianum*, DT es la distancia recorrida por la colonia de *T.harzianum* sobre el eje que separa a ambas siembras y DE es la distancia entre ambos puntos de siembra). Se realizó una prueba de análisis de varianza (ANOVA) y comparación de medias (Tukey con un nivel de confianza de 95% (Tukey, $P \leq 0.05$), para agrupar los porcentajes de inhibición obtenidos.

VIII. RESULTADOS

8.1. Aislamiento, purificación y conservación de aislados

Se obtuvieron un total de 15 aislados de Streptomyces, causantes de la roña común de la papa en Sinaloa y Sonora, 8 aislados correspondientes a los municipios de Ahome, El Fuerte y Guasave para el caso de Sinaloa y 7 aislados provenientes del municipio de Huatabampo, Sonora, México, de distintos cultivares de papa (Cuadro 1).

Cuadro 1. Sitio, fecha de colecta, cultivar y parte vegetal de papa de los aislados de *Streptomyces* incluidos en este estudio para caracterización morfológica y molecular.

Código del aislado	Localidad	Fecha de colecta	Cultivar	Tejido infectado
AS-10	Guasave, Sinaloa, México	Febrero,2019	Atlantic	Tubérculo
AS-13	Ahome, Sinaloa, México	Febrero,2019	FL-1867	Tubérculo
AS-31	El Fuerte, Sinaloa, México	Febrero,2019	Fianna	Tubérculo
AS-45	Guasave, Sinaloa, México	Febrero,2019	FL-1867	Tubérculo
AS-46	El Fuerte, Sinaloa, México	Marzo, 2019	FL-1867	Tubérculo
AS-48	Ahome, Sinaloa, México	Marzo, 2019	Atlantic	Tubérculo
AS-49	Guasave, Sinaloa, México	Abril, 2019	FL-1867	Tubérculo
AS-53	El Fuerte, Sinaloa, México	Abril, 2019	FL-1867	Tubérculo
SR1	Huatabampo, Sonora, México	Julio, 2019	Fianna	Tubérculo
SR2	Huatabampo, Sonora, México	Julio, 2019	Fianna	Tubérculo
SR3	Huatabampo, Sonora, México	Julio, 2019	Fianna	Tubérculo
SEST	Huatabampo, Sonora, México	Julio, 2019	Fianna	Tubérculo
STRAT	Huatabampo, Sonora, México	Julio, 2019	Fianna	Tubérculo
SPROF	Huatabampo, Sonora, México	Julio, 2019	Fianna	Tubérculo
RET/ACT	Huatabampo, Sonora, México	Julio, 2019	Fianna	Tubérculo

8.2. Caracterización fisiológica y bioquímica

Los aislados de *Streptomyces* fueron obtenidos de tubérculos de papa con síntomas de roña común provenientes de campos donde se cultiva papa en tres municipios del estado de Sinaloa (Ahome, El Fuerte y Guasave) y de un municipio del estado de Sonora (Huatabampo). Ocho aislados independientemente del lugar de origen mostraron pequeñas colonias de apariencia blanquecina a los 7 días de desarrollo, en medio de cultivo semiselectivo NPPC las cuales transcurridos 15 días, se tornaron blancas con producción de micelio grisáceo de aspecto pulverulento, en microscopia de luz a 400 aumentos se observaron cadenas de esporas a modo de espiral de coloración gris, dichos aislados fueron casi idénticos en sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas observadas en los medios del Proyecto Internacional de Streptomyces, donde mostraron un color de la masa de esporas color gris en los medios de cultivo YME, Agar avena, ISSA y Agar glicerol asparagina, un color del micelio subterráneo café en medio de cultivo YME y color de micelio subterráneo gris en los medios ISSA y Agar glicerol asparagina, utilizaron todas las fuentes de carbono y crecieron a un pH mínimo de 5.0. El resto de los aislamientos mostraron pequeñas colonias de apariencia blanquecina a los 7 días de desarrollo en medio de cultivo NPPC, a los 15 días de la siembra mostraban un aspecto pulverulento de color blanco, en microscopia de luz a 400 aumentos se observaron cadenas de esporas flexuosas de color blanco. Los aislados fueron muy similares en sus caracteres morfológicos, fisiológicos y bioquímicos en medios del proyecto internacional de *Streptomyces*. Las colonias bacterianas se observaron de color blanco en medio YME, Agar Avena, ISSA y Agar glicerol asparagina, se observaron esporas flexuosas de coloración blanca bajo el microscopio de luz. El color del micelio subterráneo en los diferentes medios fue café, utilizaron todas las fuentes de carbono, excepto rafinosa y se desarrollaron a un pH mínimo de 4.0. (Cuadro 2; Figuras 3-17).

Cuadro 2. Características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas de 15 aislados de *Streptomyces* spp., asociados a la roña común de la papa en Sinaloa y Sonora y su comparación con otras especies consignadas como agentes causales de la enfermedad.

Características	***S. scabies* (Lambert, 1987a)**	***S. acidiscabies* (Lambert, 1987b)**	**(AS-10, AS-13, AS-46, RET/ACT)**	**(AS-31, AS-45, AS-53, SR-3, STRAT)**	**(AS-49)**	**(AS-48, SR-2, SPROF)**	**(SR-1, SEST)**
Color/ masa de esporas							
ISP 2	Gris	Blanco	Blanco	Gris	Gris	Blanco/Beige	Gris
ISP 4	Gris	Blanco	Blanco	Gris	Gris	Blanco/Beige	Gris
ISP 5	Gris	Blanco	Blanco	Gris	Gris	Blanco/Beige	Gris
Color/ micelio subterráneo							
ISP 2	Café	Café	Café	Café	Café	Café/Crema	Café/Crema
ISP 4	Gris	Café	Café	Café	Café	Café/Crema	Café/Crema
ISP 5	Gris	Café	Café	Café	Café	Café/Crema	Café/Crema
Pigmento sobre ISP 6	+	-	-	-	+	-	-
Tipo de cadena	Espiral	flexuosa	Flexuosa	Espiral	Espiral	Flexuosa	Espiral
Ornamentación de la espora	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa	Lisa
Utilización de:							
Arabinosa	+	+	+	+	+	+	+
Fructosa	+	+	+	+	+	+	+

Glucosa	+	+	+	+	+	+	+
Manitol	+	+	+	+	+	+	+
Rafinosa	+	-	-	+	+	-	+
Ramnosa	+	+	+	+	+	+	+
Sacarosa	+	+	+	+	+	+	+
Xilosa	+	+	+	+	+	+	+
Inositol	+	+	+	+	+	+	+
pH mínimo	5.0	4.0	4.0	5.0	5.0	5.0	5.0

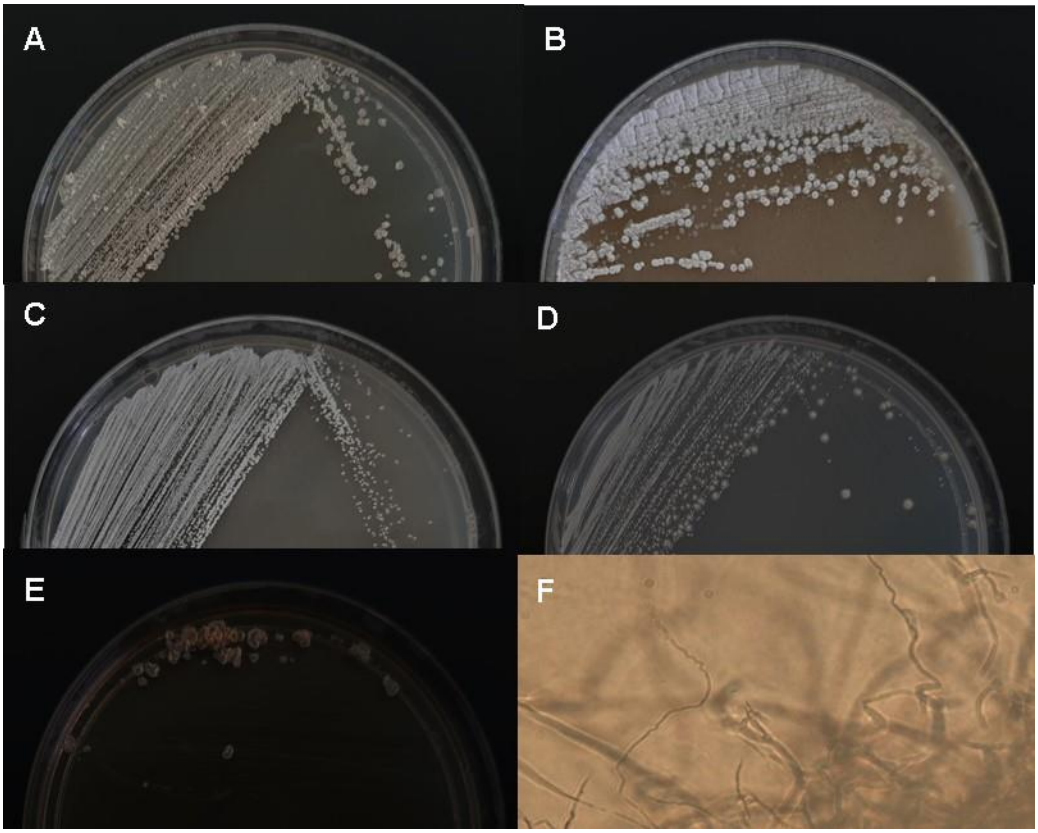

Figura 6. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento AS-10). A) Agar Extracto de levadura-malta (YEME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “varillas” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

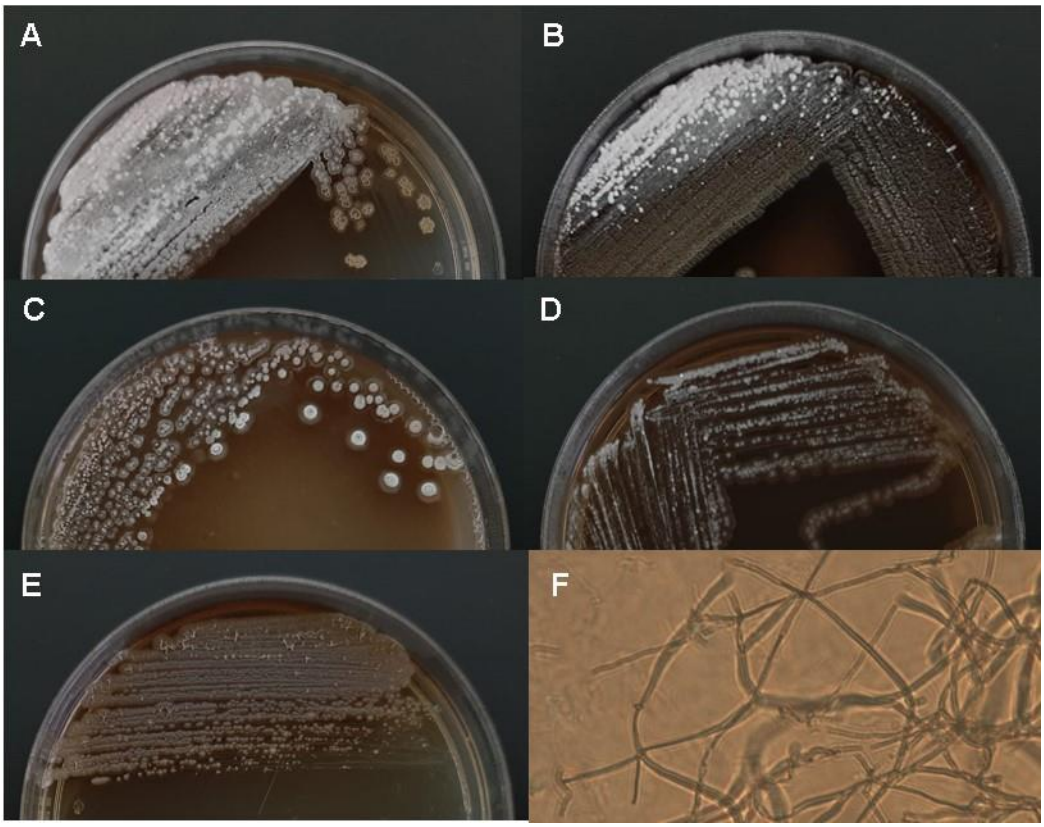

Figura 4. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento AS-13). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “flexuosa” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

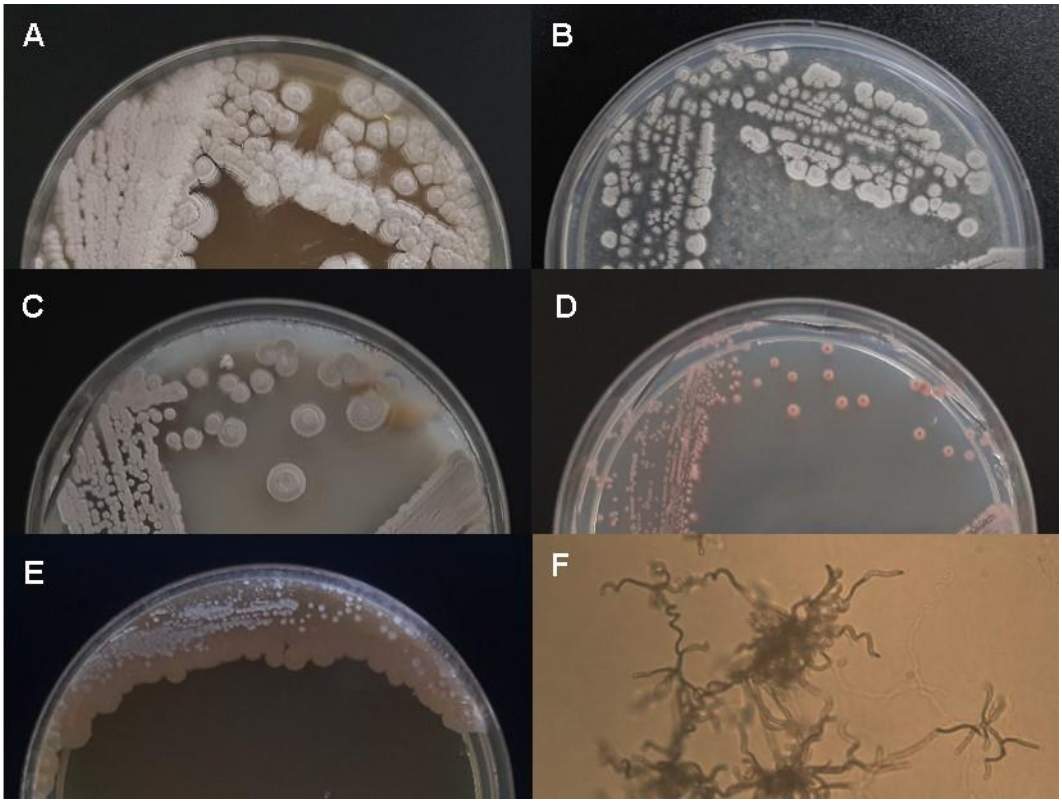

Figura 5. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento AS-31). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “espiral” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

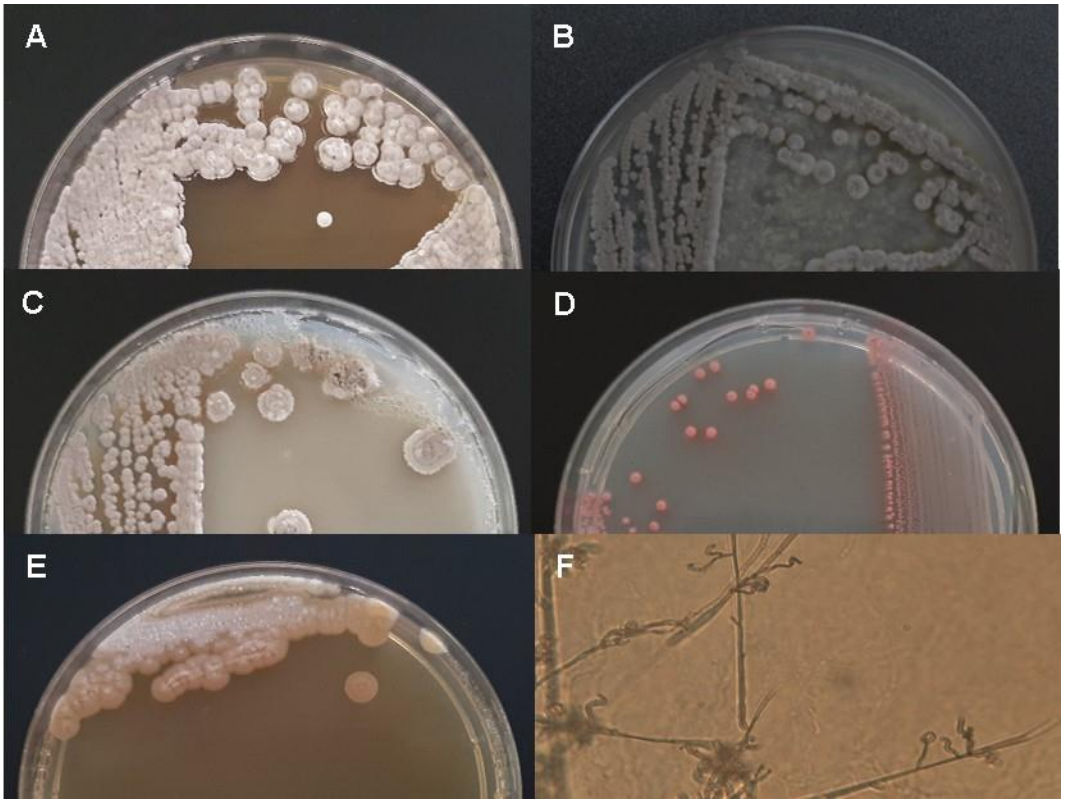

Figura 6. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento AS-45). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “espiral” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

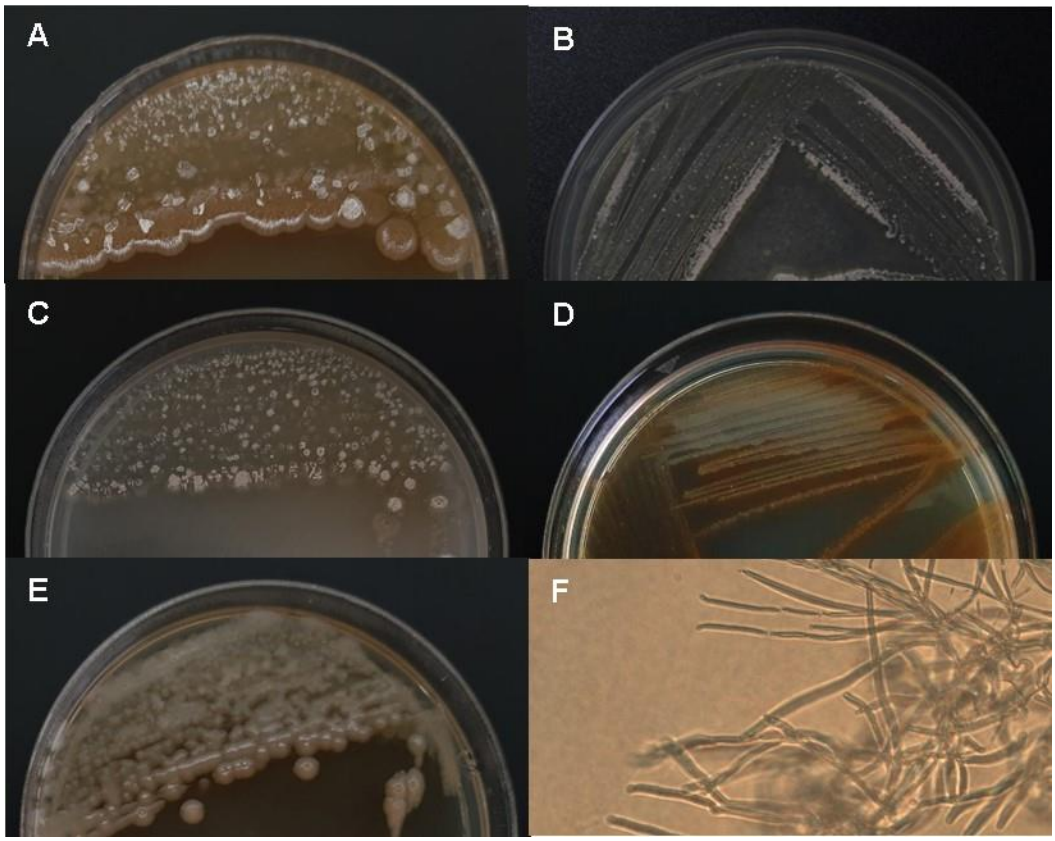

Figura 7. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento AS-46). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “flexuosa” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

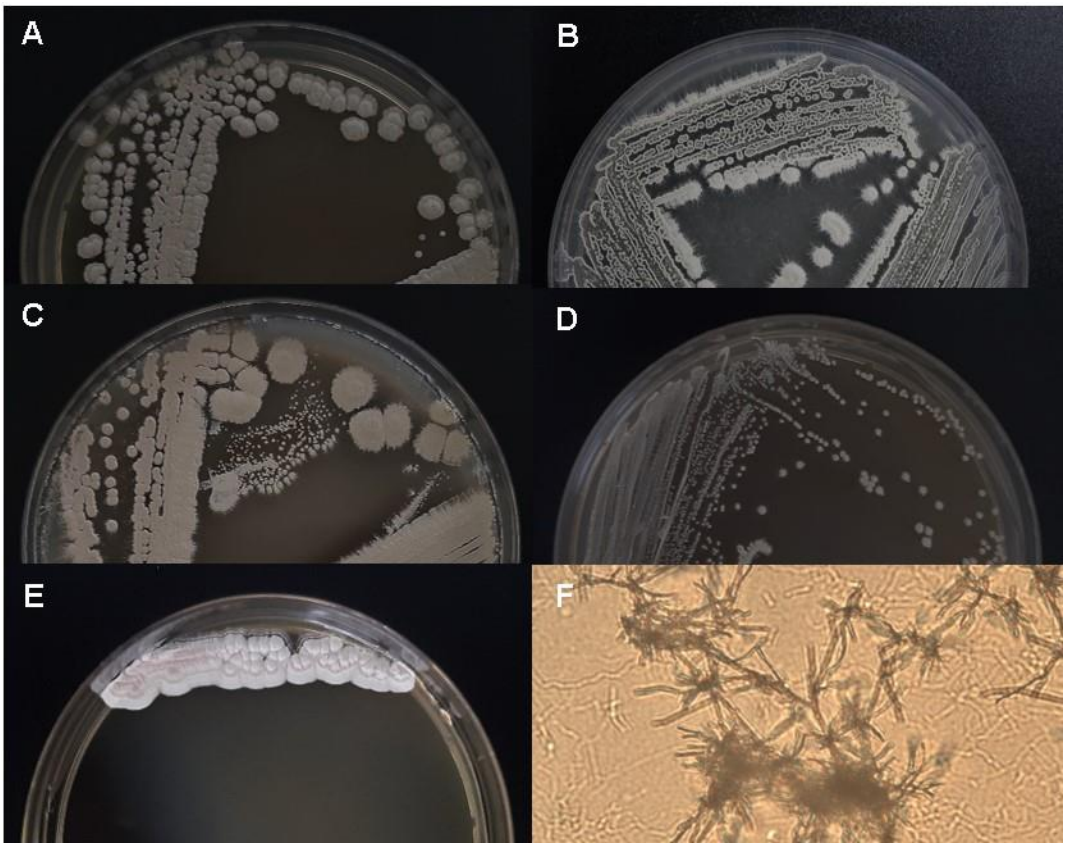

Figura 8. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento AS-48). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “flexuosa” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

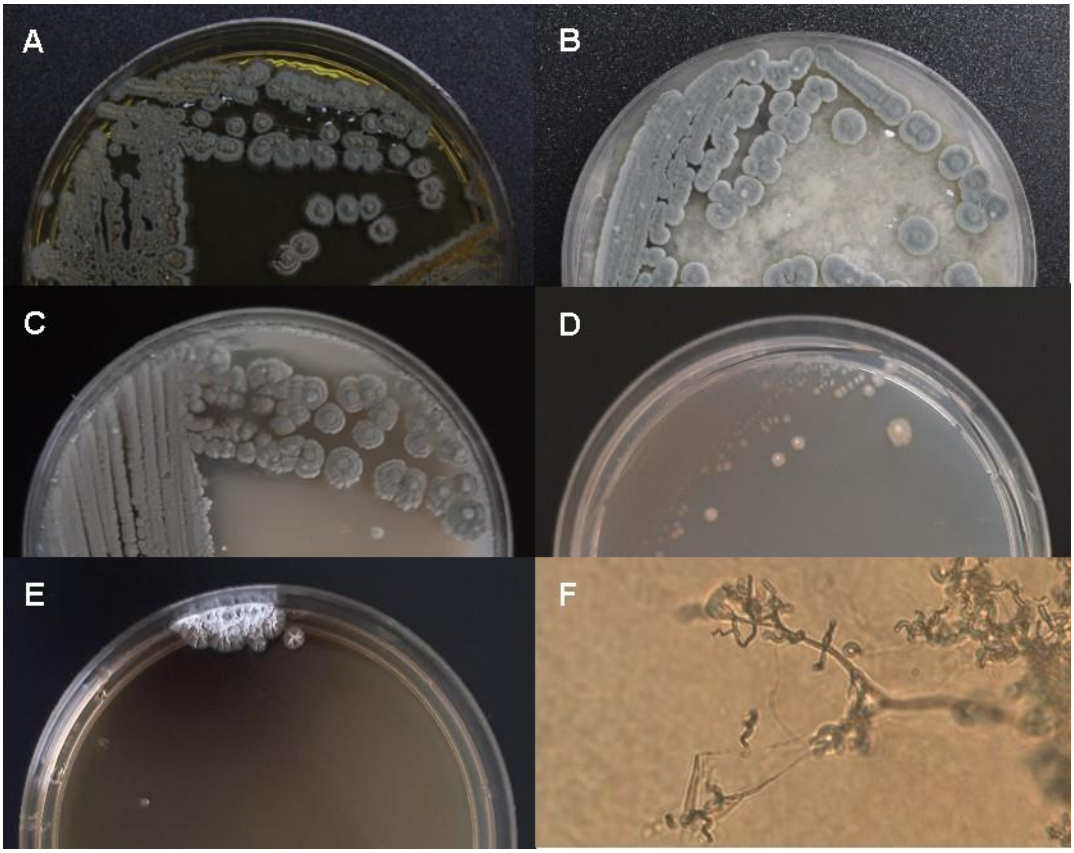

Figura 9. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento AS-49). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “espiral” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

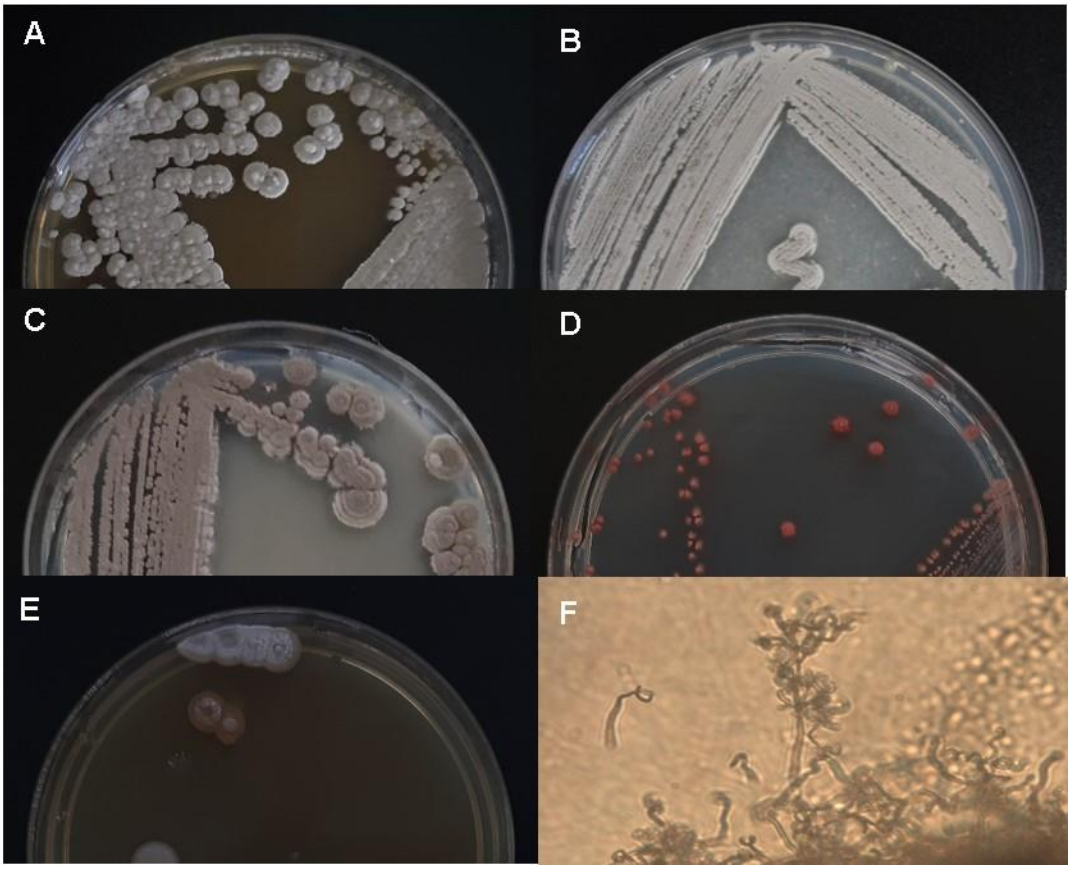

Figura 10. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento AS-53). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “espiral” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

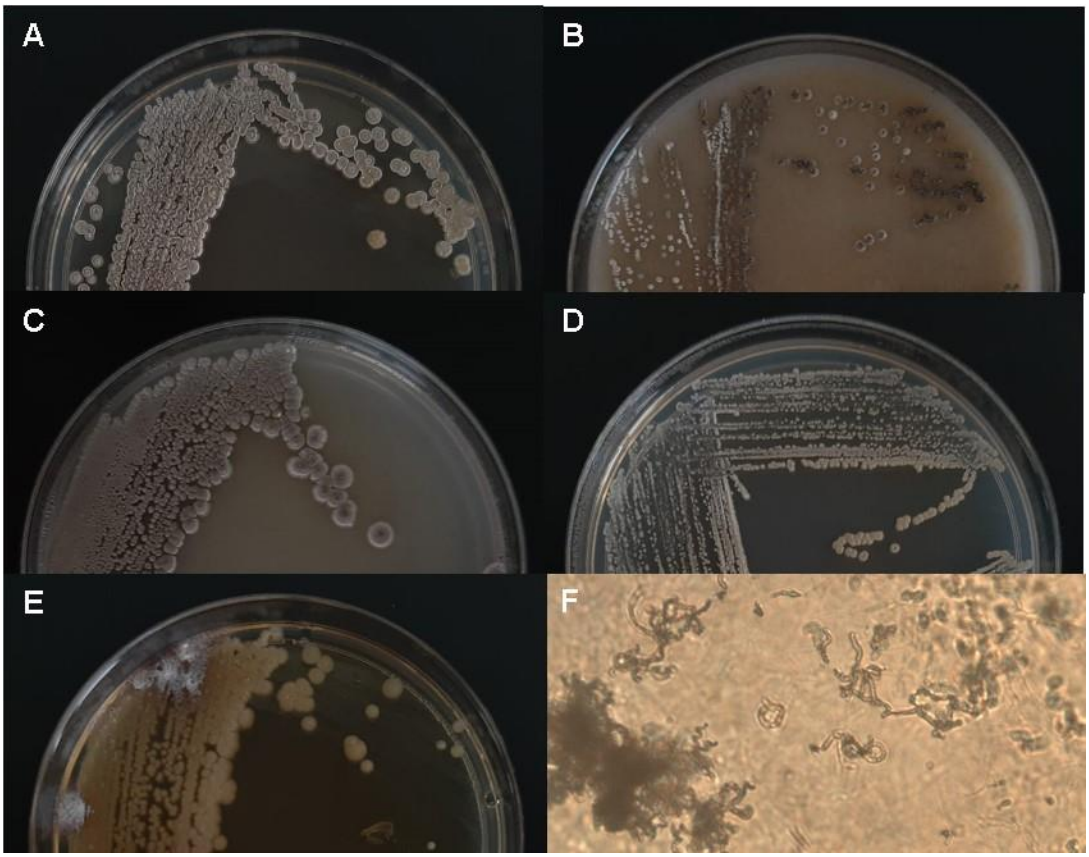

Figura 11. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento SR-1). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “espiral” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

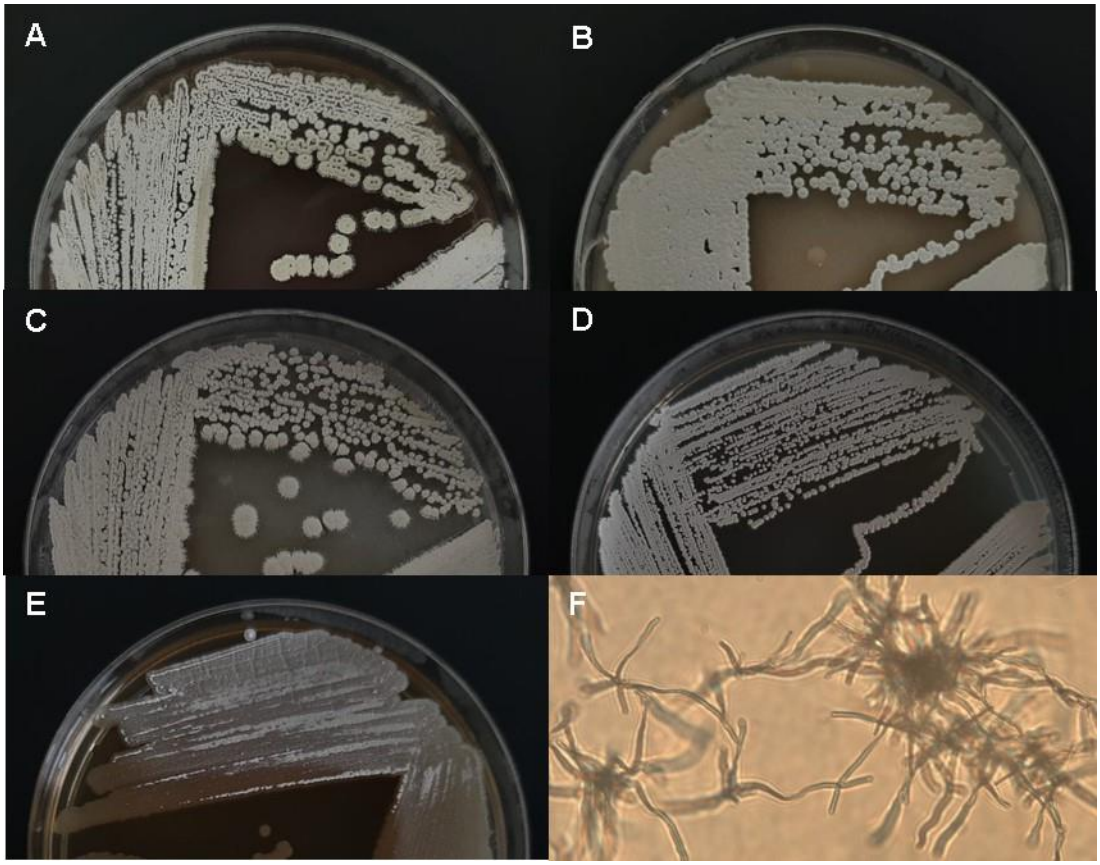

Figura 12. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento SR-2). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “flexuosa” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

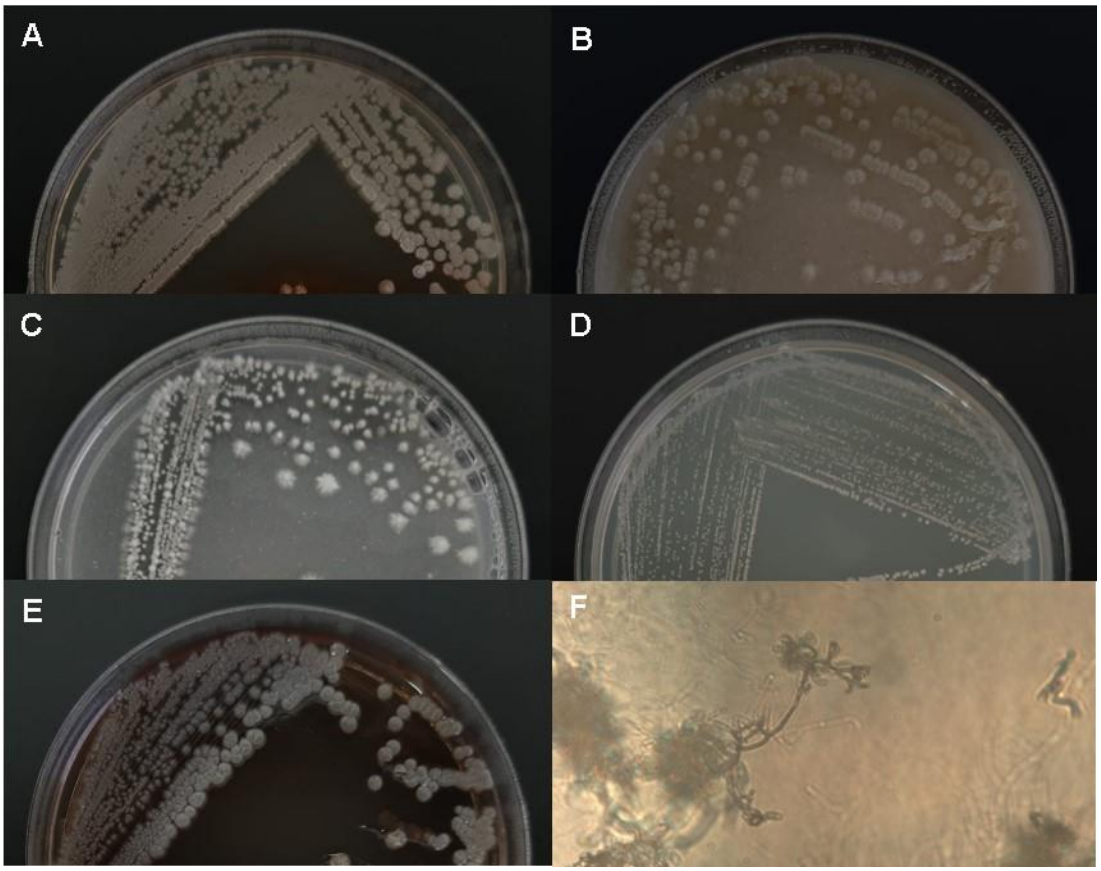

Figura 13. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento SR-3). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “espiral” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

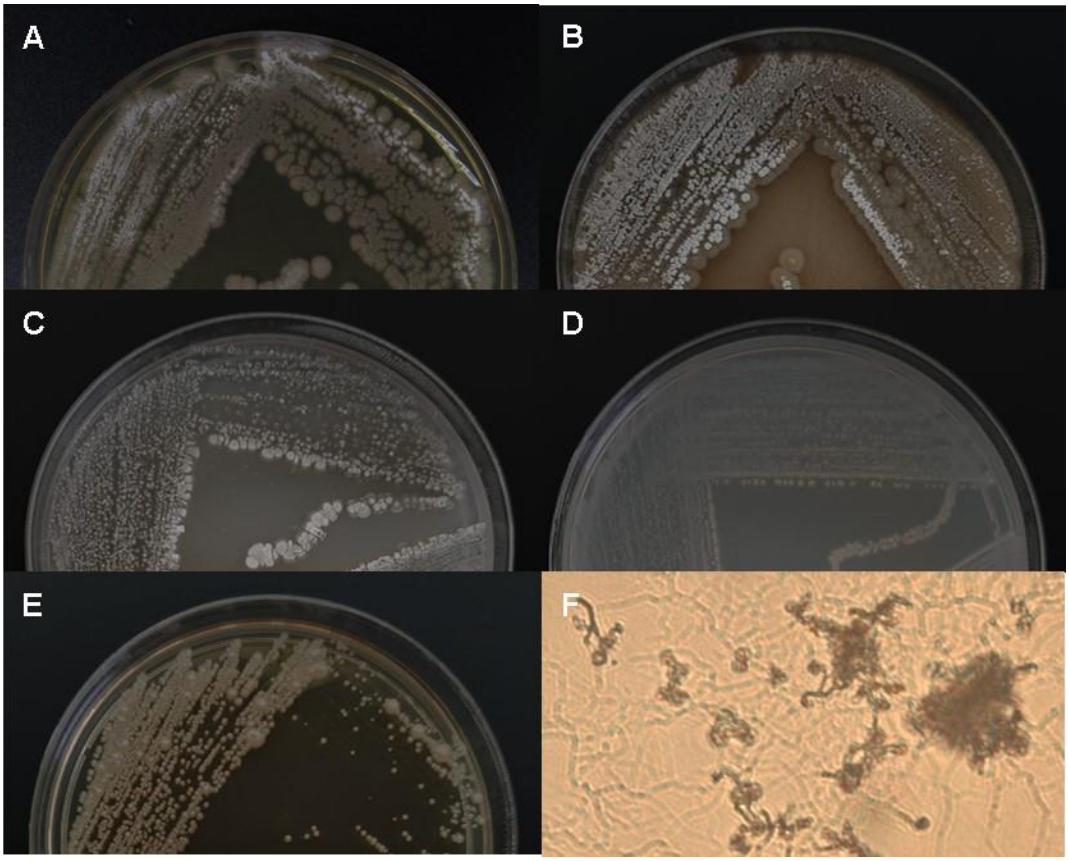

Figura 14. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento SEST). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “espiral” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

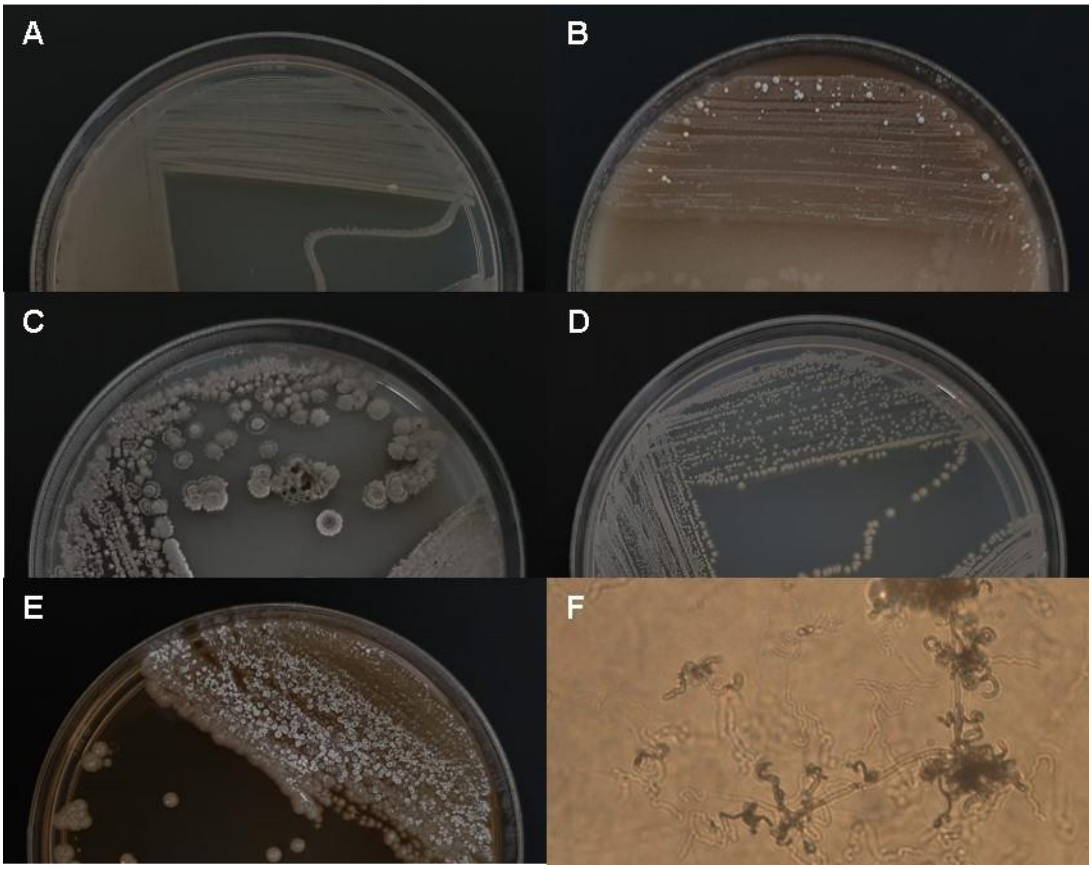

Figura 15. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento STRAT). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “espiral” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

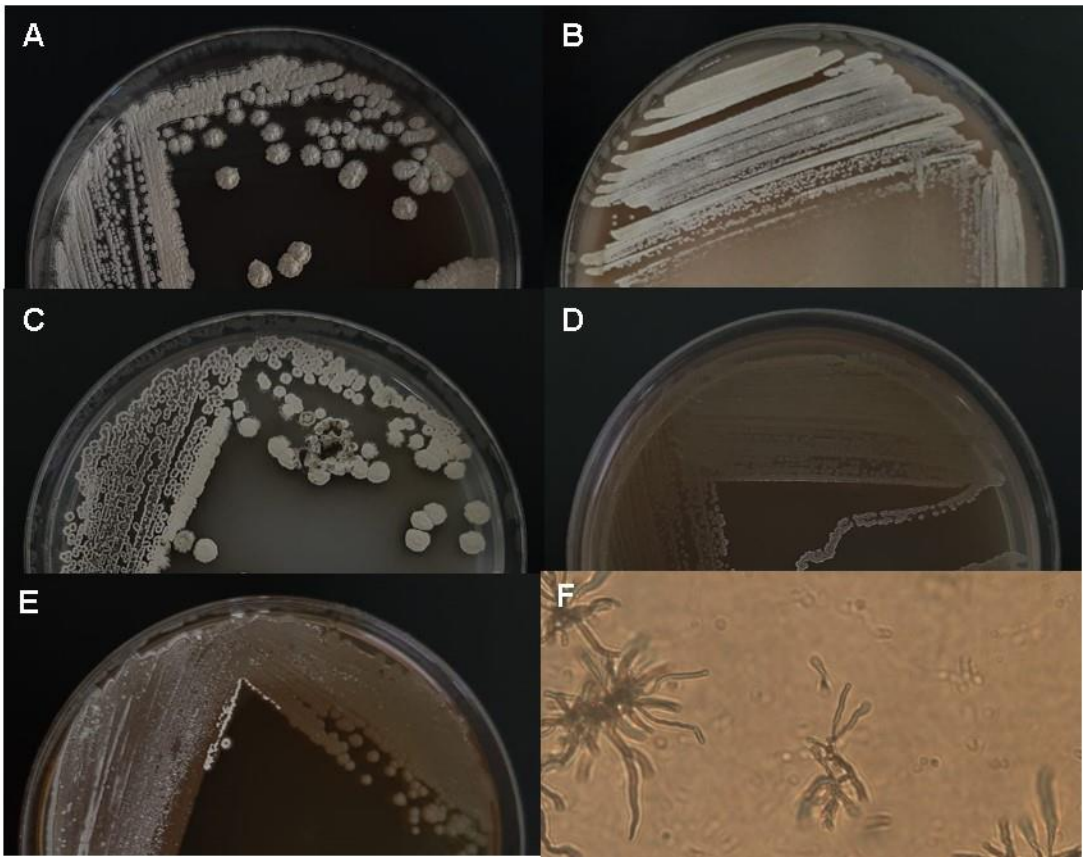

Figura 16. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento SPROF). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas en “flexuosa” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

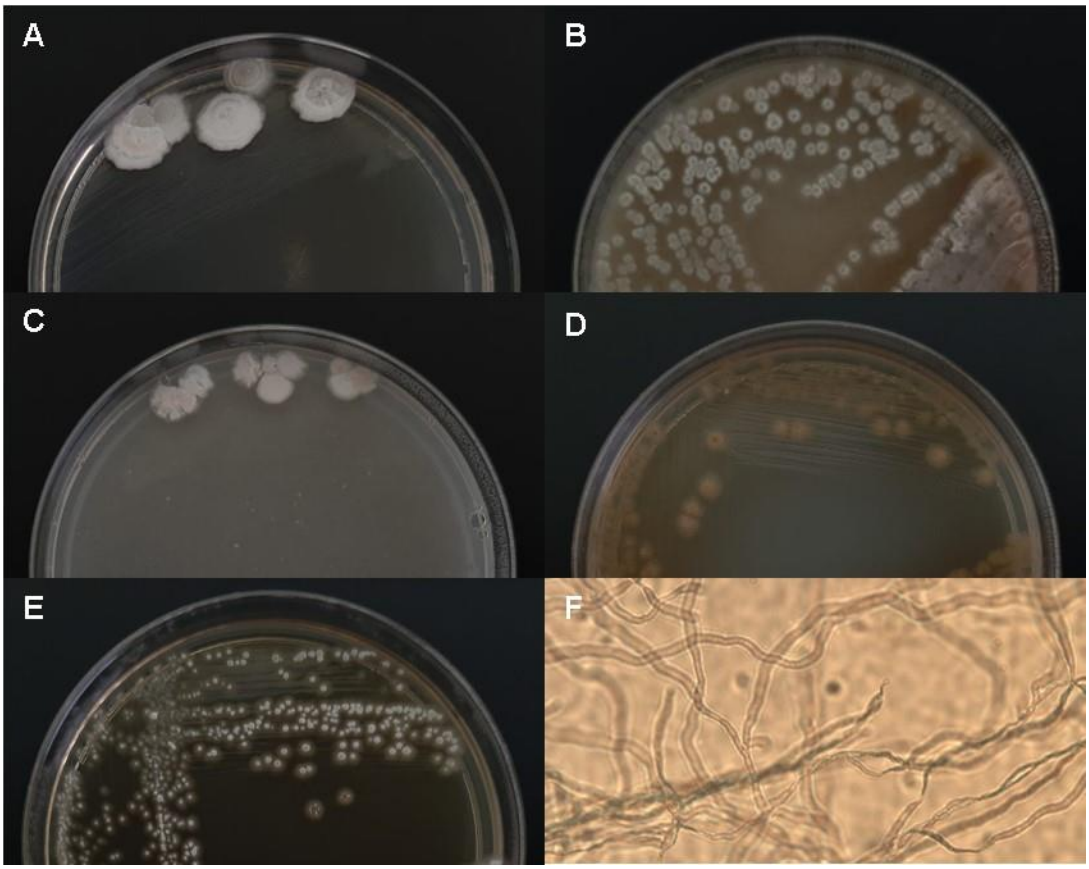

Figura 17. Color del micelio aéreo y pigmentos solubles de *Streptomyces* sp. (aislamiento RET/ACT). A) Agar Extracto de levadura-malta (YME), B) Agar avena (Oatmeal Agar), C) Agar Sal inorgánica-almidón soluble (ISSA), D) Agar glicerol-asparagina, E) Agar peptona extracto de levadura-fierro (PYI) y F) Fotografía de microscopio de luz (40X) mostrando cadenas de esporas “flexuosa” del mismo aislamiento en Nystatina, Penicilina, Polimixina y Cyclohexamida (NPPC).

8.3. Caracterización molecular

8.3.1. Análisis de secuencias de los fragmentos generados

Al comparar las secuencias obtenidas con el par de oligonucleótidos Sm6F (5´GGTGGCGAAGGCGGA-3´) y Sm5R (5´-GAACTGAGACCGGCTTTTTGA-3´) con secuencias depositadas en la base de datos de NCBI, se comprobó que todas corresponden a actinomycetes, específicamente al género *Streptomyces*.

Las secuencias obtenidas de seis aislados mostraron 99.80 a 100% de identidad con una secuencia obtenida del GenBank, que tiene el número de acceso MT611319.1, éste corresponde a la cepa T110 de *Streptomyces* sp. Dos más de los aislados, presentaron similitud de 100% con la cepa de HBUM206335 de *Streptomyces* sp., con el número de acceso MT540568.1. Por otra parte, el aislado RET/ACT mostro similitud de 99.4% con la cepa con número de acceso LC551882.1, de *Streptomyces omiyaensis.*

Los aislamientos restantes presentan afinidades individuales con cepas de distinto número de acceso, donde se observó similitud del 100% del aislado AS48 con una cepa de la especie *Streptomyces tendae,* con número de acceso MK911733.1. Además, se encontró similitud del 100% del aislado con clave ASR1 con la especie *Streptomyces gancidicus, con número de acceso* MT588801.1; observándose el mismo porcentaje para el aislado con clave ASR3 con la especie *Streptomyces griseostramineus,* con el número de acceso JQ955745.1. En el (Cuadro 3), se observan los datos relacionados a las secuencias obtenidas en las bases de datos al ser comparadas mediante el algoritmo BLAST con los aislados utilizados en este estudio. En el filograma obtenido por agrupación de clúster mediante el método del vecino más cercano, se observó que los aislados ASTRAT, ASR2, ASPROF, AS10, AS45 y AS49, pertenecieron al mismo grupo filogenético. Se observó un segundo grupo formado por los aislados AS31 y AS53. Los aislamientos restantes mostraron estar emparentadas filogenéticamente con las cepas observadas en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Comparación de secuencias de los fragmentos generados con los oligonucleótidos Sm6F y Sm5R, con secuencias documentadas en la base de datos de NCBI, correspondientes a una secuencia parcial del gen 16S del ARN ribosómico.

No.	Aislado	No. de acceso	Nombre	Tamaño	Identidad	% de cobertura	Valor E	Origen	Aislado de:
1	RET/ACT	LC551882.1	*Streptomyces omiyaensis* S32-52 rRNA 16S, secuencia parcial.	917	99.41%	100%	0.0	Tailandia	*Brachytheciu m buchananii*
2	AS-10	MT611319.1	*Streptomyces* sp. cepa T110 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	909	99.80%	100%	0.0	China	Cebada
3	AS-13	MT542135.1	*Streptomyces* sp. cepa HBUM206460 gen de ARN ribosómico 16S, secuencia parcial.	915	100%	100%	0.0	China	NA
4	AS-31	MT540568.1	*Streptomyces* sp. cepa HBUM206335 gen de ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	924	100%	100%	0.0	China	NA
5	AS-45	MT611319.1	*Streptomyces* sp. cepa T110 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	933	100%	100%	0.0	China	Cebada
6	AS-46	MT540520.1	*Streptomyces* sp. cepa HBUM206362 gen de ARN ribosómico 16S, secuencia parcial	950	100%	100%	0.0	China	NA
7	AS-48	MK911733.1	*Streptomyces tendae* cepa BI 3 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	924	100%	100%	0.0	India	Suelo forestal
8	AS-49	MT611319.1	*Streptomyces* sp. cepa T110 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	920	100%	100%	0.0	China	Cebada
9	AS-53	MT540568.1	*Streptomyces* sp. cepa HBUM206335 gen de ARN	929	100%	100%	0.0	China	NA

			ribosómico 16S, secuencia parcial.						
10	ASRET-R	MT627170.1	*Streptomyces* sp. cepa RR9 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	933	100%	100%	0.0	India	Arroz
11	SPROF	MT611319.1	*Streptomyces* sp. cepa T110 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	924	100%	100%	0.0	China	cebada
12	SR-1	MT588801.1	Gen de ARN ribosómico 16S de *Streptomyces gancidicus* cepa Kris2, secuencia parcial.	924	100%	100%	0.0	India	Suelo de bosque
13	SR-2	MT611319.1	*Streptomyces* sp. cepa T110 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	915	100%	100%	0.0	China	Cebada
14	SR-3	JQ955745.1	*Streptomyces griseostramineus* cepa Sk-5 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	929	100%	100%	0.0	Pakistán	Suelo
15	STRAT	MT611319.1	*Streptomyces* sp. cepa T110 16S gen de ARN ribosómico, secuencia parcial.	924	100%	100%	0.0	China	Cebada

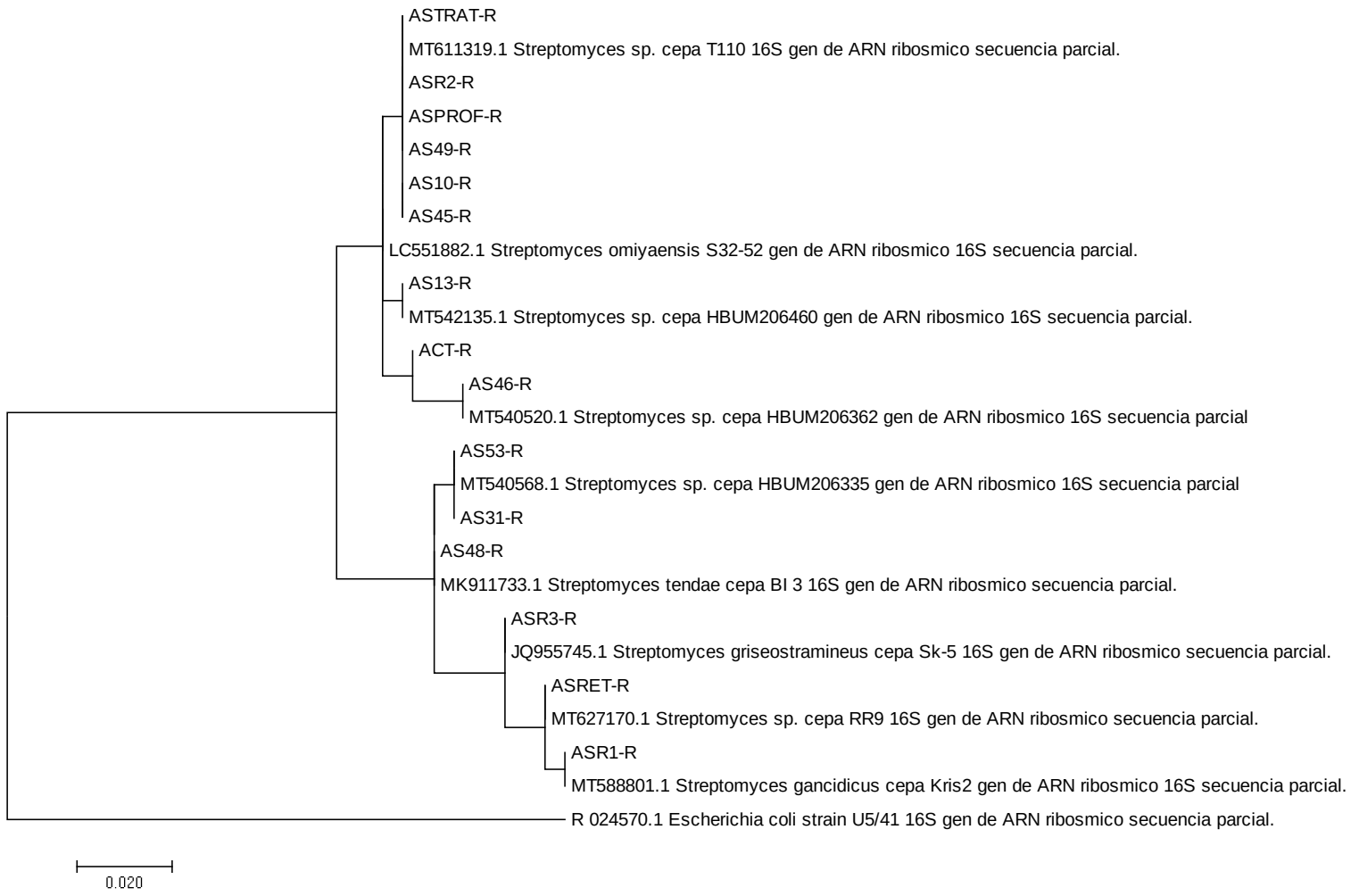

Figura 18. Filograma del vecino más cercano, basado en una secuencia parcial del gen 16S del ARN ribosómico.

8.4. Prueba de patogenicidad en bulbo de rábano

Se demostró la patogenicidad de 15 aislados de *Streptomyces* en bulbos de rábano variedad “Champion”, a los 40 días después de la inoculación, todos los bulbos de rábano inoculados desarrollaron lesiones necróticas, disminuyeron el desarrollo de la raíz e hipocótilo y ocasionaron los síntomas comunes de la roña común de la papa: lesiones superficiales corchosas, lesiones profundas, agrietamientos y lesiones reticuladas, mientras que los bulbos de rábano testigo permanecieron libres de la enfermedad (Figura 19). No se detectaron diferencias significativas (P=0.05) en el grado de virulencia entre los aislados. El porcentaje de daño en la superficie de los bulbos por dichos aislados varió de 14.01 a 58.80%; A su vez, los aislados AS-49, SR-3 y SPROF, los cuales causaron porcentajes de daño en los bulbos de 14.01 a 20.30% no arrojaron diferencias significativas (P=0.05) con respecto al testigo sin inoculación, el cual no mostró síntomas de la enfermedad (Cuadro 4). Los aislados SR-2, SEST y RET/ACT, afectaron directamente el desarrollo de los bulbos e hipocótilo (Figura 19).

Cuadro 4. Comparación de patogenicidad y virulencia relativa de 15 aislados de *Streptomyces* en bulbos de rábano en invernadero.

Aislados de *Streptomyces* spp.	**Superficie del bulbo afectado por roña (%)[x]**
TESTIGO	0.0 e [y]
AS-10	53.7 ab
AS-13	37.1 abcd
AS-31	58.8 a
AS-45	42.8 abcd
AS-46	50.5 abc
AS-48	44.3 abcd
AS-49	20.3 bcde
AS-53	33.8 abcd
SR-1	45.9 abcd
SR-2	37.4 abcd
SR-3	17.9 cde
SEST	45.9 abcd
STRAT	55.7 a
SPROF	14.0 de
RET/ACT	35.6 abcd

[x] el porciento de la superficie de bulbos de rábanos dañados se determinaron a los 40 días después de la siembra en maceta, inoculado de manera individual con los diferentes aislados de *Streptomyces*.

[y] Medias seguidas de la misma letra no difieren estadísticamente de acuerdo al procedimiento de Tukey (P=0.05).

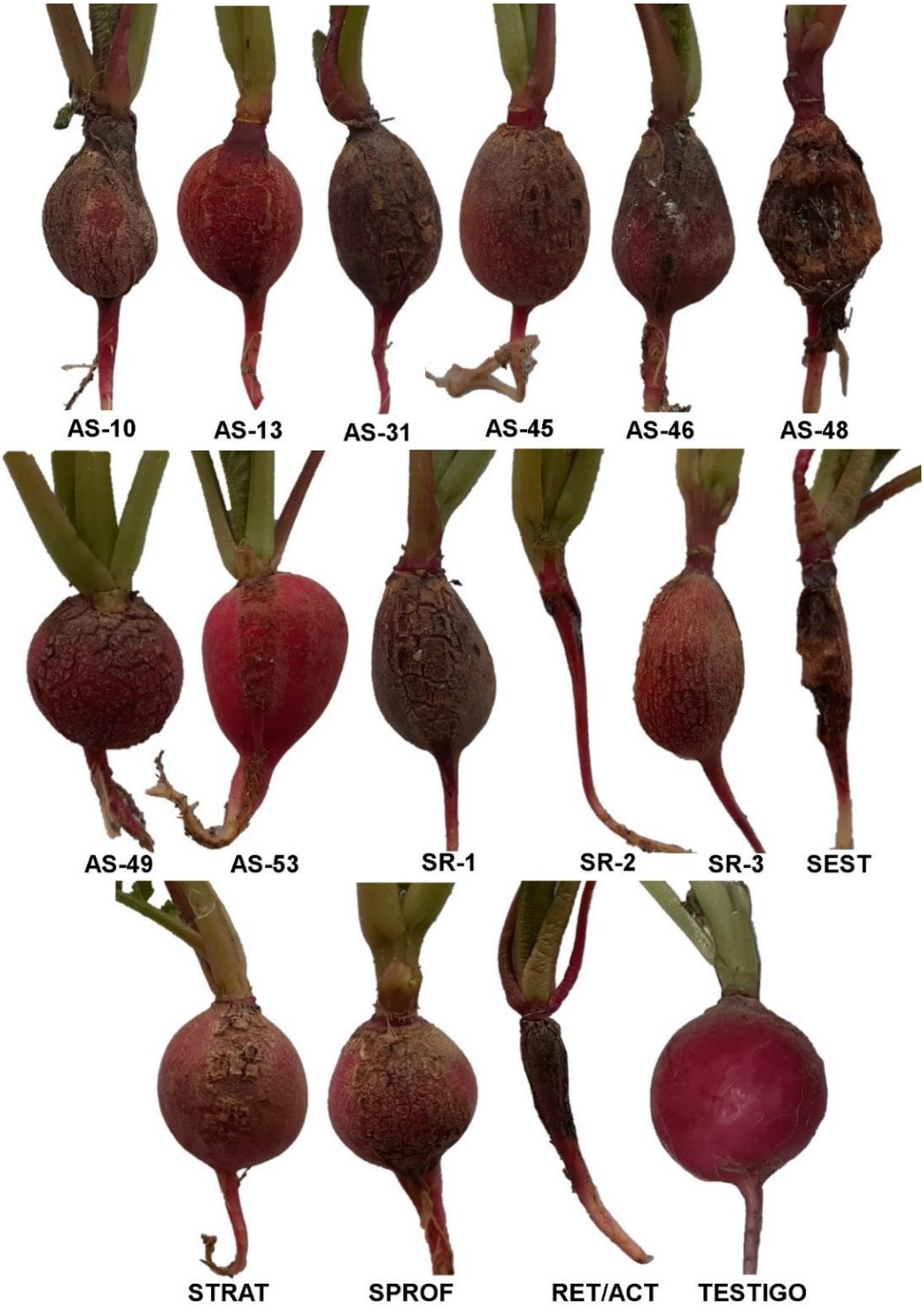

Figura 19. Lesiones; necróticas, corchosas, superficiales y afectación del desarrollo del bulbo de rábano variedad Champion. Resultado de la prueba de patogenicidad de diferentes aislados de *Streptomyces* spp, a 40 días después de la inoculación artificial.

8.5. Patogenicidad en discos de papa

Se realizó el ensayo de patogenicidad en discos de papa a los 15 aislados de *Streptomyces* spp., las zonas necróticas en rodajas de papa variedad Fianna tratadas con extracto crudo y suspensión de esporas de los aislados de *Streptomyces* se observó después de 72 horas de la inoculación, los aislados mostraron crecimiento y lesión en los discos de tubérculos de papa (Figura 19; Cuadro 4). El control negativo inoculado con agua destilada estéril no mostró síntomas asociados a la enfermedad de roña común de la papa. Los aislados bacterianos que mostraron ser más virulentos al ser inoculados en rodaja de papa fueron AS-49, SPROF y AS-48, con un porcentaje de área afectada de 8.5, 8.4 y 8.3 cm^2, respectivamente, los cuales no mostraron diferencias significativas al comparar las medias en la prueba de Tukey. Los aislados de *Streptomyces* que presentaron menor índice de virulencia, fueron; SEST, SR-1 y AS-31, con un área afectada total de 5.8, 5.8 y 5.4 cm^2 respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 5. Porcentaje de área afectada en cm^2 de 15 aislamientos de *Streptomyces* en discos de papa variedad Fianna.

Aislados de *Streptomyces* spp.	**% área afectada por roña[x]**
TESTIGO	0.0 d [y]
AS-10	7.5 ab
AS-13	7.6 ab
AS-31	5.4 c
AS-45	7.3 ab
AS-46	7.2 ab
AS-48	8.3 a
AS-49	8.5 a
AS-53	6.5 bc
SR-1	5.8 bc
SR-2	7.3 ab
SR-3	6.4 bc
SEST	5.8 bc
STRAT	7.4 ab
SPROF	8.4 a
RET/ACT	6.4 bc

[x] el porciento de la superficie de rodaja de papa dañada se determinó a los 3 días después de la inoculación de manera individual con los diferentes aislados de *Streptomyces*.

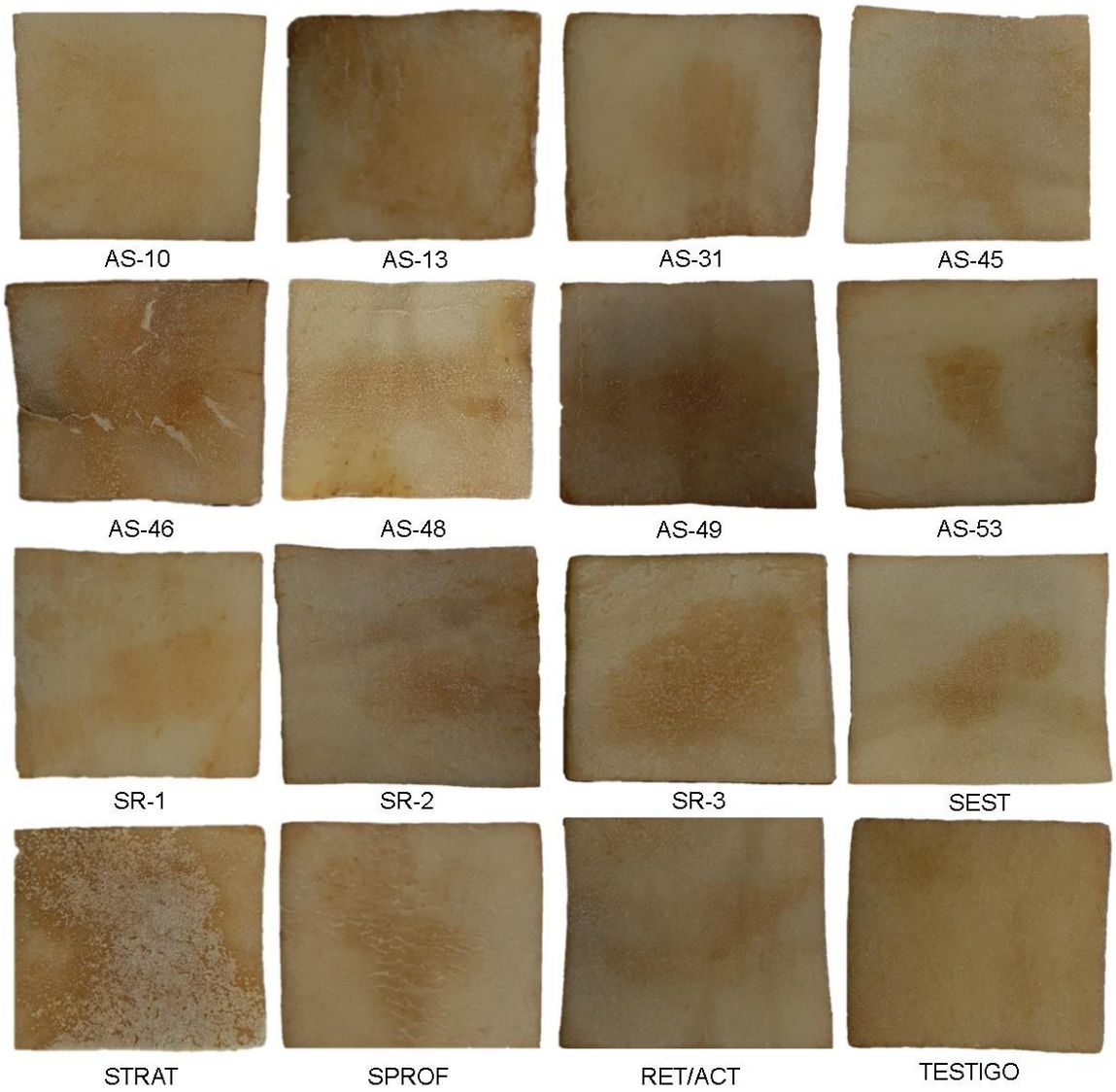

Figura 20. Lesiones necróticas irregulares típicas de la roña común en rodajas de papa variedad Fianna, resultado de la prueba de patogenicidad de diferentes aislados de *Streptomyces* spp., a 3 días después de la inoculación artificial con una suspensión de esporas con una concentración de $1x10^6$ esporas mL^{-1}.

8.6. Confrontación dual *in vitro* (prueba de antagonismo en placa).

La prueba de antagonismo *in vitro* con crecimiento de *T. harzianum* mostró un efecto antagónico alto contra las especies de *Streptomyces*. El antagonista compite por espacio y nutrientes, invadiendo rápidamente el sustrato y obstaculizando el crecimiento de las bacterias (Figura 20), sobrecrece las colonias bacterianas y se desarrolla sobre ellas (Figura 21). De acuerdo a la escala propuesta por Bell *et al*., (1982), la capacidad antagónica de *T. harzianum*, frente a los fitopatógenos causantes de la roña común de la papa, corresponde al Grado 1 (donde *T. harzianum* coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre el fitopatógeno). No se observaron otros mecanismos de acción característicos de *T. harzianum* en este experimento *in vitro*, sin embargo, se observó un mecanismo de defensa por parte del aislado STRAT- *S. scabies*, donde la bacteria evito se siguiera desarrollando el antagonista formando un halo de inhibición (Figura 22). Los datos mostraron una desviación estándar de 3.4006862, lo que indica que los datos de la muestra tienden a estar agrupados cerca de la media.

Cuadro 6. Inhibición *in vitro* de *Trichoderma harzianum* en especies de *Streptomyces*, agentes causales de la roña común de la papa en Sonora y Sinaloa, mediante *Trichoderma harzianum*.

Aislamientos *Streptomyces*	**% de inhibición *T. harzianum* [x]**
TESTIGO	99.8 a
AS-10	99.4 a
SPROF	98.8 a
SR-1	98.3 a
STRAT	97.7 a
AS-45	96.6 a
AS-53	96.6 a
AS-48	96.1 a
AS-46	94.9 a
SR-3	94.9 a
AS-13	94.4 a
SEST	94.4 a
AS-49	93.8 a
AS-31	90.5 a
RET/ACT	89.9 a
SR-2	88.3 a

[x] el porcentaje de inhibición ejercida por el hongo antagonista *T. harzianum* sobre especies de *Streptomyces* se determinó a las 96 h después de la siembra.

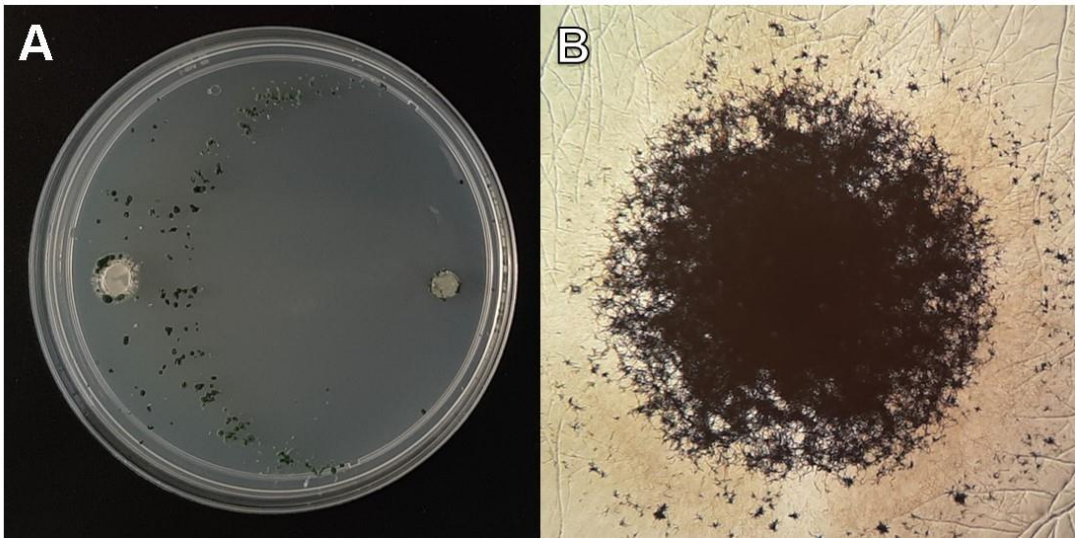

Figura 21. Competencia por espacio y nutrientes por parte del antagonista *T. harzianum* en confrontación *in vitro* contra el aislado AS-48 (*Streptomyces acidiscabies*) en medio de cultivo Agar Agua.

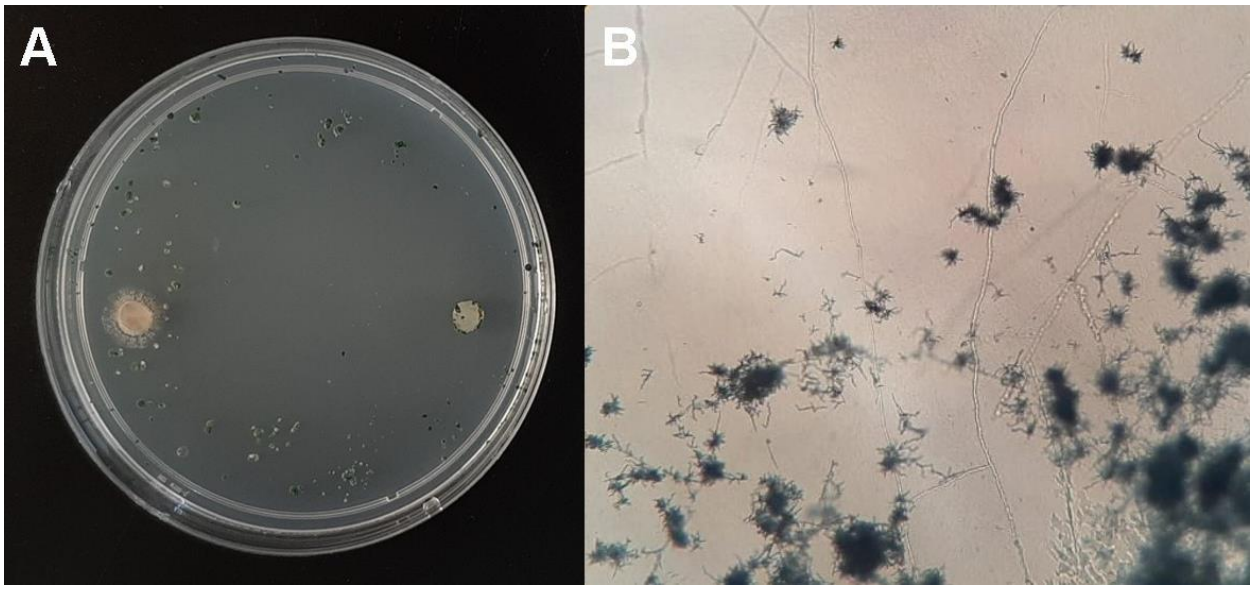

Figura 22. Crecimiento de *T. harzianum*, sobre el aislado AS-53 correspondiente a *Streptomyces scabies,* en prueba de antagonismo *in vitro*, en medio de cultivo Agar Agua.

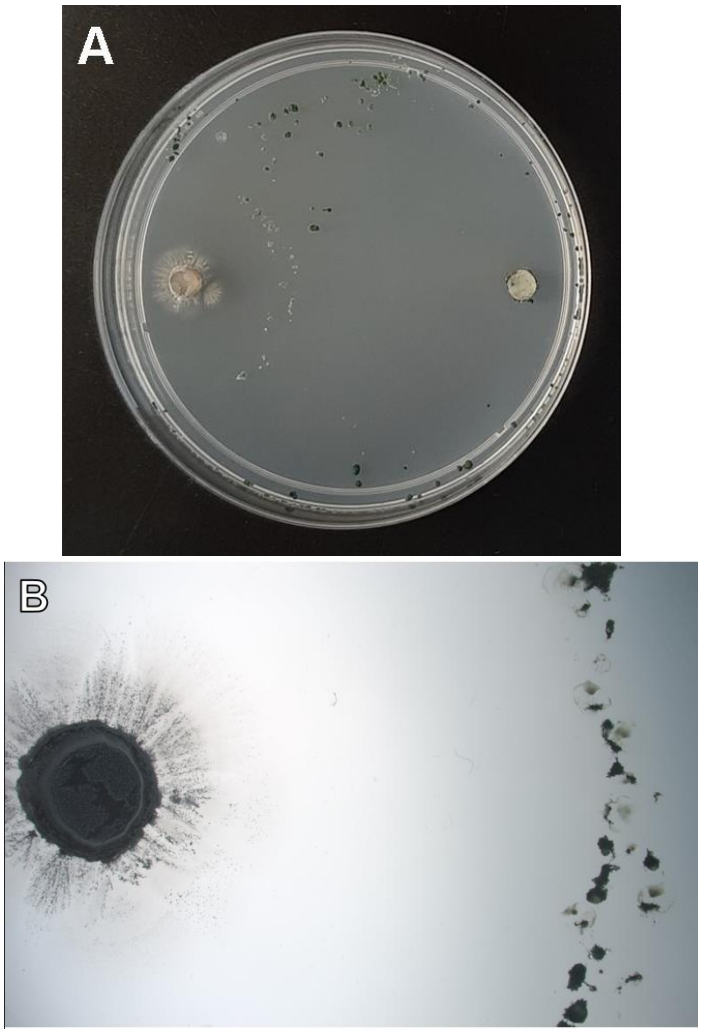

Figura 23. Mecanismo de defensa “inhibición” por parte del aislado bacteriano STRAT-*Streptomyces scabies*, sometido a confrontación dual *in vitro* contra el hongo antagonista *T. harzianum.*

IX. DISCUSIONES

La roña común de la papa es una enfermedad distribuida a nivel mundial causada por diferentes especies del género *Streptomyces* (Lapaz, 2014). Las especies de *Streptomyces* presentan diferencias en morfología, fisiología, características moleculares y patogenicidad. Estas han sido caracterizadas y encontradas en diferentes países a nivel mundial (Dees & Wanner, 2012). *S. scabiei* ha sido reconocido como el principal agente causal, debido a su amplia distribución en el mundo (Hosaka *et al*., 2000).

El actinomiceto *Streptomyces scabies*, se encontró asociado a lesiones de roña común de la papa en tubérculos- semilla procedentes del norte de Sinaloa y sur de Sonora, dicho patógeno presentó morfología de las cadenas de esporas en forma de espiral y a su vez mostró una esporulación grisácea sobre los medios de cultivo del Proyecto Internacional de *Streptomyces* (Lambert & Loria, 1989ª; Loria *et al*., 2006; Leyva-Mir *et al*., 2014). Mientras que los aislamientos de *Streptomyces acidiscabies*, mostraron esporas flexuosas blancas y colonias de color blanco grisáceo en medio de cultivo YME y mostraron pigmentación beige en el medio ISSA (Lambert & Loria, 1989b; Loria *et al*., 2006; Santos-Cervantes *et al*., 2016)

Las cadenas de esporas en *Streptomyces* presentan distintas formas y coloración lo que constituyen características taxonómicas importantes (Shirling & Gottlieb, 1966). La caracterización de aislados de *Streptomyces* puede ser realizada en base a pruebas fenotípicas y bioquímicas. Sin embargo, para estas pruebas se utilizan técnicas elaboradas que demandan largos periodos de tiempo y no siempre es posible determinar con precisión la especie (Faucher *et al*., 1995).
Las especies de *Streptomyces* presentan diferencias en sus características genotípicas (Dees & Wanner, 2012). Los métodos moleculares basados en el análisis de secuencias de ADN se llevan a cabo en menor tiempo y ofrecen una mayor precisión y sensibilidad en la identificación de microorganismos en comparación con los métodos convencionales de análisis de caracteres fenotípicos

(Bouchek-Méchiche *et al*., 2000). Para estudio de un gran número de cepas se utiliza la secuencia del gen ARNr 16s que es más sencilla y rápida. Sin embargo, este gen tiene una alta similitud de secuencia entre las especies del género *Streptomyces*, por lo cual no permite una buena resolución taxonómica a nivel de especie (Labeda, 2001; Song *et al*., 2004; Guo *et al*., 2008). Este problema se evidenció al usar los primers Sm6F y Sm5R, los cuales amplifican un fragmento de 620bp del gen de ARNr 16s. Las secuencias obtenidas mediante el uso de los primers antes mencionados, fueron depositadas en la base de datos del NCBI, se comprobó que todos los aislados corresponden al género *Streptomyces* (Cuadro 5).

Los principales síntomas asociados a la enfermedad son lesiones en la superficie del tubérculo parecidas a costras de color marrón a oscuro, que pueden ser superficiales, elevadas o profundas. Se cree que el tipo de lesión producida depende de factores como, las condiciones ambientales, la carga patógena, agresividad y susceptibilidad del cultivar de papa (Dess & Wanner, 2012).

La papa es el huésped más afectado por la enfermedad de roña común, aunque cultivos de raíz primaria como el rábano, zanahoria y betabel también son susceptibles (Tomihama *et al*., 2016; Santos-Cervantes *et al*., 2016). La patogenicidad en planta de *Streptomyces* está asociada a la producción de la toxina taxtomina (Bignell *et al*., 2010; Dess & Wanner, 2012). Contiene una fracción de 4-nitroindol esencial para su fitotoxicidad y son esenciales para la inducción de los síntomas característicos de la roña común en papa (Lawrence *et al*., 1990). La diferente producción de taxtomina por algunas cepas explicaría variaciones en los síntomas de roña común (Hiltunen *et al*., 2006). Se ha demostrado que la taxtomina A es sintetizada por *S. scabiei*, *S. acidiscabiei*, *S. turgidiscabiei*, *S. europaeiscabies*, *S. steliscabiei* y *S. niveiscabiei* (King *et al*., 1989; Healy *et al*., 2000; Park *et al*., 2003b). Esta fitotoxina induce una variedad de cambios fenotípicos en la planta huésped, incluyendo hipertrofia celular, retraso en el crecimiento de las raíces, necrosis en los tejidos, inhibición de la síntesis de celulosa y alteraciones en el flujo de iones Ca++ y H+, en la muerte programada celular y en la producción de

antimicrobianos como la fitoalexina y escopoletina en la planta (Scheible *et al*., 2003; Duval *et al*., 2005; Lerat *et al*., 2009).

Todos los aislamientos empleados en esta investigación produjeron los síntomas mencionados por Scheible y colaboradores en 2003 y Wanner en2004, en rábano a los 40 días después de la siembra e inoculación. En un estudio realizado en el Valle del Fuerte, Sinaloa, México en el año 2016, evaluaron la capacidad de diez aislamientos de Streptomyces acidiscabies de causar patogenicidad y ser virulentos en los distintas plantas huésped de esta enfermedad: papa, rábano, zanahoria y betabel, donde todos los aislamientos fueron patogénicos en todas las plantas huésped y altamente virulentos en papa (Santos-Cervantes *et al*., 2016).

Leyva-Mir y colaboradores en 2014, evaluaron la capacidad patogénica de *Stretptomyces scabies* asociada a la roña común de la papa en el Valle del Mayo, en el estado de Sonora, en tubérculos de papa variedad Fianna, donde obtuvieron síntomas iniciales característicos de la enfermedad; Estos datos son similares a los obtenidos en esta investigación para los ocho aislados correspondientes a *S. scabies*.

Los aislados de *Streptomyces* causaron lesiones necróticas al ser inoculados en rodajas de papa variedad Fianna, a partir del extracto crudo y suspensión de esporas de cada aislado *in vitro*. Esto demuestra que las especies aisladas de tubérculos sintomáticos son las causantes de dicha enfermedad en predios comerciales de papa ubicados en el estado de Sinaloa y Sonora respectivamente. Los síntomas necróticos observados en las pruebas *in vitro* con papa fueron producidos por el extracto crudo de taxtomina, lo que sugiere que la necrosis está asociada con el grupo de genes de taxtomina de la región toxicogénica (TR) (Lerat *et al*., 2009; Chapleau *et al*., 2016; Zhang *et al*., 2016).

Por su parte, Alejo-Viderique y colaboradores (2018), evaluaron el efecto *in vitro* usando un extracto crudo de taxtomina y una suspensión de esporas del aislado *Streptomyces* (V2), en rodajas de papa y rábano, se verificó la producción de síntomas necróticos tanto en papa como en rábano. Dichos resultados coinciden con los obtenidos en este trabajo de investigación. A su vez, Lapaz y colaboradores

en 2017, indicaron la capacidad para inducir necrosis en discos de tubérculos de papa, de 70 aislamientos de *Streptomyces* aislados de tubérculos sintomáticos y suelo en Uruguay, entre los aislamientos encontraron principalmente a *Streptomyces scabies*, *Streptomyces acidiscabies* y *Streptomyces europaeiscabiei*, dichas especies presentan islas de patogenicidad representativas de especies patogénicas de plantas de *Streptomyces*.

De particular relevancia es la capacidad de algunas especies de Streptomyces para establecer interacciones parasitarias con plantas, lo que lleva al desarrollo de enfermedades de cultivo económicamente importantes. Este atributo es considerado como “raro” ya que solo cerca de una docena de los cientos de especies descritas funcionan como patógenos de plantas. La mayoría de las cuales causan la enfermedad denominada “roña común” (Loria *et al*., 2006; Kämpfer, 2012; Euzeby, 2016).

Aunque la roña común de la papa fue descrita por primera vez hace más de 100 años, aun se tiene poca comprensión sobre cuáles son los factores que favorecen y contribuyen a la aparición y gravedad de la enfermedad, por lo que es necesario profundizar acerca de la diversidad genética y las bases genéticas que permiten las diferencias de agresividad entre los aislamientos, lo que representa un reto para el desarrollo de estrategias de control (Loria *et al*., 1997; Agrios, 2005; Hosaka *et al*., 2000).

El control biológico de la roña común ofrece una alternativa atractiva a las estrategias de control clásicas. Se ha reportado hongos, en su mayoría ascomicetos, con capacidad antagónica contra los patógenos de roña común (Tagawa *et al*., 2010). El hongo *Trichoderma harzianum*, utilizado como agente de control biológico en este estudio mostro ser un excelente antagonista, el cual compite de manera masiva por espacio y nutrientes, dejando de esta forma sin recursos a las bacterias para su desarrollo. Resultados similares fueron obtenidos por Castro-Rodríguez, 2011, donde evaluó la capacidad antagónica *in vitro* de *T. harzianum* contra un aislado de *Streptomyces*, causante de la enfermedad de la roña común en Guasave, Sinaloa, México.

La competencia evaluada bajo condiciones in vitro (cultivo dual), se ejerce principalmente por espacio y en ella intervienen la velocidad de crecimiento de las cepas del antagonista y factores externos como tipo de sustrato, pH y temperatura, entre otros (Martínez *et al*., 2008). El desarrollo rápido del antagonista, hacen que sea un buen competidor por espacio o nutrientes, bloqueando el paso al patógeno (Martínez *et al*., 2013a).

Infante *et al*., (2009), explica que en la medida que *Trichoderma* manifieste varios mecanismos de acción, será eficiente y duradero el control.

Los resultados de la prueba de antagonismo *in vitro*, muestran también la importancia de que en el caso de los antagonistas no se vean afectados por los fitopatógenos, para el caso de bacterias del género *Streptomyces*, presentan la capacidad de producir una gran cantidad de antibióticos y otros metabolitos activos, producen cerca del 80% de los antibióticos conocidos actualmente, dichos antibióticos inhiben de manera natural a microorganismos coexistentes en el hábitat donde estas bacterias se desarrollan (Kieser *et al*., 2000).

Esta interacción fue observada por una cepa de *Streptomyces* scabies con código “STRAT”, aislado de tubérculo con síntomas asociados a la roña común de la papa. El aislado genero un halo de inhibición contra el hongo antagonista *Trichoderma harzianum*, impidiendo siguiera su desarrollo dentro de la caja de cultivo. Esto sirve como un parteaguas para realizar investigaciones futuras, con esta y otras especies de bacterias y hongos antagonistas, con el fin de elegir aquellas cepas adecuadas para el control de las bacterias fitopatógenas y tener así alternativas amigables con el medio ambiente.

X. CONCLUSIONES

Las pruebas fisiológicas y bioquímicas indican que los aislados asociados a la roña común de la papa en el norte de Sinaloa y sur de Sonora corresponden a *Streptomyces scabies y Streptomyces acidiscabies.*

Los 15 aislados de *Streptomyces* asociados a la roña común de la papa indujeron síntomas similares a los observados en campo al realizar las pruebas de patogenicidad en rábano bajo condiciones de invernadero. Además ocasionaron lesiones necróticas al ser inoculadas en rodajas de papa *in vitro*, lo que demuestra la presencia de genes de patogenicidad en dichos aislados bacterianos.

De los 15 aislados de *Streptomyces*, 14 mostraron sensibilidad al hongo antagonista *Trichoderma harzianum* en la prueba de confrontación dual *in vitro*. Mientras que el aislado de *Streptomyces* (STRAT), inhibió el desarrollo del antagonista, mediante la secreción de antibióticos, que evitaron que el antagonista continuara su desarrollo sobre el medio de cultivo.

XI. REFERENCIAS

Acuña, B. I. & M. Araya. (2017). Fitopatología-Enfermedades de la papa: sarna común y sarna ácida. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Chile. Disponible en línea: http://www.inia.cl/wp-content/uploads/FichasTecnicasSanidadVegetal/Ficha%2047%20Sarna%20comun%20y%20sarna%20acida.pdf

Agrios, G. N. (2005). Plant Pathology. Fifth Edition, Elsevier Academic. Press, London, UK. Allorent D, Willocquet L, Sartorato A, Saravy S. 922p.

Ahmad, J. S. & R. Baker. (1987). Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. Phytopathol. 77: 182-189.

Alejo, A., Burgueño, E., Maldonado, L. A., Herrera, G., Félix, R., & E.T. Quintana. (2019). *In vitro* effect of the crude extract of a potato common scab streptomycete in Sinaloa, Mexico. Revista Argentina de Microbiología. 51(4):363-370. doi: 10.1016/j.ram.2018.09.002.

Baker, K. & R. Cook. (1974). Biological Control of Plant Pathogens. San Francisco, California, EEUU. 433.

Barrera, C. (1988). Seguimiento virológico de clones de papa con genes para resistencia a PVX y PVY bajo condiciones de campo. Universidad Nacional Agraria La Molina. Tesis M. Sc. Lima. Perú. 90p.

Bignell, D.R., Seipke, R.F., Huguet-Tapia, J.C., Chambers, A.H., Parry, R. & R. Loria. (2010). *Streptomyces scabies* 87-22 contains a coronafacic acid-like biosynthetic cluster that contributes to plant-microbe interactions. Mol Plant Microbe Interact. 23: 161-175.

Bouchek, M, K., Pasco, C., Andrivon, D., & B. Jouan. (2000). Differences in host range, pathogenicity to potato cultivars and response to soil temperature among *Streptomyces* species causing common and netted scab in France. Plant Pathol. Applied and Enviromental Microbiology 49, 3-10.

Camporota, P. (1985). Antagonisme in vitro de *Trichoderma* spp. vis-a`-vis de *Rhizoctonia solani* Ku¨hn. Agronomie, EDP Sciences. 5(7): 613-620.

Cancino, L.S. (2003). Evaluación del daño causado por Streptomyces scabies (Thaxter) sobre tubérculos de papa (Solanum tuberosum Hawkes) Durante el almacenaje. Tesis de grado Universidad Austral de Chile.

Castro-Rodríguez, O. (2011). Evaluación de la efectividad de Trichoderma harzianum (Hartz) y Bacillus subtilis (Khön), para el control de la sarna de la papa Streptomyces spp. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario para el desarrollo integral regional. Unidad Sinaloa. Guasave. Sinaloa. 78p.

Catalogue of life. (2020). Recuperado de: https://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/e42b84e5e75340665b18020003b8ce4e

Centro Internacional de la Papa. (2015). Plagas y enfermedades de la papa. Consultado en su sitio de internet https://cipotato.org/es/lapapa/plagas-y-enfermedades-de-la-papa/.

Chapleau, M., Guertin, J., Farrokhi, A., Lerat, S., Burrus, V., & C. Beaulieu. (2016). Identification of genetic and environmental factors stimulating excision from *Streptomyces scabiei* chromosome of the toxicogenic region responsible for pathogenicity. Molecular Plant Pathology. 17: 501-509.

Chen, W.P., & T.T. Kuo. (1993). A simple and rapid method for the preparation of gram-negative bacterial genomic DNA. Nucleic Acids Research 21: 22–60.

Chet I. (1990). Biological control of soil-borne plant pathogens with fungal antagonists in combination with soil treatments. In: Hurnby, Y. (ed), Biologycal Control of soil-borne Plant Pathogens Wallingford. U.K.: Cab International. 15-25p.

Chet, I. & J. Inbar. (1994). Biological control of fungal pathogens. Applied Biochemistry and Biotechnology. 48: 37-43.

Chet, I. & S. H. Benhamou. (1998). Mycoparasitism and lectin enzymes. In: *Trichoderma* & *Gliocladium*: Enzymes, biological control and comercial applications. Harman GE, Kubice CP. (Eds.). Volumen 2: 153-152. Taylor & Francis Ltd., London, UK.

Chet, I., Benhamou, N., & S. Haran. (1998). Micoparasitismo y enzimas líticas. En: Harman GE, Kubicek CP (eds). *Trichoderma* y *Gliocladium*, vol 2. Enzimas,

control biológico y aplicaciones comerciales. Taylos y Francias. London. Reino Unido. 153-171.

Dawn, R. D., Bignell, J. C, Huguet-Tapia D., Madhumita, V. J., Gregg, S. P., & R. Loria. (2010). What does it take to be a plant pathogen: genome insights from *Streptomyces* species. Antonie Van Leeuwenhoek 98, 179-194.

Dees, M.W., & L.A. Wanner. (2012). In search of better management of potato common scab. Potato Research. 55: 249-268.

Díaz, J. (1994). Algunos aspectos biológicos de *Trichoderma* y su posible uso como biocontrol. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de La Habana.

Doering, S. C., Kiimpfer, P., Shulamit, M., Kritzman, G., Schneider, J., Zakrewska-Czerwinska, J., Schrempf, H., & I. Barash. (1992). Diversity among *Streptomyces* strains causing potato scab. Appl. Environ. Microbiol. 58: 3932-3940.

Duval, I., Brochu, V., Simard, M., Beaulieu, C., & Beaudoin, N. (2005). Thaxtomin A induces programmed cell death in *Arabidopsis thaliana* suspension-cultured cells. Planta. 222: 820-831.

Elad, Y., Chet, I., Boyle, P., & Y. Hennies. (1983). Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning electron microscopy and fruorencence microscopy. Phytopathol. 73-78.

Estrada, N. (2000). La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. Centro de Información para el desarrollo (CID), Lima, Perú.

Euzeby, J.P. (2016). Genus *Streptomyces*. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclarure. Int. J. Syst. Bacteriol. http://www.bacterio.net/streptomyces.html

Ezziyyani, M., Pérez, C., Sid, A., Requena, M., & M. Candela. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el control de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). Anales de Biología. 26: 35-45.

FAO. (2008). La papa. Tesoro enterrado. Año Internacional de la papa. Consultado en su sitio en internet: http://www.fao.org/potato-2008/es/lapapa/utilizacion.html

FAO. 2018. FAOSTAT. Cultivos. http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize (Consultado, Agosto 2020).

Faucher, E., Paradis, E., Goyer, C., Hodge, N. C., Hogue, R., Stall, R. E., & C. Beaulieu. (1995). Characterization of streptomycetes causing deep-pitted scab of potato in Québec, Canada. Int. J. Syst. Bacteriol. 45:222-225.

Fernández, L. O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas. 62: 96-100.

García-Gastélum, E. A. (2015). Caracterización morfomérica, patogénica y molecular de especies de *Alternaria* asociadas al tizón temprano de la papa (Solanum tuberosum L.) y del tomate (Solanum lycopersicum L.) en Sinaloa. Universidad de Occidente, Unidad Los Mochis. 50p.

Goodfellow, M., Mordariski, M., & S.T. Williams. (1984). Biología de los actinomicetos (Eds) Academic Press. Harcourt Brace Jovanovich, Editores. 544p.

Goyer, C., & C. Beaulieu. (1997). Host range of Streptomycete strains causing common scab. Plant Dis. 81:901-904.

Guo, Y., Zheng, W., Rong, X., & Y Huang. (2008). A multilocus phylogeny of the *Streptomyces griseus* 16S Rrna gene clade: use of multilocus sequence analysis for streptomycete systematics. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 58: 149-159.

Haram, S., Sharman, H., Oppenheim, A., & I. Chet. (1996). Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. Phytopathol.86: 980-985.

Harman, G. E. (2003). *Trichoderma harzianum*, *T. viridis*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). Recuperado desde: http://www.ibun.unal.edu.co/ r2r7e.html.

Harman, G., Howell, C., Viterbo, A., Chet, I., & M. Lorito. (2004).*Trichoderma* species. Review, 2:43-56

Haro, L.F. (2019). Importancia de la producción de papa en México. El Sol de México. Consultado en su sitio de internet:

https://www.elsoldemexico.com.mx/analisis/importancia-de-la-produccion-de-papa-en-mexico-3433659.html

Haynes, C., Everhart, E., & R. Jauron. (2003). El huerto doméstico, papa. Guía de Horticultura del Iowa State University. 24-28.

Healy, F. G., Wach, M., Krasnoff, S. B., Gibson, D. M., & R. Loria. (2000). The txtAB genes of the plant pathogen *Streptomyces acidiscabies* encode a peptide synthetase required for phytotoxin thaxtomin A production and pathogenicity. Molecular Microbiology. 38: 794-804.

Hidrin, N., Goodfellow, M., Boiron, P., Moreno, M., & J. A. Serrano. (2001). Los estreptomices: Actualización y revisión didáctica. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, *21*(1), 36-38. Recuperado en 01 de diciembre de 2020, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562001000100006&lng=es&tlng=es.

Hiltunen, L. H., Laakso, I., Chobot, V., Kakala, K. S. Weckman, A., & Valkonen, J. P. (2006). Influence of thaxtomins in different combinations and concentrations on growth of micropropagated potato shoot cultures. Journal of agricultural and food chemistry. 54: 3372-3379.

Hjeljord, L., & A. Tronsmo. (1998). *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma* & *Gliocladium*: Enzymes, biological control and commercial applications. Harman GE, Kubice CP. (Eds). (2) 131-151.

Hosaka, K., Matsunaga, H., & K. Senda. (2000). Evaluation of several wild tuber-bearing Solanum species for scab resistance. American Journal of potato research. 77: 41-45.

James, W.C. (1971). An ilustred series of assessmeat Key for plant diseases: their preparation and usage. Canada. Plant Disease. Survey 51: 39-65.

King, R.R., Lawrence, C.H., Clark, M.C., & L.A. Calhoun. (1989). Isolation and characterization of phytotoxins associated with *Streptomyces scabies*. Journal of the Chemical Society. Chemical Communications. 13: 849-850.

Kirk, W.W. (2015). Introduction to 2013 symposium on bacterial diseases of potatoes. American Journal of Potato Research 92: 215–217.

Kubicek, C. P., & G. E. Harman. (1998) *Trichoderma* and *Glioclaudium*, Vols. 1 y 2, Taylor & Francis, Londres.

Kämpfer, P. (2012). Genus I. *Streptomyces* Waksman and Henrici 1943, 339 emend. Witt and Stackebrandt 1990, 370 emend. Wellington, Stackebrandt, Sanders, Wolstrup and Jorgensen 1992, 159. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. 5, pp. 1455– 1767. Edited by M. Goodfellow, P. Ka¨mpfer, H.-J. Busse, M. E. Trujillo, K.-I. Suzuki, W. Ludwig & W. B. Whitman. New York: Springer.

Labeda, D. P. (2001). Multilocus sequence analysis of phytopathogenic species of the genus *Streptomyces*. International journal of systematic and evolutionary microbiology. 61: 2525-2531.

Lambert, D. H., & R. Loria, (1989b). *Streptomyces acidiscabies* sp. nov., nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol. 39: 393-396.

Lambert, D. H., & R. Loria. (1989ª). *Streptomyces scabies* sp. nov., nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol. 39:387-392p.

Lapaz, M., Huguet-Tapia, J., Siri, M., Verdier, E., Loria, R., & M. Pianzzola. (2017). Genotypic and phenotypic characterization of *Streptomyces* species causing potato common scab in Uruguay. Plant Disease. 101: 1362–1372. https://doi.org/10.1094/PDIS-09-16-1348-RE

Lawrence, C.H., Clark, M.C., & R.R. King. (1990). Introduction of common scab symptoms in asceptically cultured potato tubers by the vivotoxin, thaxtomin. Phytopathology. 80: 606-608.

Lecuona, R. E. (1996). Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga. Ed. R. E. Lecuona, Argentina.

Lehtonen, M.J., Rantala, H., Kreuze, J. F., Bang, H., Kuisma, L., Koski, P., Virtanen, E., Vihlman, K., & J.P.T. Valkonen. (2004). Occurrence and survival of potato scab pathogens (*Streptomyces scabies*) on tuber lesions: quick diagnosis based on PCR-based assay. Plant Pathology. 53:280-287.

Leiminger, J., Frank, M., Wenk, C., Poschenrieder, G., Kellermann, A., & Schwarzfischer, A., (2013). Distribution and characterization of *Streptomyces* species causing potato common scab in Germany. Plant Pathol. 62:611-23.

Lerat, S., Babana, A.H., El Oirdi, M., El Hadrami, A., Daayf, F., Beaudoin, N & C. Beaulieu. (2009). *Streptomyces scabiei* and its toxin thaxtomin A induce scopoletin biosynthesis in tobacco and *Arabidopsis thaliana*. Plant cell reports. 28: 1895-1903.

Lerat, S., Simao-Beaunoir, A., & C. Beaulieu. (2009). Genetic and physiological determinants of *Streptomyces scabies* pathogenicity. Molecular Plant Pathology. 10: 579-585. http://dx.doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00561.x

Leyva-Mir, S.J., F. Garay-Lizarraga, O.G., Alvarado-Gomez, L.E., Castillo-Marquez, & J.M. Tovar-Pedraza. (2014). Detección y control de *Streptomyces scabies* en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el valle del Mayo, Sonora, México. Chilean Journal of Agriculture & Animal Science, ex Agro-Ciencia 30: 5–13.

Lin, C., Tsai, C. H., Chen, P.Y., Wu, C.Y., Chang, Y.L., & Y.L. Yang. (2018) Biological control of potato common scab by *Bacillus amyloliquefaciens* Ba01. PLoS ONE 13(4): e0196520. https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0196520

Little, T.M. & F.J. Hills. (1973). Agricultural Experimentation Design and Analysis. John Wiley and Sons. New York, USA. 350p.

Lorenzo, N. (2001). Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. Tesis en opción al título de Master en Protección Vegetal Universidad Agraria de La Habana.

Loria, R., Bukhalid, R. A., Fry, B. A., & R.R. King. (1997). Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. Plant Dis. 81(8):836-846p.

Loria, R., Clark, C. A., Bukhalrd, R. A., & Fry, B. A., (2010). Gram positive bacteria. Pages 236-249 in: Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. N. W. Schaad, J. B. Jones, and W. Chun, eds. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

Loria, R., Kers, J., & Joshi, M., (2006). Evolution of plant pathogenicity in *Streptomyces*. Annual Review of Phytopathology. 44:469-487.

Lorito, M. (2006). The Molecular Biology of the Interactions Between Trichoderma, phytopathogenic Fungi and Plants: Oportunities for Developing Novel Disease

Control Methods, Memorias del Taller Latinoamericano Biocontrol de Fitopatógenos con Trichoderma y Otros Antagonistas. La Habana.

Mendoza-Siller, J.E. (2015). Efectividad de Bacillus subtilis Contra Streptomyces scabies (Sarna Común Thaxter) en Tubérculos de Papa Solanum tuberosum L., Bajo Condiciones de Invernadero. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. División de Agronomía. Departamento de Parasitología. Saltillo. Coahuila. México. 58p.

Miyajima, K., Tanaka, F., Takeuchi, T., & S. Kuninaga. (1998). *Streptomyces turgidiscabies* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 48, 495–502.

Monciardini, P., M. Sosio., L. Cavaletti., C. Chiocchini., & S. Donadio. (2002). New PCR primers for the selective amplification of 16S rDNA from different groups of actinomycetes. FEMS Microbiology Ecology 42: 419–429.

Muhammad, R., & A. Bukhari. (2014). Evaluation of different antagonistic fungi against common scab of potato. Mycopathology. 12: 63-67.

Ochoa, C., (1999). Las papas de Sudamérica: Perú (Parte 1) Centro Internacional de la papa, Lima, Perú. Impreso en Kansas Allen Press. 1090p.

Park, D. H., Yu, Y. M., Kim, J. S., Cho, J. M., Hur, J. H., & Lim, C. K. (2003ª). Characterizacion of streptomycetes causing potato common scab in Korea. Plant Disease. 87: 1290-1296.

Park, D. H., Kim, S.J., Kwon, W.S., Wilson, C., Yu M. Y, Hur, H.J. & K.C. Lim. (2003b).*Streptomyces luridiscabie* sp.nov., *Streptomyces puniciscabiei* sp.nov. and *Streptomyces niveiscabiei* sp.nov., wich cause potato common scab disease in Korea. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 53: 2049-2054.

Pérez, N. (2004). Manejo Ecológico de plagas. CEDAR: La Habana. Cuba. 296 p.

Pérez, W., & G. Forbes. (2011). Guía de Identificación de Plagas que afectan a la papa en zona andina. Centro Internacional de la papa (CIP). 44 pags.

Quintana R. T., Wierzbicka K., Mackiewicz P., Osman A., Fahal A.H., Hamid M.E., Zakrzewska-czerwinska J., Maldonado L.A., & M. Goodfellow. (2007). *Streptomyces sudanensis* sp. nov., a new pathogen isolated from patients with actinomycetoma. Antonie van Leeuwenhoek 93, 305-313.

Ramírez-García, J.G. (2011). Producción y Evaluación de *Bacillus subtilis* y *Trichoderma harzianum* para el control de la sarna de la papa "*Streptomyces* spp". Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario para el desarrollo integral regional. Unidad Sinaloa. Guasave. Sinaloa. 68p.

Rifai, M. A. (1969). A revisión of the genus *Trichoderma*. Mycological Papers 116: 1-56.

Rodríguez-Molano, L. E. (2010). Origen y evolución de la papa cultivada. Una revisión. *Agronomía Colombiana*. 28: 9-17. Retrieved from https://revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/view/17588

Román-Cortez., M. & G. Hurtado. (2002). Guía técnica cultivo de papa. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal. San Salvador, El Salvador. 36 p.

Salazar, L. F. (1997). Identificación y control de enfermedades virales y fitoplasmas de la papa. Simposium Internacional de la Papa, (Redpapa) México.

Santos-Cervantes M., Felix-Gastelum R., Herrera-Rodríguez G., Espinoza-Mancillas M., Mora-Romero A., & N. Leyva-López. (2016). Characterization, pathogenicity and chemical control of *Streptomyces acidiscabies* associated to potato common scab. American Journal Potato Research.10:9541-9545.

Scheible, W. R., Fry, B., Kochevenko, A., Shindelasch, D., Zimmerli, L., & C.R. Somerville. (2003). An *Arabidopsis* mutant resistant to thaxtomin A, a cellulose synthesis inhibitor from *Streptomyces* species. The Plant Cell Online. 15: 1781-1794.

Shirling, E.B., & D. Gottlieb. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. International Journal of Systematic Bacteriology 16: 313–340.

SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2018). http://blogagricultura.com/municipios -productores-papa-2018/ (Consultado, agosto, 2020).

SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2018). http://www.gob.mx/siap.gob.mx:8080/agricolasiap.gobmx/Resumen Delegacion. do (Consultado, agosto, 2020).

Song, J., Lee, S.C., Kang, J. W., Baek, H. J., & J. W. Suh. (2004). Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. isolated from potato scab lesions in Korea on the basis of 16S rRNA gene and 16S-23S rDNA internally transcribed spacer sequences. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 54: 203-209.

Spooner, D. M. & A. Salas. (2006). Structure, biosystematics, and genetic resources. pp. 1-39. En: Gopal, J. y S.M.P. Khurana (eds.). Handbook of potato production, improvement, and postharvest management. Haworth's Press, Inc., Binghampton, NY.

Spooner, D. M., & W. L. A. Hetterscheid. (2005). Origins, evolution, and group classification of cultivated potatoes. pp. 285-307. En: Motley, T.J., N. Zerega y H. Cross (eds.). Darwin's harvest: new approaches to the origins, evolution, y conservation of crops. Columbia University Press, NY.

Stevenson, W., R Loria., Franc G., & D. Weingartner. (2001). Compendium of Potato Diseases. Second Edition. American Phytophatological Society. Press. St. Paul Minnesota. USA. 106pp.

Tagawa, M., Tamaki, H., Manome, A., Koyama, O & Y. Kamagata. (2010). Isolation and characterization of antagonistic fungi against potato scab pathogens from potato field soils. FEMS microbiology letters. 305: 136-142.

Tomihama, T., Nishi, Y., Sakai, M., Ikenaga, M., & T. Okubo. (2016). Draft genome sequences of *Streptomyces scabiei* S58, *Streptomyces turgidiscabies* T45, and *Streptomyces acidiscabies* a10, the pathogens of potato common scab, isolated in Japan. *Genome Announc*. 4: e00062–16. DOI: 10.1128 / genomeA.00062-16

Torres, H. (2002). Manual de las enfermedades más importantes de la papa en el Perú. Centro Internacional de la papa. Lima, Perú. 59 p.

Townsend, G.R., & J.W. Heuberger. (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. Plant Dis. Rep. 27 (17): 340-343.

Vero, S. M., & P. Mondino. (1999). Control biológico postcosecha en Uruguay. Horticultura Internacional.7: 1-10.

Wale, S., Platt, H.W., & N. Cattlin. (2008). Diseases, pests and disorders of Potatoes- A colour handbook. Manson Publishing Ltd. London, UK. 176 p.

Wanner, L. A. (2007). A new strain of *Streptomyces* causing common scab in potato. Plant Dis. 91:352-359.

Wanner, L. A. (2009). A patchwork of *Streptomyces* species isolated from potato common scab lesions in North America. American Journal Potato Research. 86:247-264.

Wanner, L.A. (2004). Field isolates of *Streptomyces* differ in pathogenicity and virulence on radish. Plant Dis. 88: 785-796.

Wanner, L.A. (2006). A Survey of Genetic Variation in *Streptomyces* Isolates Causing Potato Common Scab in the United States. Bacteriology 96, 1363-1371.

Wharton, P. (2015). Enfermedades de la papa: sarna común de la papa (E2990). Universidad del Estado de Michigan. Consultado en su sitio de internet https://www.canr.msu.edu/resources/potato_diseases_common_scab_of_potato_e2990.

Williams, S.T., & F.L. Davies. (1965). Use of antibiotics for selective isolation and enumeration of actinomycetes in soil. J. Gen. Microbiol. 38:251-262p.

Zadoks, J.C., & R.D. Schein. (1979). Epidemiology and plant disease management. Oxford University Press.427 p.

Zhang, Y., Bignell, D., Zuo, R., Fan, Q., Huguet-Tapia, J., Ding, Y., & R. Loria. (2016). Promiscuous pathogenicity islands and phylogeny of pathogenic *Streptomyces* spp. Molecular Plant Microbe Interactions. 29: 640-650.

Zimand, G., Elad, Y., & I. Chet. (1996). Effect of T*richoderma harzianum* on *Botrytis cinerea* phatogenicity. Phytopathol. 86: 125-126.