

DETECCIÓN Y CONTROL DE *Streptomyces scabies* LAMBERT & LORIA EN TUBÉRCULOS DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) EN EL VALLE DEL MAYO, SONORA, MÉXICO

DETECTION AND CONTROL OF *Streptomyces scabies* LAMBERT & LORIA IN POTATO (*Solanum tuberosum* L.) TUBERS IN THE MAYO VALLEY, SONORA, MEXICO

Santos Gerardo Leyva-Mir¹, Fernando Garay-Lizárraga¹, Omar G. Alvarado-Gómez², Luis Emilio Castillo-Márquez¹, Juan Manuel Tovar-Pedraza^{3*}

¹ Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38,5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Texcoco, Estado de México, México.

² Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Avenida Universidad, Cd. Universitaria, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México.

³ Fitopatología, Instituto de Fitosanidad, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, Km 36,5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.

* Autor para correspondencia E-mail: jmtovar@colpos.mx

RESUMEN

En los años 2011 y 2012 se observaron tubérculos de papa cv. Fiana con síntomas severos de pudrición y sarna 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 objetivos de este estudio fueron identificar el agente causal de los síntomas y evaluar tratamientos a la semilla de papa para el control de la enfermedad bajo condiciones de campo. La detección e identificación del fitopatógeno se basó en análisis morfológicos, fisiológicos, patogénicos y moleculares. Además, se evaluó la efectividad de fluazinam, hidróxido de cobre, mancozeb, clorotalonil, estreptomycin + oxitetraciclina y bacterias antagónicas, como tratamientos a la semilla infectada con la finalidad de disminuir la severidad de la enfermedad. Cada uno de los tratamientos se aplicó al momento de la siembra y se hizo una segunda aplicación dirigida al cuello de la planta a los 45 días después de la siembra. La efectividad de los tratamientos se evaluó al momento de la cosecha usando una escala de severidad. A través de la combinación de análisis morfológicos, fisiológicos, moleculares y pruebas de patogenicidad, se identificó 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 + estreptomycin, clorotalonil y mancozeb.

Palabras clave: *Solanum tuberosum*, *Streptomyces scabies*, sarna común, pudrición, control químico.

ABSTRACT

In 2011 and 2012, severe symptoms of rot and scab were observed on cv. Fiana potato tubers in the Mayo Valley, Sonora, Mexico. The incidence of this disease in the region ranged from 30-40%, which resulted in severe losses in the quality of the potato tubers harvested during both production season. The objectives of this study were to identify the causal agent of these symptoms and evaluate possible potato seed treatments to control this disease under field conditions. Detection and identification of the plant pathogen was based on morphological, physiological, pathogenic and molecular analysis. Effectiveness of the following treatments were evaluated : fluazinam, copper

hydroxide, mancozeb, chlorothalonil, oxytetracycline + streptomycin and antagonistic bacteria. All of them were applied to infected potato seeds in order to reduce the severity of the disease. Each treatment was applied at planting time and a second application was made as a drench 45 days after planting. Effectiveness of the treatments was assessed at harvest using a severity scale. After a thorough analysis which combined morphological, physiological, molecular and pathogenicity tests, *Streptomyces scabies* was identified as the causal agent of scab symptoms and rot in potato tubers. The seed treatments with the lowest percentage of infection were fluazinam, oxytetracycline + streptomycin, chlorothalonil and mancozeb.

Key words: *Solanum tuberosum*, *Streptomyces scabies*, common scab, rot, chemical control.

INTRODUCCIÓN

El estado de Sonora ocupa el primer lugar en México en superficie sembrada con papa (*Solanum tuberosum* L.) con 12.212 ha, de las cuales 5.192 se localizan en el Valle del Mayo (SIAP, 2012). Algunos patógenos como *Streptomyces* spp., *Spongospora subterranea* (Wallroth) Lagerheim y *Rhizoctonia solani* Kühn afectan severamente la calidad de los tubérculos de papa con síntomas muy parecidos (Stevenson et al., 2001). La sarna común causada por *Streptomyces* spp. está presente en la mayoría de las zonas paperas del mundo y es considerada uno de los principales factores limitantes en la producción de papa en EE.UU. (Loria et al., 1997), en Francia (Bouchek-Mechiche et al., 2000), India (Mishra y Srivastava, 2001), Finlandia (Lehtonen et al., 2004), Australia (Wiechel y Crump, 2010) y República Checa (Pánková et al., 2012).

En México, durante los ciclos agrícolas de 2008-2009, los productores de papa del norte de Sinaloa y del sur de Sonora reportaron incrementos importantes de daños en tubérculos de papa causados por *Streptomyces* spp. (Rete et al., 2010; Fuentes y Valenzuela, 2011). Esta bacteria filamentosa Gram-positiva infecta los tubérculos y afecta la calidad de la cosecha de manera significativa, aunque no afecta de igual manera la cantidad de tubérculos cosechados (Loria et al., 1997; Rubio, 2010). El patógeno induce lesiones circulares o irregulares, alrededor de las lenticelas, de 5-8 mm de diámetro, y más grandes cuando se unen las infecciones. El color del tejido varía de café claro a café oscuro, con apariencia de costras, las cuales pueden ser superficiales o profundas (Loria et al., 1997; Stevenson et al., 2001).

Existen alrededor de 10 especies de *Streptomyces* responsables de inducir síntomas de sarna común en tubérculos de papa, sin embargo *S. scabies* es reconocida como la especie con mayor distribución mundial, seguida por *S. turgidiscabies* y *S. acidiscabies* (Lerat et al., 2009). Estas especies pueden ser distinguidas mediante la combinación de análisis morfológicos (Lambert y Loria, 1989a; b; Miyajima et al., 1998), determinación de producción de pigmentos (Loria et al., 2001), utilización

de fuentes de carbono (Miyajima et al., 1998) y secuencia del gen 16S del rRNA (Bouchek-Mechiche et al., 2000; Lehtonen et al., 2004).

El inóculo de *Streptomyces* spp. presente en la semilla es considerado la principal forma de dispersión de especies patógenas en campos de papa donde la enfermedad está ausente (Khan et al., 2003; Stead y Wale, 2004). Esta bacteria fitopatógena puede sobrevivir en residuos vegetales y materia orgánica en el suelo, lo cual hace que su control sea complicado. Los tratamientos a la semilla con sales de mercurio y boro lograron cierta reducción de la cantidad de inóculo, pero actualmente la aplicación de estos compuestos no se recomienda debido a que son desfavorables para el ambiente y salud humana (Stead y Wale, 2004). A través de la aplicación de ácido bórico y azufre elemental a tubérculos de papa, se ha logrado disminuir la fuente de inóculo primario (Khan et al., 2003), aunque productos con acción fungicida y bactericida muestran resultados más promisorios para controlar la enfermedad (Pung y Cross, 2000; Park et al., 2002).

La correcta identificación de las especies de *Streptomyces* patógenas en tubérculos de papa es una parte esencial para elaborar un manejo efectivo de la enfermedad, ya que cada una de las especies presenta una respuesta diferente a las condiciones edafoclimáticas y prácticas culturales que predominan en cada una de las diferentes zonas productoras de papa. Por lo anterior, los objetivos de este estudio fueron identificar la especie causante de los síntomas de sarna y pudrición del tubérculo de papa, además de determinar tratamientos a la semilla que pudieran aplicarse para el control de la enfermedad bajo condiciones de campo en el Valle del Mayo, estado de Sonora, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de recolección de muestras

El Valle del Mayo se localiza al sur del estado de Sonora, y lo integran los municipios de Navojoa, Etchojoa y Huatabampo. La temperatura promedio es 25°C y la precipitación anual 389,5

mm. En septiembre del 2011 y abril del 2012, se recolectaron 20 tubérculos de papa cv. Fiana con síntomas de pudrición (Fig. 1) similares a los producidos por la sarna común en un campo representativo con pH de 7, ubicado en Navojoa, Sonora (27°04'51" N, 109°26'43" O).

Aislamiento

Para aislar a *Streptomyces* sp. se lavaron con agua y detergente 10 tubérculos con síntomas de agrietamiento, ruptura de peridermis y pústulas. En las lesiones se cortaron fragmentos de aproximadamente 1 cm³, los cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1,5% durante 30 segundos y se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril. Bajo condiciones asépticas, las muestras se maceraron en un mortero con agua destilada estéril. En 10 placas Petri con medio de cultivo agua-agar (AA) al 2% se colocó y distribuyó una gota de la suspensión con un asa bacteriológica. Las placas se incubaron a 28°C en oscuridad continua y se monitoreó el crecimiento bacteriano cada 24 h mediante observaciones al microscopio estereoscópico. Tres placas con fragmentos de tubérculos sin síntomas se incluyeron como testigo negativo (Loria et al., 2001; Lehtonen et al., 2004).

Con el propósito de descartar la presencia de *Rhizoctonia solani* en 10 tubérculos sintomáticos, se colocaron directamente cortes desinfectados de 1 cm³ en 10 placas Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) (DIFCO, Becton and Dickson®, New Jersey, EE.UU.). Las placas se incubaron a 28°C en oscuridad continua. No se intentó obtener en medio de cultivo a *Spongospora subterranea*, debido a que es un parásito obligado.

Caracterización cultural, morfológica y fisiológica

El tipo de crecimiento de las colonias desarrolladas en medio AA y PDA se registró cada 24 h. Se realizaron preparaciones en glicerol a partir de

las estructuras presentes en las placas Petri. Adicionalmente, para determinar la producción de pigmentos oscuros melanoides, las colonias bacterianas crecidas en medio AA se transfirieron a placas Petri con medio de cultivo agar-tirosina y se incubaron en oscuridad a 28°C (Shirling y Gottlieb, 1966; Lambert y Loria, 1989a).

Pruebas de patogenicidad

Para confirmar la patogenicidad de una cepa purificada de *Streptomyces* sp., esta se transfirió a placas Petri con medio de cultivo extracto de levadura y malta agar (YME), el cual se preparó según el procedimiento publicado por Shurtleff y Averre (1999). Las placas se incubaron a 28°C durante 15 días. Posteriormente, mediante la técnica de Han et al. (2005), se preparó en agua destilada estéril una suspensión bacteriana a una concentración de 1×10^6 unidades formadoras de colonias mL⁻¹. Para la inoculación, se utilizaron 20 tubérculos de papa cv. Fiana libres de la enfermedad, los cuales se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1,5% durante 3 min, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se sumergieron en la suspensión de inóculo por 15 min. Cinco tubérculos que se dejaron como control, únicamente se sumergieron en agua destilada estéril. Todos los tubérculos se sembraron en macetas de plástico con suelo desinfectado mediante vapor de agua por 2 h en autoclave a 15 lb. Las macetas se colocaron en un invernadero con una temperatura de 25°C ± 3.

Extracción, amplificación y secuenciación de ADN

El ADN de la bacteria se extrajo a partir de micelio de 7 días de edad siguiendo el protocolo establecido por Llop et al. (1999). Como control positivo se utilizó una muestra de papa con *S. acidiscabies* proporcionada por el CIDIR-Sinaloa del Instituto Politécnico Nacional (México). Se reali-

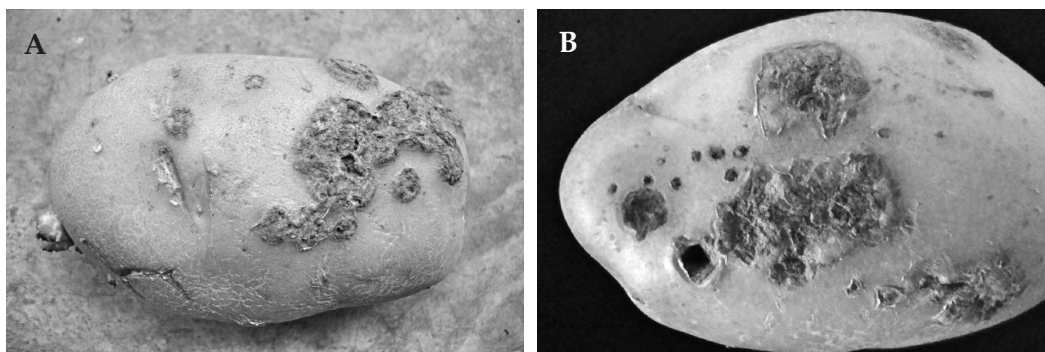


Fig. 1. (A y B) Lesiones típicas de sarna común en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) colectados en campos del Valle del Mayo, Sonora, México.

Fig. 1. (A and B) Typical lesions of common scab on potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers collected in fields from the Mayo Valley, Sonora, Mexico.

zaron reacciones de PCR universal para bacterias con los partidores 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') (Loria et al., 2001), los cuales amplifican un fragmento del gen ribosomal 16S de 1484 pb; y los partidores específicos para especies patogénicas de *Streptomyces*, Nf (5'-ATGAGCGGAA-CGGAAGCCCCGGA-3') y Nr (5'-GCAGGTCGT-CACGAAGGATCG-3') que amplifican el gen *necl* con un producto esperado de aproximadamente 700 pb. Las reacciones de PCR con los partidores 8F/1492R se realizaron en un termociclador (MJ Research, PTC-100®, Whaltham, Massachusetts, EE.UU.) con una mezcla de reacción en un volumen final de 25 µL, cuyos componentes fueron: 1X de amortiguador de reacción, 200 µM c/u dNTP's, 20 pmoles de cada oligonucleótido (antisentido y sentido), 1 unidad de *Taq* DNA polimerasa (Promega®, Madison, Wisconsin, EE.UU.) y se completó el volumen con agua libre de nucleasas. El programa en el termociclador consistió en una temperatura de 94°C durante 1 min, seguido de 35 ciclos a 94-50-72°C durante 30-30-60 seg y una extensión final de 5 min a 72°C. Las reacciones de PCR con los partidores Nf/Nr se realizaron en las mismas condiciones que los partidores 8F/1492R, con la única diferencia de la temperatura de anidamiento de 60°C (Loria et al., 2001). Los productos de las reacciones de PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1,5%, las bandas se observaron en un transiluminador de luz ultravioleta (UVP®, Upland, California, EE.UU.) y se fotografiaron. Los fragmentos amplificados por PCR con los iniciadores 8F/1492R y Nf/Nr se enviaron a secuenciar a Macrogen Inc (Seul, Corea del Sur) y los resultados obtenidos se compararon *in silico* con las secuencias disponibles en el banco

de genes (GenBank) del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Con el propósito de descartar la presencia de *Spongospora subterranea* se realizó extracción y purificación del ARN a partir de lesiones del tubérculo usando un kit comercial (Trizol Reagent, MRC®, Cincinnati, Ohio, EE.UU.). Las reacciones de PCR se realizaron con los partidores específicos Sps1 (5'-CCTGGGTGCGATTGTCTGT-3') / Sps2 (5'-CACGCCAATGGTTAGAGACG-3') (Bell et al., 1999).

Tratamientos a la semilla

El experimento para evaluar tratamientos de control de *S. scabies* en semilla de papa se realizó en los años 2011 y 2012 en un campo localizado en el Valle del Mayo, al oeste de Navojoa, Sonora (27° 04' 51" N, 109° 26' 43" O), a una altura de 33 m.s.n.m. La parcela tiene antecedentes de alta incidencia (30-40%) de la enfermedad. Se usó semilla de papa cv. Fiana con un porcentaje de severidad del 20-30%.

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. La unidad experimental consistió de cuatro surcos de 10 m de largo, con densidad de siembra de cuatro tubérculos por metro lineal. La superficie de cada unidad experimental consistió en 21,6 m², aunque solo se utilizaron los surcos centrales en la toma de datos y el total del experimento fue de 604,8 m². El cultivo se desarrolló bajo condiciones de temperatura máxima de 33°C y mínima de 22°C, con ausencia de lluvia. El riego fue por aspersión y la fertilización se realizó al momento de la siembra, con dosis de N-180, P-140, K-200, Mg-32, S-172, Zn-6, Mn-7, Fe-6, B-2. Los productos y las dosis evaluadas se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Productos evaluados durante los ciclos 2011 y 2012, para el control de *Streptomyces scabies* en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) naturalmente infectados bajo condiciones de campo en Navojoa, Sonora, México.

Table 1. Products evaluated for control of *Streptomyces scabies* in naturally infected potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers under field conditions in Navojoa, Sonora, Mexico during the seasons 2011 and 2012.

Ingrediente activo	Acción	Dosis i.a.
Fluazinam	F	1 L ha ⁻¹
Hidróxido de cobre	F, B	1,4 kg ha ⁻¹
Mancozeb	F	2,4 kg ha ⁻¹
Clorotalonil	F	4,32 L ha ⁻¹
Estreptomycin + Oxitetraciclina	B	120 g + 12 g ha ⁻¹
Bacterias antagonicas	---	1 mL L ⁻¹ agua
Estreptomycin + oxitetraciclina, fluoxastrobin, procloraz (TC)	B, F	120 g + 12 g + 120 mL + 1450 mL ha ⁻¹

F = Fungicida; B = Bactericida; TC = Tratamiento convencional probado en semilla certificada libre de la enfermedad.

El tratamiento testigo consistió de semilla sintomática con 20-30% de severidad y sin aplicación de los productos. Adicionalmente, se incluyó el tratamiento convencional usado por los productores de papa, consistente en estreptomocina + oxitetraciclina, fluoxastrobin y procloraz, sin embargo, en este caso se utilizó semilla certificada, libre del patógeno. La aplicación de los tratamientos se hizo al momento de la siembra con una mochila de aspersión manual, y una segunda aplicación se realizó dirigida al cuello de la planta a los 45 días después de la siembra. La evaluación de los tratamientos se realizó al momento de la cosecha (115 días después de la siembra), colectando al azar 20 tubérculos por cada repetición por tratamiento.

Para determinar el porcentaje de infección se utilizó la escala elaborada por James (1971), en donde: 0 = tubérculos sin daño; 1 = 1% de la superficie del tubérculo 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 tubérculo con daño. Los índices de severidad de cada tubérculo en cada repetición, se transformaron mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943) para obtener el porcentaje de infección para cada tratamiento. La ecuación es la siguiente: $P = [\Sigma (nv) / (VN)] \times 100$, donde P = porcentaje de infección; n = número de tubérculos por categoría; v = valor numérico de cada categoría; V = Grado de infección más alto; N = número de tubérculos por muestra.

Análisis estadístico

Para normalizar las varianzas, los índices de severidad se transformaron al arcsin antes de ser sometidos a un ANOVA, el cual se realizó con el procedimiento GLM (SAS, 2003). Cada uno de

los dos años de evaluación de los tratamientos se consideró y se analizó por separado. Las diferencias significativas entre medias se separaron usando la prueba de LSD ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento

A partir de los fragmentos de tejidos sintomáticos colocados en medio AA, se observaron al principio (7-10 días) pequeñas colonias bacterianas translúcidas, y a partir de los 15 días se observó crecimiento micelial en las 10 placas Petri. Mientras que en las 10 placas con medio PDA no se registró la presencia de *Rhizoctonia solani*, descartando así que los síntomas sean inducidos por dicho hongo.

Caracterización cultural, morfológica y fisiológica

Las colonias bacterianas mostraron crecimiento lento a manera de pequeñas colonias con apariencia blanquecina-translúcida al inicio (7 días) (Fig. 2A), las cuales se tornaron blancas y con producción de micelio grisáceo de aspecto pulverulento. En medio de cultivo agar-tirosina se observó la producción de pigmentos melanoides (oscuros) después de 6 días de crecimiento. En microscopía de luz a 400 aumentos, se observó micelio septado con cadenas de esporas grises en forma de barril, de $0,5 \times 1 \mu\text{m}$ y distribuidas a manera de espiral (Fig. 2B). Todos los caracteres de las colonias y esporas, así como la producción de pigmentos melanoides coincidieron con las descripciones típicas de *S. scabies* (Lambert y Loria, 1989a; Stevenson et al., 2001; Loria et al., 2006).

Se descartó la presencia de *S. acidiscabies*, ya que esta especie presenta cadenas de esporas en forma flexuosa, de color blanco a anaranjado, con pigmentos solubles color amarillo o rojo, no es

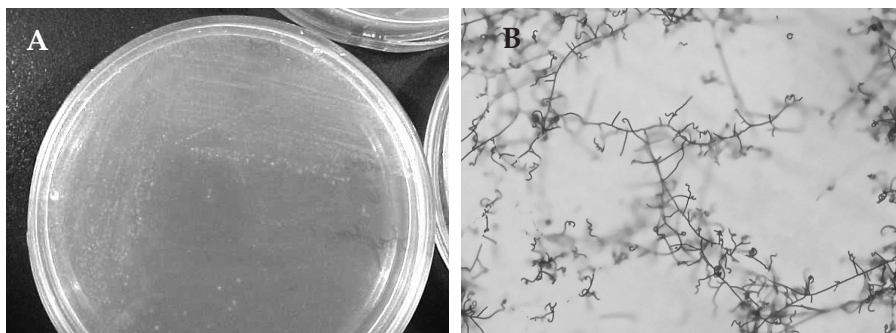


Fig. 2. A) Colonia y B) esporas de *Streptomyces scabies*, agente causal de los síntomas de sarna común y pudrición de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) en el Valle del Mayo, Sonora, México. Barra = 20 μm .

Fig. 2. A) Colony and B) spores of *Streptomyces scabies*, the causal agent of common scab symptoms and potato (*Solanum tuberosum* L.) tuber rot in the Mayo Valley, Sonora, Mexico. Bar = 20 μm .

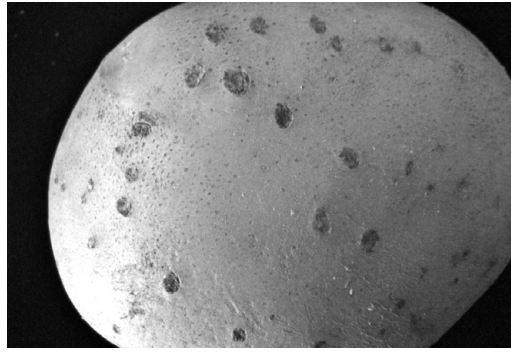


Fig. 3. Síntomas desarrollados en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) inoculados artificialmente con *Streptomyces scabies*, 15 días después de la inoculación.

Fig. 3. Symptoms developed on artificially inoculated potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers with *Streptomyces scabies*, 15 days after inoculation.

capaz de producir melanina en medio de cultivo agar-tirosina (Lambert y Loria, 1989b) y crece principalmente en suelos ácidos con pH = 4,5–5,5 (Loria et al., 2006). También se descartó la presencia de *S. turgidiscabies*, debido a que esta especie desarrolla esporas grises, cilíndricas, dispuestas en cadenas en espiral, no tiene la capacidad de producir melanina u otros pigmentos en medio de cultivo agar-tirosina (Takeuchi et al., 1996; Lindholm et al., 1997), además de que crece en suelos con pH de 4,5 (Lindholm et al., 1997; Miyajima et al., 1998).

Pruebas de patogenicidad

Quince días después de la inoculación, el 75% de los tubérculos inoculados mostraron síntomas iniciales típicos de la enfermedad, los cuales se presentaron como pequeñas lesiones cafés y marrón en la epidermis de los tubérculos (Fig. 3). Lo anterior mostró que el método de inoculación fue exitoso y el tiempo de expresión de síntomas coincidió con lo reportado por Leiner et al. (1996) y Loria et al. (2006). Los tubérculos que sirvieron como control (inmersos en agua destilada estéril), no presentaron ningún síntoma de la enfermedad. El patógeno se re-aisló a partir del tejido infectado de los tubérculos 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.

Identificación molecular

Se obtuvo la amplificación de un fragmento de aproximadamente 1484 pb de DNA del gen 16S a partir de varias colonias de *Streptomyces*, además del DNA del control positivo con los iniciadores 8F/1492R. Estos iniciadores son universales y son utilizados para amplificar el gen 16S de todas las

bacterias, aunque también pueden amplificar el DNA del cloroplasto de plantas de papa, sin embargo, en este caso podemos asegurar que el fragmento del DNA amplificado no pertenece al cloroplasto, debido a que en las reacciones de la PCR se utilizó DNA molde a partir de un lisado de colonias bacterianas cultivadas *in vitro*. Nuestra secuencia KF196255 (Número de acceso del GenBank) obtenida con los partidores 8F/1292R, mostró 99% de similitud con las secuencias de *S. scabies* (Número de acceso AB026211) y *S. europaeiscabiei* (Número de acceso HQ441821) depositadas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

También se amplificó un fragmento de aproximadamente 700 pb (Número de acceso del GenBank KF366423) a partir de las muestras bacterianas y del control positivo mediante el uso de los iniciadores Nf/Nr. Según Loria et al. (2001), los iniciadores Nf/Nr únicamente amplifican especies patogénicas del género *Streptomyces*, lo cual corresponde a las muestras utilizadas que presentaban síntomas de sarna común y pudrición. Además, se observó falta de especificidad en el caso del control positivo, ya que presentó al menos cuatro fragmentos, sin embargo, uno de ellos, corresponde al tamaño esperado. Nuestra secuencia KF366423, obtenida con los partidores Nf/Nr, presentó 99% de similitud con las secuencias de *S. scabies*, *S. turgidiscabies* y *S. acidiscabies* depositadas en la base de datos del GenBank.

Los resultados de la amplificación del gen 16S aseguraron la presencia de *Streptomyces* sp. en muestras de papa con síntomas de pudrición y sarna común, aunque únicamente se identificó a nivel de género, debido a que con esta técnica no se pudo diferenciar entre *S. scabies* y *S. europaeiscabiei*. Sin embargo, al combinar los resultados de nuestros estudios morfológicos, culturales, patogénicos y moleculares, se determinó que *S. scabies*

es el agente causal de los síntomas de sarna común y pudrición de tubérculos de papa.

Por otra parte, no se obtuvo ninguna amplificación con los iniciadores Sps1/Sps2 para *Spongopora subterranea*, por lo que se descartó que dicho hongo pudiera estar involucrado como agente inductor de los síntomas en tubérculos de papa.

Tratamientos a la semilla

Se observó significancia entre tratamientos ($p \leq 0,001$) (Tabla 2). Los tubérculos que se trataron con fluazinam mostraron el menor porcentaje de severidad a través de los dos años evaluados; esto significó un 24,16% de disminución en la severidad con respecto al testigo. Este resultado coincidió con lo reportado por Wilson et al. (1999) y Pung y Cross (2000), quienes encontraron que este fungicida disminuyó de manera considerable la severidad de la enfermedad en semilla de papa infectada. De igual manera, Stevenson y James (1995) señalaron que este fungicida redujo significativamente la incidencia y severidad de *S. scabies* en tubérculos de papa al ser aplicado al follaje de plantas de papa a los 45, 60 y 75 días después de la siembra.

Los tratamientos a base de oxitetraciclina + estreptomocina, clorotalonil y mancozeb, le siguieron en efectividad al fungicida a base de fluazinam, con una reducción en la severidad de 22,56; 22,31 y 20,93%, respectivamente, aunque

no hubo diferencia significativa entre estos tratamientos. Lo anterior contrastó con los resultados de Rubio (2010), quien obtuvo el mejor control de la enfermedad con el uso de bactericidas (gentamicina + oxitetraciclina), superando a los fungicidas (fluazinam y pentacloronitrobenzeno).

En estudios previos, el tratamiento pre-siembra a base de un espolvoreo a la semilla de papa con mancozeb, presentó una considerable disminución de la severidad de la enfermedad (Stevenson y James, 1995, 1996; Wilson et al., 1999; Pung y Cross, 2000). Por otra parte, el tratamiento convencional (estreptomocina + oxitetraciclina, fluoxastrobin y procloraz), en donde se usó semilla asintomática, mostró diferencia significativa ($p < 0,001$) con respecto al resto de los tratamientos, con una reducción media de la severidad de 52,18% a través de los dos años, lo que indicó que una manera eficiente de minimizar daños en cosecha, es utilizar semilla certificada libre de la enfermedad.

La sarna común es un problema fitosanitario que en los años 2008 a 2011 se incrementó en los campos de papa del sur de Sonora y norte de Sinaloa, México, por lo que existe la necesidad de evaluar diferentes medidas de control químico, biológico, genético y cultural, además de tomar en consideración factores como densidad de inóculo en el suelo, años consecutivos sembrando papa, pH y humedad del suelo, temperatura y fertilización (Stevenson et al., 2001; Waterer, 2002;

Tabla 2. Comparaciones múltiples de medias para el porcentaje de severidad de la sarna común (*Streptomyces scabies*) en tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) sometidos a diferentes tratamientos en el Valle del Mayo, Sonora, México, durante los ciclos 2011 y 2012.

Table 2. Multiple comparisons of means for the severity percentage of common scab (*Streptomyces scabies*) in potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers exposed to different treatments in the Mayo Valley, Sonora, Mexico, during the seasons 2011 and 2012.

Tratamiento	Medias de severidad*		
	2011	2012	Combinado
	----- % -----		
Tratamiento convencional	20,5 e	22,5 c	21,5 d
Fluazinam	49,5 d	49,8 b	49,6 c
Estreptomocina + oxitetraciclina	51,3 cd	51 b	51,1 c
Clorotalonil	51,5 bcd	51,25 b	51,4 c
Mancozeb	52,5 bcd	53 b	52,8 bc
Hidróxido cúprico	54,3 bcd	54,3 b	54,3 bc
Bacterias antagonicas	57 bc	56,8 b	56,9 b
Testigo	73,5 a	73,9 a	73,7 a
Media	51,9	52,1	52,0
CV	4,7	6,4	5,6
DMS	5,9	8,04	4,7

* Medias dentro de columnas con letras iguales no son diferentes estadísticamente, LSD ($p \leq 0,05$).

Mishra y Srivastava, 2004). En este estudio se observó que la utilización de una sola medida de control, no proporcionó un nivel de control aceptable de la enfermedad, por lo que se sugiere llevar a cabo trabajos que integren varios métodos de control con la finalidad de obtener resultados más favorables.

CONCLUSIONES

Mediante la combinación de análisis morfológicos, bioquímicos, moleculares y patogénicos, se identificó a *Streptomyces scabies* como el agente causal de los síntomas de sarna y pudrición de tubérculos de papa en el Valle del Mayo, Sonora, México.

Los productos a base de fluazinam, oxitetraciclina + estreptomycin, clorotalonil y mancozeb presentaron capacidad para reducir la severidad de la enfermedad causada por *S. scabies* en semillas de papa.

LITERATURA CITADA

- Bell, K.S., J. Roberts, S. Verral, D.W. Cullen, N.A. Williams, and J.G. Harrison. 1999. Detection and quantification of *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea* in soils and on tubers using specific primers PCR primers. European Journal of Plant Pathology 105(9):905-915.
- Bouchek-Mechiche, K., L. Gardan, P. Normand, and B. Jouan. 2000. DNA relatedness among strains of *Streptomyces* pathogenic to potato in France: description of three new species, *S. europeiscabiei* sp. nov. and *S. stelliscabiei* sp. nov. associated with common scab, and *S. reticuliscabiei* sp. nov. associated with netted scab. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 50:91-99.
- Fuentes, D.G., y V.J.M. Valenzuela. 2011. Monitoreo de la roña de la papa en campos comerciales del Sur de Sonora. 10 p. Campo experimental Norman E. Borlaug-CIRNO-INIFAP, Cd. Obregón, Sonora, México.
- Han, J.S., J.H. Cheng, T.M. Yoon, J. Son, A. Rajkarnikar, W.G. Kim, T.D. Yoo, Y.Y. Yang, and J.W. Suh. 2005. Biological control agent of common scab disease by antagonistic strain *Bacillus* sp. sunhua. J. Appl. Microbiol. 99:213-221.
- James, W.C. 1971. A Manual of Assessment Keys for Plant Diseases. Can. Plant Dis. Sur. 51(2):39-65.
- Khan, R.A.U., D.I. Khan, I. Haq, I. Hussain, M. Sajid, and S.A. Siddiqui. 2003. Control of common scab of potato through seed treatment. Pakis. J. Plant Pathol. 2(3):141-144.
- Lambert, D.H., and R. Loria. 1989a. *Streptomyces scabies* sp. nov., nom. rev. Int. J. Syst. Bacteriol. 39:387-392.
- Lambert, D.H., and R. Loria. 1989b. *Streptomyces acidiscabies* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 39:393-396.
- Lehtonen, M.J., H. Rantala, J.F. Kreuze, H. Bang, L. Kuisma, P. Koski, E. Virtanen, K. Vihlman, and 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 Pathol. 53:280-287.
- Leiner, R.H., B.A. Fry, D.E. Carling, and R. Loria. 1996. Probable involvement of thaxtomin A in pathogenicity of *Streptomyces scabies* on seedlings. Phytopathology 86:709-713.
- Lerat, Y., A.M. Simao-Beaunoir, and C. Beaulieu. 2009. Genetic and physiological determinants of *Streptomyces scabies* pathogenicity. Mol. Plant Pathol. 10(5):579-585.
- Lindholm, P., H. Kortemaa, M. Kokkola, K. Haah-tela, M. Salkinoja-Salonen, and J.P.T. Valkonen. 1997. *Streptomyces* spp. isolated from potato scab lesions under Nordic conditions in Finland. Plant Disease 81:1317-1322.
- Llop, P., P. Caruso, J. Cubero, C. Morente, and M.M. López. 1999. A simple extraction procedure for efficient routine detection of pathogenic bacteria in plant material by polymerase chain reaction. Journal of Microbiological Methods 37:23-31.
- Loria, R., R.A. Bukhalid, B.A. Fry, and R.R. King. 1997. Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. Plant Disease 81:836-846.
- Loria, R., C.A. Clark, R.A. Bukhalid, and B.A. Fry. 2001. Gram-positive bacteria. *Streptomyces*. p. 236-249. In N.W. Schaad, J.B. Jones, and W. Chun (eds.). Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. Third ed.. APS Press., St. Paul, Minnesota, USA.
- Loria, R., J. Kers, and M. Joshi. 2006. Evolution of plant pathogenicity in *Streptomyces*. Annu. Rev. Phytopathol. 44:469-487.
- Miyajima, K., F. Tanaka, T. Takeuchi, and S. Kunitanaga. 1998. *Streptomyces turgidiscabies* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 48:495-502.
- Mishra, K.K., and J.S. Srivastava. 2001. Screening potato cultivars for common scab of potato in naturally infested field. Potato Res. 44:19-24.
- Mishra, K.K., and J.S. Srivastava. 2004. Soil amendments to control common scab of potato. Potato Res. 47:101-109.
- Pánková, I., V. Sedláková, P. Sedlák, and V. Krejzar. 2012. The occurrence of plant pathogenic *Streptomyces* spp. in potato-growing regions in Central Europe. Am. J. Potato Res. 89:207-215.
- Park, Y.B., H.J. Kang, C.G. Been, Y.H. Choi, and

- Y.W. Choi. 2002. Chemical control of potato common scab (*Streptomyces scabies*). Kor. J. Hort. Sci. Tech. 20:319-324.
- Pung, H., and S. Cross. 2000. Common scab – Incidence on seed potatoes and seed-borne disease control. p. 81-84. In C.M. Williams and L.J. Walters (eds.). Potatoes 2000 “ Linking research to practice”. Australian Potato Research, Adelaide, South Australia.
- Rete, C.A., M.M. Espinoza, C.M. Santos, L.J. Méndez, G.R. Félix, y L.N. Leyva. 2010. Identificación y caracterización de *Streptomyces* spp. en el cultivo de papa en Sinaloa. In Memoria del XIII Congreso Nacional de Papa. 83 p. 9 al 11 septiembre 2010. Tapalpa, Jalisco, México.
- Rubio, M.P. 2010. Control químico de roña común *Streptomyces scabies* en el cultivo de papa. In Memoria del XIII Congreso Nacional de papa. 83 p. Tapalpa, Jalisco, México.
- SAS. 2003. Version 9.1. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- Shirling, E.B., and D. Gottlieb. 1966. Methods for characterization of *Streptomyces* species. Int. J. Syst. Bacteriol. 16:313-340.
- Shurtleff, M.C., and C.W. Averre. 1999. The Plant Disease Clinic and Field Diagnosis of Abiotic Diseases. 245 p. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- SIAP. 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en www.siap.gob.mx. (Consulta 20 noviembre 2012).
- Stead, D., and S. Wale. 2004. Non-water control measures for potato common scab. 49 p. British Potato Council, Oxford, UK.
- Stevenson, W.R. and R.V. James. 1995. Evaluation of chemical and biological treatments to control common scab-Antigo. p. 67-72. Wisconsin Vegetable Disease Control Trials, 1995 Field Trials Report. University of Wisconsin, Wisconsin, Madison, USA.
- Stevenson, W.R. and R.V. James. 1996. Evaluation of chemical treatments to control common scab-Antigo, 1996. p. 75-76. Wisconsin Vegetable Disease Control Trials 1995 Field Trials Report, University of Wisconsin, Wisconsin, USA.
- Stevenson, W.R., R. Loria, G.D. Franc, and D.P. Weingartner. 2001. Compendium of Potato Diseases. 144 p. 2nd. ed. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA.
- Takeuchi, T., H. Sawada, F. Tanaka, and I. Mad-suda. 1996. Phylogenetic analysis of *Streptomyces* spp. causing potato scab based on 16S rRNA sequences. Int. J. Syst. Bacteriol. 46(2):476-479.
- Townsend, C.R., and J.W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by disease in fungicide experiments. Plant Disease Report 27:340-343.
- Waterer, D.R. 2002. Impact of high soil pH on potato fields and grade losses to common scab. Can. J. Plant Sci. 82(3):583-586.
- Wiechel, T.J., and N.S. Crump. 2010. Soil nutrition and common scab disease of potato in Australia. p. 237-240. 19th World Congress of Soil Science, Soil Solutions for a Changing World. 1-6 August 2010. Brisbane, Australia.
- Wilson, C.R., L.M. Ransom, and B.M. Pemberton. 1999. The relative importance of seed-born inoculums to common scab disease of potato and the efficacy of seed tuber and soil treatments for disease control. J. Phytopathology 147(1):13-18.