



**Universitat de les  
Illes Balears**

ENGINYERIA TÈCNICA AGRÍCOLA, ESPECIALITAT  
HORTOFRUCTICULTURA I JARDINERIA

**IDENTIFICACIÓ I DETERMINACIÓ DE L'AFECCIÓ PER  
SARNA COMUNA (*Streptomyces* spp.) DE LA PATATA  
DE SEMBRA DEL CICLE EXTRAPRIMERENC A  
MALLORCA. RELACIÓ AMB ELS RENDIMENTS I LA  
QUALITAT DEL CULTIU.**

Projecte de final de carrera

Alumne: Sebastià Ordinas i Capó

Tutors: Andreu Juan Serra i Diego Olmo García

Juliol 2012

UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS  
ENGINYERIA TÈCNICA AGRÍCOLA, ESPECIALITAT  
HORTOFRUCTICULTURA I JARDINERIA

PROJECTE FINAL DE CARRERA

**IDENTIFICACIÓ I DETERMINACIÓ DE L'AFECCIÓ PER  
SARNA COMUNA (*Streptomyces* spp.) DE LA PATATA  
DE SEMBRA DEL CICLE EXTRAPRIMERENC A  
MALLORCA. RELACIÓ AMB ELS RENDIMENTS I LA  
QUALITAT DEL CULTIU.**

*Per Maria Capó Vich,  
ma mare, pel seu coratge*

# IDENTIFICACIÓ I DETERMINACIÓ DE L'AFECCIÓ PER SARNA COMUNA (*Streptomyces* spp.) DE LA PATATA DE SEMBRA DEL CICLE EXTRAPRIMERENC A MALLORCA. RELACIÓ AMB ELS RENDIMENTS I LA QUALITAT DEL CULTIU

## RESUM

El cultiu de la patata és molt important a Mallorca, especialment el cicle extra primerenc o d'exportació, en el que s'utilitza patata de sembra importada, generalment del nord d'Europa i moltes vegades amb presència de símptomes de sarna comuna.

La sarna comuna és una malaltia ocasionada per diverses espècies fitopatògenes del gènere *Streptomyces*, presents a tots els indrets on es cultiva patata, on conviu amb altres *Streptomyces* no fitopatògenes. La caracterització i identificació de les espècies d' *Streptomyces* es complexa, però la patogenicitat està molt estudiada i es relaciona amb uns gens que codifiquen la producció d'una toxina anomenada zaxtomina.

Amb aquests antecedents ens plantejarem prospectar mostres de patata de sembra per al cicle extra primerenc a Mallorca, determinant el grau d'afecció per sarna, identificant els organismes causants, i avaluant la seva patogenicitat mitjançant la tècnica PCR, aprofitant per comparar dos mètodes d'extracció d'ADN d'*Streptomyces*. També es va analitzar el sòl de les parcel·les per determinar la presència d'*Streptomyces* i es varen comparar els rendiments del cultiu i la qualitat de la patata en la collita de parcel·les sembrades amb patates afectades i sanes.

De les 42 mostres prospectades de patata de sembra, es trobaren 22 mostres amb presència de símptomes de sarna comuna. Es va aconseguir aïllar bacteris amb morfologia característica d'*Streptomyces* sp. en 19 de les 22 mostres amb símptomes. La identificació segons la morfologia de les hifes, va mostrar que majoritàriament es tractava d'*Streptomyces acidiscabies*. D'aquest 19 aïllaments obtinguts d'*Streptomyces* sp. 15 són positius i 4 són negatius amb dos mètodes de PCR que detecten els gens de la zaxtomina.

D'altra banda, partint de 19 mostres de terra, tan sols s'ha aconseguit aïllar *Streptomyces sp.*, en 8 dels casos i d'aquests, només 3 han resultat ser patògenes segons els resultats de les PCR, però en tots casos amb miceli espiralat que correspondria a *Streptomyces scabies*.

Pel que respecta a la producció, fent una anàlisi estadística es desprèn que la presència d'*Streptomyces sp.* a la patata de sembra, sense tenir en compte factors com les condicions edafològiques, l'adob, el reg o el maneig del cultiu per part del pagès, no afecta al rendiment.

De les anàlisis de terra en comparació amb les anàlisis de tubercles, podem formular l'hipòtesi que *Streptomyces acidiscabies* està adaptada a viure a sòls àcids i si és introduïda a sòls de Mallorca, aquest no sobreviurà i no es transmetrà a les patates de consum.

## Agraïments

Vull comunicar el meu agraïment a totes aquelles persones que han fet possible l'elaboració d'aquest projecte:

- Als pagesos de les finques per permetre el meu intrusisme.
- Als tècnics de les empreses de transformació; Guillermo Gavilla Kalaf (Vda Antoni Serra SA), Héloïse Ruyant (Esplet SAT), Joana Maria Font Esteva (Illacamp SAT) i Pedro Munar Jaume (Mateu&UCO SA), per tota l'ajuda facilitada.
- A Maribel Rosselló, de *Semilla* per acompanyar-me a la recollida de mostres.
- A Alícia Nieto per ajudar-me amb tot allò necessari dins el laboratori de Sanitat Vegetal i al coneixement de la tècnica PCR.
- A Jaume Vadell Adrover, per l'ajuda amb els mapes edafològics.
- A Ana González, per les tasques amb el Nanodrop®.
- A Joana Herrera, per ser-hi durant els bons i mals moments.
- Als companys d'Enginyeria Tècnica Agrícola; Jaume, Miquela, Pep, Joan, etc.
- A la família pel suport durant els moments de desànim.
- I sobretot als tutors Diego Olmo García i Andreu Juan Serra, que gràcies a ells aquest projecte ha pogut ser una realitat.

# SUMARI

|                                                                                                        |               |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| <b>1.-ANTECEDENTS</b>                                                                                  | <b>- 13 -</b> |
| 1.1.- HISTÒRIA DEL CULTIU DE LA PATATA.                                                                | - 13 -        |
| 1.1.1.- Introducció a la història del cultiu de la patata.                                             | - 13 -        |
| 1.1.2.- Primers avanços de la patata a Europa.                                                         | - 14 -        |
| 1.1.3.- Desenvolupament del cultiu.                                                                    | - 15 -        |
| 1.1.4.- Aportació de Parmentier.                                                                       | - 16 -        |
| 1.1.5.- Conseqüències de la selecció.                                                                  | - 17 -        |
| 1.1.6.- Aparició de les malalties i plagues de la patata.                                              | - 17 -        |
| 1.2.- IMPORTÀNCIA ECONÒMICA DEL CULTIU A L'ILLA DE MALLORCA.                                           | - 18 -        |
| 1.3.- BOTÀNICA.                                                                                        | - 24 -        |
| 1.3.1.- Taxonomia.                                                                                     | - 24 -        |
| 1.3.2.- Part aèria                                                                                     | - 26 -        |
| 1.3.3.- Part subterrània                                                                               | - 28 -        |
| 1.3.4.- Material vegetal                                                                               | - 29 -        |
| 1.4.- FITOTÈCNIA DEL CULTIU.                                                                           | - 29 -        |
| 1.4.1.- Labors de preparació del terreny                                                               | - 29 -        |
| 1.4.2.- Pla d'adobat.                                                                                  | - 31 -        |
| 1.4.3.- Marc de plantació                                                                              | - 32 -        |
| 1.4.4.- Labors de cultiu                                                                               | - 32 -        |
| 1.4.5.- Recol·lecció                                                                                   | - 33 -        |
| 1.4.6.- Conservació dels tubercles                                                                     | - 33 -        |
| 1.4.7.- Exigències en clima i sòl                                                                      | - 33 -        |
| 1.5.- PRINCIPALS PLAGUES I MALALTIES                                                                   | - 34 -        |
| 1.5.1.- Plagues                                                                                        | - 34 -        |
| 1.5.1.1.- Escarabat de la patata ( <i>Leptinotarsa decemlineata</i> )                                  | - 34 -        |
| 1.5.1.2.- Arna de la patata ( <i>Phthorimaea operculella</i> )                                         | - 35 -        |
| 1.5.1.3.- Cuc de rossinyol ( <i>Agriotes sp.</i> )                                                     | - 36 -        |
| 1.5.1.4.- Pugons                                                                                       | - 36 -        |
| 1.5.2.- Malalties                                                                                      | - 37 -        |
| 1.5.2.1.- Mildiu ( <i>Phytophthora infestans</i> )                                                     | - 37 -        |
| 1.5.2.2.- <i>Alternaria solani</i>                                                                     | - 37 -        |
| 1.5.2.3.- Rizoctònia de la patata ( <i>Rhizoctonia solani</i> )                                        | - 38 -        |
| 1.5.2.4.- <i>Fusarium solani</i>                                                                       | - 39 -        |
| 1.5.2.5.- Peu negre ( <i>Pectobacterium spp.</i> )                                                     | - 39 -        |
| 1.5.2.6.- Sarna pulverulenta ( <i>Spongospora subterranea</i> )                                        | - 40 -        |
| 1.5.2.7.- Virus Y de la patata (PVY)                                                                   | - 41 -        |
| 1.5.2.8.- Nemàtodes dels quists ( <i>Globodera sp.</i> )                                               | - 41 -        |
| 1.6.- LA SARNA COMUNA DE LA PATATA ( <i>STREPTOMYCES SP.</i> )                                         | - 44 -        |
| 1.6.1.- Morfologia de les colònies                                                                     | - 44 -        |
| 1.6.2.- Síntomatologia                                                                                 | - 45 -        |
| 1.6.3.- Control                                                                                        | - 47 -        |
| 1.6.4.- La tècnica PCR en la detecció d' <i>Streptomyces sp.</i> causants de sarna comuna de la patata | - 48 -        |
| 1.6.4.1.- Aspectes generals                                                                            | - 48 -        |
| 1.6.4.2.- PCR en <i>Streptomyces sp.</i> patògens en patata, els gens de la zaxtomina.                 | - 52 -        |

|                                                                         |               |
|-------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 1.7.- LEGISLACIÓ RELATIVA AL MATERIAL DE PLANTACIÓ                      | - 54 -        |
| <b>2.- OBJECTIUS</b>                                                    | <b>- 56 -</b> |
| <b>3.- MATERIAL I MÈTODES</b>                                           | <b>- 58 -</b> |
| 3.1.- RECOLLIDA DE MOSTRES DE TUBERCLES I TERRA                         | - 58 -        |
| 3.2.- AÏLLAMENT EN MEDI DE CULTIU                                       | - 59 -        |
| 3.2.1.- En patata                                                       | - 59 -        |
| 3.2.2.- En terra                                                        | - 60 -        |
| 3.3.- ANÀLISI PER PCR                                                   | - 61 -        |
| 3.3.1.- Extracció de l'ADN d' <i>Streptomyces sp.</i>                   | - 61 -        |
| 3.3.2.- Detecció d' <i>Streptomyces</i> patògens mitjançant PCR         | - 62 -        |
| 3.3.3.- Identificació d'espècies d' <i>Streptomyces</i> mitjançant PCR. | - 66 -        |
| <b>4.- RESULTATS I DISCUSSIÓ</b>                                        | <b>- 68 -</b> |
| <b>6.-CONCLUSIONS</b>                                                   | <b>- 87 -</b> |
| <b>7.- BIBLIOGRAFIA</b>                                                 | <b>- 89 -</b> |



## ÍNDIX DE TAULES

|                                                                                                                  |        |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| TAULA 1- HECTÀREES CULTIVADES DE PATATA A MALLORCA,<br>ALS DARRERS 6 ANYS, AMB LA PRODUCCIÓ I EL VALOR CULTIVAT. | - 19 - |
| TAULA 2- DISTRIBUCIÓ DE LES EXPLOTACIONS DE PATATA,<br>DEPENENT DE LA SUPERFÍCIE.                                | - 20 - |
| TAULA 3 - SUPERFÍCIE DESTINADA A CADA CICLE DE CULTIU,<br>EL SEU RENDIMENT I LES PRODUCCIONS TOTALS.             | - 23 - |
| TAULA 4- VARIETATS MÉS CULTIVADES ACTUALMENT A MALLORCA,<br>SEGONS EL CICLE DE CULTIU I EL COLOR DE LA POLPA.    | - 24 - |
| TAULA 5- CONDICIONS ESTÀNDARD PER UNA AMPLIFICACIÓ<br>D'ADN MITJANÇANT PCR.                                      | - 50 - |
| TAULA 6- REQUISITS QUE HA DE COMPLIR LA PATATA DE SEMBRA                                                         | - 54 - |
| TAULA 7- SEQÜÈNCIES DELS ENCEBADORS ESPECÍFICS PER LA DETECCIÓ<br>D' <i>STREPTOMYCES</i> PATÒGENES.              | - 62 - |
| TAULA 8 - CONDICIONS DE LES PCR ASSAJADES                                                                        | - 65 - |
| TAULA 9 – ENCEBADORS ASSAJATS PER LA DIFERENCIACIÓ D'ESPÈCIES<br>D' <i>STREPTOMYCES</i> .                        | - 66 - |
| TAULA 10 - DADES DE LES PROSPECCIONS DE PATATA DE SEMBRA                                                         | - 69 - |
| TAULA 11 - ASPECTES MORFOLÒGICS ANALITZATS DELS <i>STREPTOMYCES SP.</i>                                          | - 71 - |
| TAULA 13- COMPARATIVA DELS MÈTODES D'EXTRACCIÓ D'ADN                                                             | - 75 - |
| TAULA 14 - PATOGENEÏCITAT D' <i>STREPTOMYCES</i> MITJANÇANT LA PCR.                                              | - 76 - |
| TAULA 15- RENDIMENTS DE COLLITA DE PATATA DE LLAVOR<br>NO AFECTADA PER <i>STREPTOMYCES SP.</i>                   | - 78 - |
| TAULA 16- RENDIMENTS DE COLLITA DE PATATA DE LLAVOR<br>AFECTADA PER <i>STREPTOMYCES SP.</i>                      | - 79 - |

## ÍNDIX DE FIGURES

|                                                                                                  |        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| FIG. 1- REPRESENTACIÓ GRÀFICA DELS CICLES DE CULTIU DE PATATA MÉS HABITUALS A LES ILLES BALEARS. | - 21 - |
| FIG. 2- SUPERFÍCIE SEMBRADA DE PATATA DEPENDENT DELS CICLES DE CULTIU A L'ANY 2010.              | - 22 - |
| FIG. 3- DISTRIBUCIÓ ORIGINAL DE <i>SOLANUM TUBEROSUM</i> SILVESTRE.                              | - 25 - |
| FIG. 4- PART AÈRIA D'UNA PATATERA.                                                               | - 27 - |
| FIG. 5- DETALL DE LA FLOR DE PATATERA.                                                           | - 27 - |
| FIG. 6- TUBERCLES DE PATATA.                                                                     | - 28 - |
| FIG. 7- LABOR DE SUBSOLAT PRÈVIA A LA PLANTACIÓ.                                                 | - 30 - |
| FIG. 8- PASSADA D'ARADA A 35-40 CM DE PROFUNDITAT.                                               | - 30 - |
| FIG. 9- SEMBRADORA DE PATATES.                                                                   | - 32 - |
| FIG.10- MÀQUINA RECOL·LECTORA DE PATATES A SA POBLA.                                             | - 33 - |
| FIG. 11- <i>LEPTINOTARSA DECEMLINEATA</i>                                                        | - 42 - |
| FIG. 12 - <i>PHTORIMAEA OPERCULELLA</i>                                                          | - 42 - |
| FIG. 13 - <i>AGRIOTES SP.</i>                                                                    | - 42 - |
| FIG. 14 - PUGONS                                                                                 | - 42 - |
| FIG. 15 - <i>PHYTOPHTORA INFESTANS</i>                                                           | - 42 - |
| FIG. 16 - <i>GLOBODERA SP.</i>                                                                   | - 42 - |
| FIG. 17 - <i>ALTERNARIA SOLANI</i>                                                               | - 43 - |
| FIG. 18 - <i>RHIZOCTONIA SOLANI</i>                                                              | - 43 - |
| FIG. 19 - SARNA COMUNA                                                                           | - 43 - |
| FIG. 20 - <i>FUSARIUM SOLANI</i>                                                                 | - 43 - |
| FIG. 21 - <i>PECTOBACTERIUM SP</i>                                                               | - 43 - |
| FIG. 22 - PVY                                                                                    | - 43 - |
| FIG. 23 – MICELI LLIS D' <i>S. ACIDISCABIES</i>                                                  | - 45 - |

|                                                                                                                                                                             |        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| FIG. 24 – MICELI ESPIRALAT D' <i>S. SCABIES</i>                                                                                                                             | - 45 - |
| FIG. 25 - CULTIU D' <i>STREPTOMYCES SP.</i> AÏLLAT DE PATATA<br>EN MEDI D'AÏLLAMENT NCPP.                                                                                   | - 45 - |
| FIG. 26 – CULTIU DE <i>STREPTOMYCES SP.</i> AÏLLAT DE PATATA<br>EN MEDI DE CREIXEMENT YME.                                                                                  | - 45 - |
| FIG. 27 - CICLE BIOLÒGIC DEL BACTERI <i>STREPTOMYCES SCABIES</i>                                                                                                            | - 46 - |
| FIG. 28- REPRESENTACIÓ ESQUEMÀTICA DEL PROCÉS GENERAL D'UNA<br>AMPLIFICACIÓ D'ADN MITJANÇANT PCR.                                                                           | - 49 - |
| FIG. 29 - COMPARATIVA ENTRE PAÏSOS PRODUCTORS DE PATATA DE SEMBRA<br>I AÏLLAMENTS D' <i>STREPTOMYCES SP.</i> POSITIUS.                                                      | - 70 - |
| FIG. 30- EXEMPLE D'UN DELS RESULTATS DE LA PCR AMB ELS<br>ENCEBADORS STX 1A/1B                                                                                              | - 77 - |
| FIG. 31- EXEMPLE D'UN DELS RESULTATS DE LA PCR AMB ELS<br>ENCEBADORS TXTAB                                                                                                  | - 77 - |
| FIG. 32- RELACIÓ PERCENTUAL D' <i>STREPTOMYCES SP.</i> A LA PATATA DE SEMBRA<br>AMB LA PRODUCCIÓ DE LA VARIETAT MARIS PEER AL CICLE DE CULTIU EXTRA<br>PRIMERENC A MALLORCA | - 81 - |
| FIG. 33-MAPA D'ACIDES A DE SÒLS D'EUROPA                                                                                                                                    | - 84 - |

## **1. ANTECEDENTS**

## 1.-Antecedents

### 1.1.- Història del cultiu de la patata.

#### 1.1.1.- Introducció a la història del cultiu de la patata.

Citen a la mongeta i a les cucurbitàcies com a plantes cultivades al voltant de 10.000 anys a.C i algunes patates uns 8000 a.C. És probable que altres plantes amb tubercles hagin estat produïdes també a aquest període, com *Ullucus tuberosus* Loz. i *Chenopodium quinoa* Wild. Les pràctiques agrícoles i la domesticació de la llama es desenvolupà a les muntanyes i a les costes d'Amèrica del sud a partir del 1900 a.C., després d'un període de temps molt llarg, de 2.000 a 3.000 anys, durant el qual de manera contínua, va néixer l'agricultura sud-americana amb intercanvis entre la muntanya i les costes. Entre les plantes que es cultivaven, les patates ja hi eren presents, encara que, els tubercles d'aquestes espècies tenien un gust amarg i un contingut important d'alcaloids tòxics. Es pot suposar que les primeres passes amb l'adaptació d'aquestes plantes han estat l'apreciació i la selecció pels éssers humans dels clons menys amargs i menys tòxics.

L'aparició dels diploides, sense alcaloides, ha estat probablement una de les primeres etapes de l'agricultura andina. Per tant, la introducció del cultiu de la patata, començà per difusió a través de la serralada andina i les plantes diploides i tetraploides provindrien de la regió central de Bolívia i Perú. Aquest cultiu fou posteriorment redescubert pels europeus.

Per tant, podem concloure, que la patata ha estat domesticada al voltant de 9.000 anys enrera i que els seus senyals han estat conservats gràcies al clima sec de la costa peruana.

L'any 1536, una expedició en nom de Jiménez de Quesada, descobrí els altiplans de Colòmbia, habitats per indis "chichas". Pot ser que fou allà on es

descobriessin al 1537 les primeres patates, a l'actual província de Vélez. Les més conegudes i primeres descripcions de la patata es deuen a Pedro Cieza de León (1520-1554), un jove soldat de l'exèrcit de Sebastián de Belalcázar, que participà a la conquesta d'Equador, l'any 1538, durant la llarga expedició la seva alimentació fou a base de patata.

#### 1.1.2.- Primers avanços de la patata a Europa.

##### Via Espanya

Un personatge clau dins la difusió d'aquesta planta mitjançant els jardins botànics europeus fou Charles de l'Ecluse, anomenat Clusius, qui al gener de 1588 rebé dos tubercles de patata de Philippe de Sivery, governador de Mons.

No obstant això, la primera descripció botànica de la planta, es deu a G.Bauhin al 1596. Un segle abans que ho féu Linneu, l'hi assigna el nom de *Solanum tuberosum*, afegint-l'hi la paraula *esculentum*. Les descripcions botàniques proporcionen indicacions sobre els llocs i les dates dels primers cultius de la patata a Europa, encara que s'hagin de fer certes distincions entre els exemplars dels jardins botànics i un producte agrícola com l'entendem a dia d'avui.

A l'any 1566 es troben senyals de consum de patates a Sevilla. L'Hospital de la Sang havia comprat patates pels seus malalts, al 1573, al darrer trimestre de l'any, la qual cosa indica que havien estat recol·lectades a Espanya, ja que les patates sembrades a Amèrica del Sud, i recollides al març-abril, no podrien ser consumides a Europa després del setembre. Es pot pensar que els primers camps sembrats amb patata foren entre el 1564 i el 1573. Aquelles primeres patates eren de la subespècie *andigena*.

També s'ha de dir que durant molt de temps es confongué el concepte de tubercle. La primera planta tuberitzada que arribà a Europa fou probablement la batata (*Ipomea batatas* L.) que Cristòbal Colón transportà a Espanya i el cultiu de la qual s'establí abans del 1516. El fet és que el terme "patata" servia a Anglaterra per descriure les dues espècies, fins que a finals de segle XVI, Gerard emprava el terme *common potato* per la batata i el de *Potato of Virginia* per la patata. Això ens condueix a l'altra porta d'entrada de la patata a Europa.

#### Via Anglaterra

La data d'introducció de la patata a les Illes Britàniques es situa entre els anys 1586 i 1592. A Irlanda la patata es va introduir amb èxit, amb uns rendiments superiors en comparació a la resta de produccions. Les primeres notícies respecte al seu cultiu a Irlanda és datat al 1606 i no cedeix el seu desenvolupament durant tot el segle XVII. El clima suau i l'entorn, afavoriren a més aquest desenvolupament que s'accentuà encara més durant el període bèlic amb l'Anglaterra comandada per Cromwell (1649-1650), ja que els tubercles podien romandre baix terra, mentre que els altres productes agrícoles eren destruïts per l'acció de la guerra. Així, progressivament el sector de la patata fou predominant.

#### Introducció a França

Per diversos camins es va introduir la patata a França, encara que existeixen poques dades d'una aportació directa des d'Itàlia o d'Espanya, i pareix ser que fou introduïda principalment des de Suïssa.

#### 1.1.3.- Desenvolupament del cultiu.

Realment el desenvolupament del cultiu comença durant el segle XVIII. A partir d'una producció marginal, cultivada sobre guarets i canyissars, la patata progressivament arriba a una important situació, encara que alguns factors han

frenat el seu desenvolupament i aturat l'expansió. Tres factors, influïren amb el retard del desenvolupament de la patata:

- En quant al factor cultural, el rebuig d'aquest nou producte, ve molt lligat amb les supersticions religioses de l'Edat Mitjana encara dominants sobre que el Mal (l'infern) es troba sota terra.
- En relació al factor biològic, les primeres patates cultivades són considerades com obtingudes als Andes peruans. Els tubercles, encara no seleccionats, presentaven freqüentment un gust amarg, que no ajudava gens al desenvolupament del cultiu.
- Les estructures agràries del començament del segle XVIII no afavorien la introducció de nous cultius encara que els factors socioeconòmics; les fams permanents i les guerres devastadores obligaren a la població rural a desenvolupar la producció de patates. Després dels períodes de fam de 1750 i 1770 a França, la Facultat de Medicina de París emeté un comunicat favorable sobre la qualitat d'aquest aliment.

Durant molt de temps es considerà la patata com un aliment destinat a la població rural i urbana pobre, reservant-se el blat pels més rics. És dins aquest context on s'ha de situar la intervenció de l'agrònom francès Antoine-Augustin de Parmentier, considerat un de los majors impulsors del consum de la patata.

#### 1.1.4.- Aportació de Parmentier.

Des de la fam de 1770, es va començar a sentir una seriosa preocupació per la millora de la producció agrícola. Per fomentar la patata, Parmentier, multiplica les seves activitats que són dignes dels grans agents de publicitat. Per exemple, per convèncer a la Cort, va oferir a Lluís XVI durant la celebració de Sant Lluís un paner ple de tubercles.



Parmentier, com altres científics de l'època, obrí la porta de l'agricultura del segle XIX, on es va desenvolupar considerablement la producció de patata.

#### 1.1.5.- Conseqüències de la selecció.

La difusió de la patata només està lligada a la modificació de les estructures socioeconòmiques i a la feina exemplar de Parmentier. El treball dels seleccionadors començava a donar els seus fruits i contribuïa a valoritzar el cultiu.

És probablement a la segona meitat del segle XVIII quan es desenvolupa un nombre important de varietats aconseguides per llavorer, que van contribuir a una vertadera explosió varietal al segle XIX. Ja al 1777, l'agrònom Engel descriví més de quaranta varietats basant-se amb els colors i les formes del tubercle.

Al 1810 la Societat Imperial d'Agricultura de França contempla 110 varietats. Al catàleg Vilmorin de 1846 en reuneix 177 i el de 1880 en proposa 630. A finals de segle XIX es troben més de 1.000 varietats i al 1920 ja es sobrepassen les 2.000. Aquesta selecció s'inicia gairebé al mateix temps que es comença a cultivar de manera generalitzada a Europa. Aquest increment final de nombre de varietats es deu en part als nous coneixements de genètica i d'hibridació de finals de segle XIX, encara que també a la necessitat de trobar noves varietats resistents al mildiu, una vegada aquesta malaltia esdevingués una problemàtica important pel desenvolupament del cultiu.

#### 1.1.6.- Aparició de les malalties i plagues de la patata.

La importància del cultiu al segle XIX, l'extensió de les superfícies cultivades, la concentració (gairebé un monocultiu) d'algunes regions que l'havien adoptat, com és el cas d'Irlanda, feia que aquest nou producte fos vulnerable a les epidèmies. Va ser molt notable l'atac de mildiu (*Phytophthora infestans* (Mont.)

De Bary) a Irlanda que va provocar la gran fam del segle XIX i va obligar a més d'un milió d'irlandesos a emigrar, fonamentalment als Estats Units.

Hem d'esperar al període 1882-1885 perquè es descobreixi el remei contra el mildiu, quan Alexis Millardet, posà apunt els mètodes de tractament basats en la utilització de sals de coure.

Trenta anys més tard, una nova plaga afecta greument a les patates dels Estats Units, l'escarabat de la patata, *Leptinotarsa decemlineata* Say. Aquest insecte, que no es coneixia a Europa, vivia a les Muntanyes Rocoses i s'alimentava inicialment d'una solanàcia adventícia. Es va convertir en la plaga més important del cultiu de la patata. A Europa es comença a sentir preocupació des de l'any 1874, any que probablement arribà l'insecte. Descobert i ràpidament erradicat a Alemanya, l'any 1877, 1888 i 1914, a Anglaterra al 1901, i no és fins al 1922, quan comença la vertadera invasió a partir del port de Burdeus.

La història de la patata demostra clarament les dificultats d'adaptació d'un producte nou, el paper de les societats i de la seva cultura juntament amb l'equilibri sempre inestable que representa una gran superfície cultivada amb la temptativa de la naturalesa de voler tornar a un nivell d'equilibri planta/paràsit més estable encara que menys productiu.

## 1.2.- Importància econòmica del cultiu a l'illa de Mallorca.

El 75% de la patata sembrada a Mallorca es cultiva a la zona de Sa Pobla i Muro, que a afectes agrícoles abarca els municipis de Sa Pobla, Muro, Inca, Llubí, Búger, Campanet i Alcúdia. Es cultiven entre 1.000 i 1.100 Ha a Sa Pobla i entre 600 i 700 Ha a Muro, per tant, podem afirmar que aquests dos municipis són els més importants en la producció de patata a l'illa de Mallorca, representant prop del 55% de la superfície de regadiu cultivada a Mallorca (Mayol B., 1995).

*Taula 1- Hectàrees cultivades de patata a Mallorca, als darrers 6 anys,  
amb la producció i el valor cultivat.*

| Any         | Ha    | Tones  | €/100kg | Euros      |
|-------------|-------|--------|---------|------------|
| <b>2010</b> | 1.386 | 39.536 | 40,63   | 16.063.477 |
| <b>2009</b> | 1.404 | 54.318 | 44,56   | 24.204.101 |
| <b>2008</b> | 1.482 | 53.330 | 56,09   | 29.912.797 |
| <b>2007</b> | 1.510 | 50.450 | 53,61   | 27.046.245 |
| <b>2006</b> | 1.450 | 46.780 | 38,13   | 17.837.214 |
| <b>2005</b> | 1.950 | 48.520 | 36,80   | 17.855.360 |

*Font: Secció d'Estadística agrària de la CAIB*

Observam que la superfície cultivada durant els darrers sis anys ha minvat prop de 570 Ha, una tercera part menys del que es cultivava 5 anys enrera.

Con s'observa a la següent taula, el caràcter minifundista i el nivell elevat de parcel·lació de les explotacions és característic de la zona, ja que més del 90% de les explotacions tenen menys de 10 Ha.

*Taula 2- Distribució de les explotacions de patata, depenent de la superfície.*

| Municipis       | ≥ 0,1 < 5   |                | ≥ 5 < 10    |                | ≥ 10 < 20   |                   | ≥ 20 < 50   |                   | ≥ 50        |                   |
|-----------------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|-------------|-------------------|
|                 | Nº<br>expl. | % del<br>total | Nº<br>expl. | % del<br>total | Nº<br>expl. | %<br>del<br>total | Nº<br>expl. | %<br>del<br>total | Nº<br>expl. | %<br>del<br>total |
| <b>Sa Pobla</b> | 463         | 72,68          | 135         | 21,19          | 22          | 3,45              | 10          | 1,56              | 7           | 1,09              |
| <b>Muro</b>     | 800         | 83,94          | 112         | 11,75          | 23          | 2,41              | 12          | 1,25              | 6           | 0,62              |
| <b>Inca</b>     | 423         | 77,90          | 47          | 8,65           | 37          | 6,81              | 20          | 3,68              | 16          | 2,94              |
| <b>Llubí</b>    | 268         | 64,57          | 81          | 19,51          | 33          | 7,95              | 26          | 6,26              | 7           | 1,68              |
| <b>Búger</b>    | 214         | 95,00          | 6           | 2,66           | 1           | 0,44              | 2           | 0,88              | 2           | 0,88              |
| <b>Alcúdia</b>  | 351         | 79,41          | 43          | 9,72           | 20          | 4,52              | 16          | 3,61              | 12          | 2,71              |
| <b>Campanet</b> | 415         | 90,80          | 22          | 4,81           | 1           | 0,21              | 5           | 1,09              | 14          | 3,06              |
| <b>TOTAL</b>    | 2934        | 79,90          | 446         | 12,14          | 137         | 3,73              | 91          | 2,47              | 64          | 1,74              |

*Font: Cens agrari 1989*

Respecte a la producció, s'ha mantingut relativament constant, al voltant de les 45.000 tones, encara que la superfície cultivada hagi minvat amb els anys, consegüentment tenim finques més productives, llevat de l'any 2010, que la davallada fou evident i la producció tan sols arribà a les 39.000 tones.

Observam que el preu unitari de la patata a les Illes Balears els darrers cinc anys ha sofert petites alteracions sense defugir però, de la mitjana interanual de 42,60 €/100 Kg.

En quant al moviment econòmic total, si que observam com la situació s'ha alterat radicalment, sobretot amb els darrers quatre anys, amb una diferència de prop de 15 milions d'euros, ja que a l'any 2008 el moviment fou de gairebé 30 milions i durant la campanya de l'any 2010, tan sols fou del voltant de 16 milions d'euros, els que produí el sector de la patata a Mallorca.

En quant als cicles de cultiu de patata a Mallorca, que s'han establert en funció de la demanda del mercat, podem observar tres cicles que es representen a continuació.

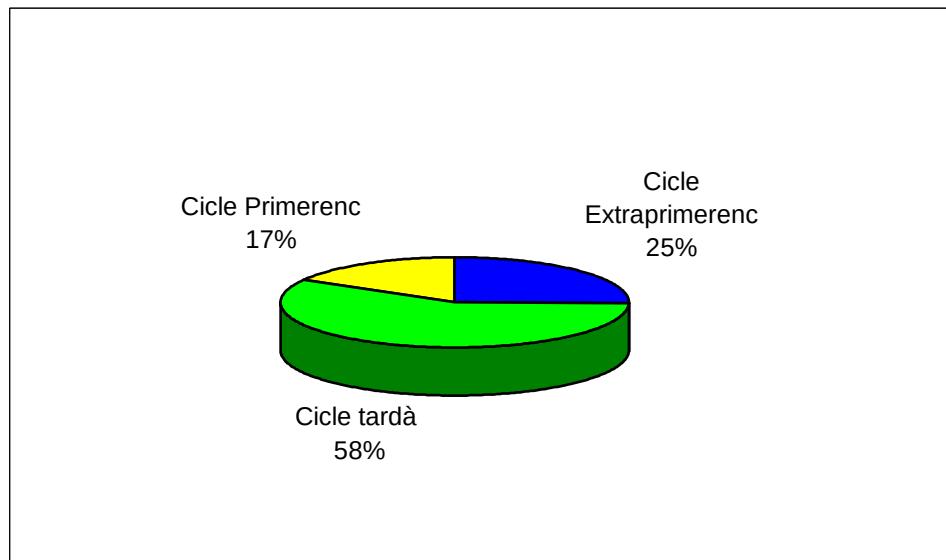


Figura 1- Representació gràfica dels cicles de cultiu de patata més habituals a les Illes Balears.

| Llegenda |                              |   |              |
|----------|------------------------------|---|--------------|
| 1        | Cicle de cultiu extraprimerc | █ | Sembra       |
| 2        | Cicle de cultiu primerc      | █ | Recol·lecció |
| 3        | Cicle de cultiu tardà        |   |              |

Font: Elaboració pròpia

L'any 2010 el percentatge de superfície dedicada al cicle tardà sobre el total de superfície cultivada de patata va ser del 58 %. El cicle extraprimereenc va ocupar un 25 % i el primereenc un 17 %. (Figura 2)



*Figura 2- Superfície sembrada de patata dependent dels cicles de cultiu a l'any 2010.*

*Font: Secció d'Estadística agrària de la CAIB*

La patata extraprimereenca es dedica íntegrament a l'exportació al mercat anglès, encara que fa uns anys es realitzen contactes per tal de diversificar el mercat, amb països com França i Alemanya.

La patata primereenca es dedica tant a l'exportació com al consum local, i la patata tardana, en la seva totalitat es destina al consum intern de l'illa de Mallorca (Mayol B.,1995).

A continuació es detallen els cicles de cultiu amb les produccions extretes des de l'any 2005 a l'any 2010.

*Taula 3 - Superfície destinada a cada cicle de cultiu, el seu rendiment i les produccions totals.*

| Any  | Cultiu         | Superfície<br>(Ha) | Rendiment<br>(Kg/Ha) | Producció<br>(T) |
|------|----------------|--------------------|----------------------|------------------|
| 2005 | Extraprimerenc | 350                | 9.600                | 3.360            |
|      | Primerenc      | 800                | 25.500               | 20.400           |
|      | Tardà          | 520                | 25.000               | 13.000           |
| 2006 | Extraprimerenc | 550                | 26.500               | 14.575           |
|      | Primerenc      | 710                | 38.000               | 26.980           |
|      | Tardà          | 190                | 27.500               | 5.225            |
| 2007 | Extraprimerenc | 420                | 26.500               | 11.130           |
|      | Primerenc      | 890                | 38.000               | 33.820           |
|      | Tardà          | 200                | 27.500               | 5.500            |
| 2008 | Extraprimerenc | 412                | 29.200               | 12.030           |
|      | Primerenc      | 872                | 41.050               | 35.796           |
|      | Tardà          | 198                | 27.800               | 5.504            |
| 2009 | Extraprimerenc | 268                | 28.700               | 7.692            |
|      | Primerenc      | 952                | 43.600               | 41.507           |
|      | Tardà          | 184                | 27.820               | 5.119            |
| 2010 | Extraprimerenc | 262                | 16.800               | 4.402            |
|      | Primerenc      | 929                | 31.500               | 29.264           |
|      | Tardà          | 195                | 30.100               | 5.870            |

*Font: Secció d'Estadística agrària de la CAIB*

Les varietats més cultivades en cada cicle es mostren a la següent taula.

*Taula 4- Varietats més cultivades actualment a Mallorca,  
segons el cicle de cultiu i el color de la polpa.*

| Cicle<br>Color | Extraprimerenca                         | Primerenca                       | Tardana           |
|----------------|-----------------------------------------|----------------------------------|-------------------|
|                |                                         |                                  |                   |
| Blanc          | Maris Bard                              | Pentland Dell                    | Maris Bard        |
| Crema          | Maris Peer                              | Maris Peer                       | Maris Peer        |
| Groc           | Concorde,<br>Charlotte,<br>Lady Christl | Marfona,<br>Accent,<br>Charlotte | Marfona<br>Accent |

*Font: Beatriz Ruano Hernández*

### 1.3.- Botànica.

#### 1.3.1.- Taxonomia.

El nom binomial de la patata és *Solanum tuberosum* i la seva posició taxonòmica es detalla a continuació.

Regne: Plantae

Divisió: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Subclasse: Asteridae

Orden: Solanales

Família: Solanaceae

Gènere: *Solanum*

Especie: *S. tuberosum*





Figura 3- Distribució original de *Solanum tuberosum* silvestre. Font: SPEDONA

Es tracta d'una planta herbàcia, vivaç, prevista d'un sistema radicular caulinar aeri i un altre subterrani, rizomàtic, en el qual s'originen els tubercles. Presenta arrels molt fibroses i ramificades.

Les tiges aèries són erectes, però amb el temps tendeixen a arrossegar-se per terra.

Les fulles són compostes imparipinnades de 3 o 4 folíols ovals.

La inflorescència és en cimes umbel·lifformes, les flors posseeixen la corol·la rotàcia gamopètala i de



color blanc o rosat. La infructescència es manifesta en forma de baia arrodonida.

A les tiges subterrànies es produeixen els engreixaments de les arrels, formant els tubercles, d'estructura caulinar. El qual es forma, fonamentalment, per proliferació del teixit floemàtic i sobretot del parenquimàtic, acumulant reserves en forma de grans ovalats de midó.

*Solanum tuberosum*, és una espècie que la seva fecundació normal és l'autogàmia i es reproduïx majoritàriament de forma clonal, mitjançant els seus tubercles (Maroto, 1995).

### 1.3.2.- Part aèria

Tija:

Segons Rousselle et. al (1999) els tres aspectes principals que caracteritzen la tija són:

- El color, verd o més aviat de color terrós a causa dels pigments antocians associats a la clorofil·la i present sobretot a la longitud de la tija.
- La forma i consistència: cilíndrica o de secció triangular amb els entrenusos massissos, però que es van buidant amb el temps.
- L'absència o presència de protuberàncies o aletes.

Fulles:

Les fulles són alternes, disposades sobre la tija amb una fil·lotaxis espiralada 5/13. La major part dels cultivars presenta fulles amb port horitzontal. A totes les parts verdes de la patatera, sobretot al fullatge, s'aprecia la presència d'un glicoalcaloide tòxic anomenat solanina.

La fulla està constituïda per grans folíols laterals primaris, entre 7 i 15 unitats, inserits en parella durant tota la llargària del raquí que acaba amb un folíol únic (Rousselle, et al., 1999).



(Font: State



Fig. 5- Detall de la flor de patatera. (Font: Howard F. Schwartz, Colorado State University, Bugwood.org)

nb una inflorescència cimosa, situada a l'extremitat de la tija i sostinguda per un escapament inflorescencial. Les cimes, uníparaes, escorpoidees, elements que la constitueixen, estan generalment agrupades per parelles.

Després de la formació de la inflorescència, el relleu està normalment assegurat pel desenvolupament d'un brot vigorós del primer ull latent format a l'axil·la de la penúltima fulla composta.

Estructura de la flor:

Flor actinomorfa i pentàmera, presenta:

- 5 sèpals soldats a la base, a un calze gamosèpal.
- 5 pètals igualment soldats a una corol·la gamopètala.
- 5 estams a un sol cicle.
- 2 carpels soldats a un ovari súper, coronat per l'estil i l'estigma.

Les flors autògames, no produeixen nèctar i estranyament seran visitades pels insectes, fent així que la pol·linització creuada a la naturalesa sigui inexistent (Roussell *et al.*, 1999).

### 1.3.3.- Part subterrània

#### Tubercles

Els primers tubercles s'originen a partir dels estolons més baixos i tendeixen a exercir una dominància sobre els tubercles formats posteriorment. La importància dels tubercles recau en què el 75-85% de la matèria seca total, s'acumula al seu interior.



L'acumulació de midó té lloc a tots els teixits del tubercle jove i els granuls són petits, rodons i abundants.

Fig. 6- Tubercles de patata. (Font: William M. Brown Jr., Bugwood.org)

Segons Rouselle *et al.* (1999) hi ha quatre criteris principals permeten caracteritzar als tubercles:

- Forma: aquest paràmetre presenta una certa variabilitat genètica. Actualment es poden classificar els tubercles en quatre grans grups: *claviformes*, *oblongs*, *arredonits* i *cilíndrics allargats*.
- Color i textura de la pell: és el caràcter més estable i observable sobre el tubercle. La coloració és deguda a tota una sèrie de pigments que donen a la pell tonalitats més o menys groguenques. En canvi, la textura de la pell ve determinada per diversos factors, com l'atac de sarna.

- Color de la carn: presenta unes coloracions, la qual, la seva tonalitat va des de el blanc, fins al groc.

#### 1.3.4.- Material vegetal

Existeixen infinitats de varietats comercials al mercat, ja que es tracta d'una espècie de gran cultiu. La classificació varietal de la patata es realitza en funció de paràmetres com el color i la textura de la pell, el color de la carn, la forma del tubercle, la resistència a plagues i malalties, les aptituds culinàries, etc.

Generalment, el criteri agronòmic més emprat és el que fa referència a la durada del cultiu. Per tant, podem distingir entre varietats que realitzen tot el cicle amb una durada de 90 dies i varietats que el realitzen amb 200 dies (Maroto, 1995).

#### 1.4.- Fitotècnia del cultiu.

##### 1.4.1.- Labors de preparació del terreny

La preparació del terreny, és una tasca molt important pel cultiu de la patata perquè aguanta un terreny molt compactat i amb excés d'elements grollers, ja que produeixen malformació als tubercles, fet que devalua molt negativament la producció. Tampoc és recomanable la sembra de patates a terrenys on la capacitat de retenció d'aigua o capacitat de camp, és molt alta doncs pot provocar podridures d'arrel i afavorir l'aparició de malalties fúngiques o bacterianes.

Si el terreny no és cultivat regularment serà necessària una labor profunda a d'uns 80 o 100 cm realitzada amb tractor i subsolador per tal d'oxigenar i ablanir el terreny amb l'objectiu de facilitar la capacitat de proliferació radicular.





*Fig. 7- Labor de subsolat prèvia a la plantació.*

Tot seguit es realitzarà una labor més superficial, a una profunditat d'uns 35-40 cm, mitjançant arada, de tants solcs com el tractor pugui suportar. I si s'escau, s'haurà de creuar la primera passada, per tal d'aplanar el terreny i disgregar en major mesura els terrossos existents.



*Fig. 8- Passada d'arada a 35-40 cm de profunditat.*

A continuació es realitzaran els solcs, on posteriorment la màquina efectuarà la sembra, aquests, han d'estar separats entre si, una distància d'entre 0,5 i 0,7m. La maquinària més usual és la sembradora automàtica.

#### 1.4.2.- Pla d'adobat.

Abans de la sembra, es realitza un adobat orgànic, mitjançant tractor i remolc escampador de fems, a raó d'entre 60 i 80Tn de fems/Ha, el qual s'incorpora amb una passada de vertadera. Aquesta tasca es realitza amb caràcter anual o bianual.

Després de les labors anteriorment citades i amb una antelació d'entre 15 i 20 dies abans de la sembra s'aporta l'adob de fons, amb 80 UF de nitrogen amoniacal, 70-100 UF de  $P_2O_5$  i 200-300 UF de  $K_2O$ . La següent tasca a desenvolupar és la incorporació d'un nematicida-insecticida desinfectant de sòl autoritzat, aquest producte s'empra al principi de cada cicle de cultiu de patata.

A l'abonat de cobertera, s'aporta únicament nitrogen, amb diferents formes químiques, com són el sulfat amònic, la urea o el nitrat amònic, s'apliquen entre 40 i 60 UF de nitrogen. Es realitzen dues o tres aplicacions i en diferents èpoques depenent de l'estat fenològic de la patatera.

Per tant mitjançant l'abonat de fons i el de cobertera s'apliquen al sòl, unes 180 UF de N/ha, nivell màxim que la normativa contempla a zones vulnerables, com són Sa Pobla i Muro.

#### 1.4.3.- Marc de plantació

El marc de plantació més emprat és el de 70 centímetres entre solcs i 20 centímetres entre plantes, mitjançant sembradores d'almenys dos solcs, arrossegades per tractor. Per sembrar s'empren tubercles trossejats (si el seu calibre és superior al 35-40) o sencers depenent del tamany d'aquests, tots ells certificats i amb passaport fitosanitari.



*Fig. 9- Sembradora de patates. (Font: Howard F. Schwartz, Colorado State University, Bugwood.org)*

#### 1.4.4.- Labors de cultiu

10 dies després de la sembra, s'aplica un herbicida residual, selectiu de pre i post emergència per tal d'evitar el naixement de vegetació espontània i per tant una competència amb el tubercle.

També s'han de realitzar tota una sèrie de tractaments fitosanitaris, els quals estan destinats a controlar les diferents plagues i malalties del cultiu.

En quant a les aportacions d'aigua, es tracta d'un cultiu amb necessitats hídriques relativament elevades, d'uns 300 a 400 l/m<sup>2</sup>. A Mallorca generalment s'aporten mitjançant el sistema de reg per aspersió, ja que a banda d'oferir les necessitats hídriques a les plantes, permet l'aplicació de l'adob de cobertera i la lluita contra les gelades.



#### 1.4.5.- Recol·lecció

La recol·lecció es realitza mitjançant una recol·lectora de patates propulsada per tractor quan els tubercles es troben en un estat fenològic madur exceptuant les varietats destinades a l'exportació, les quals es recullen una mica més tendres per tal de satisfer els gustos dels mercats de destinació.

Durant la recol·lecció diversos operaris en una cinta de selecció ubicada en la mateixa màquina recol·lectora eliminen les pedres i tubercles ferits, podrits, enverdits, etc.



*Fig.10- Màquina recol·lectora de patates a Sa Pobla.*

#### 1.4.6.- Conservació dels tubercles

El transport dels tubercles es sol realitzar mitjançant caixes de fusta de 1.200 Kg de capacitat o bé sacs industrials, també anomenats *big-bag*. Aquest últims s'utilitzen especialment amb les varietats dedicades a l'exportació, ja que al recollir-se immadura és més susceptible de ser malmesa dins les caixes de fusta.

#### 1.4.7.- Exigències en clima i sòl

Es tracta d'una planta de clima temperat-fred. El seu zero vegetatiu es situa al voltant dels 6-8 °C. La integral tèrmica necessària per cobrir el cicle de cultiu és d'uns 1.600 °C a les varietats més primerenques. A les varietats més tardanes aquesta quantitat pot arribar als 3.000 °C. La part aèria a partir dels dos graus negatius es veu greument afectada. La temperatura òptima pel seu

desenvolupament voreja els 16 °C. En quant a sòl, és una planta que prefereix terres lleugeres riques amb matèria orgànica i amb un subsòl profund. El pH més favorable és aquell que es situa al voltant del 5,5-6. Es tracta d'una planta relativament resistent a la salinitat.

## 1.5.- Principals plagues i malalties

### 1.5.1.- Plagues

Tot seguit explicarem, les plagues més importants dins el cultiu de la patata a les Illes Balears.

#### 1.5.1.1.- Escarabat de la patata (*Leptinotarsa decemlineata*)

Es tracta d'un coleòpter crisomèlid procedent dels Estats Units. Els danys són produïts pels escarabats i per les seves larves, arribant a devorar el fullatge, brots i tiges tendres, donant lloc a la paralització del desenvolupament dels tubercles. Els atacs produïts no influeixen en la qualitat de la patata, que segueix essent apte pel consum, sinó només amb la producció, la qual minva considerablement.

#### Control

Tradicionalment la lluita contra aquesta plaga s'ha fet amb l'ús indiscriminat d'insecticides, la qual cosa va ocasionar l'aparició de resistències, especialment als Estats Units.

Per tant, es recomana realitzar els tractaments amb insecticides poc després de la naixença dels ous, abans de que les larves causin molt de mal essent molt important l'alternança de matèries actives i de família o grups d'insecticides per tal d'evitar l'aparició de les esmentades resistències.

---

#### 1.5.1.2.- Arna de la patata (*Phthorimaea operculella*)

És un lepidòpter de la família Gelechiidae que inicia el seu cicle realitzant l'ovoposició sobre els caramulls de patates acabades de recollir. També pot fer la posta als tubercles posats a l'aire o a través d'esquerdes del terreny. Les larves realitzen galeries a l'interior dels tubercles, afectant de forma negativa a la qualitat dels mateixos. A les galeries obertes per les larves es poden produir infeccions per fongs i bacteries del sòl, que ocasionen la putrefacció de la patata. El problema sol accentuar-se al magatzem, encara que, com s'ha apuntat, moltes vegades els tubercles ja arriben afectats des del camp.

Pel seu control es recomana:

- Eliminar restes i rebrots de cultius anteriors de patata.
- Sembrar profund, aporcar bé les plantes i mantenir el sòl ben regat i sense vegetació espontània.
- Emprar patates de sembra lliures d'arna.
- Realitzar els tractaments amb insecticides durant la fase vegetativa a la corba màxima de vol dels adults.
- Utilitzar trampes amb feromona pel seguiment poblacional als magatzems.
- Desinfectar els locals d'emmagatzematge.
- Retirar al més aviat possible la patata del camp.
- Evitar la recol·lecció amb sobremaduració.
- Evitar que arribi patata afectada al magatzem, triar-la durant la collita.

#### 1.5.1.3.- Cuc de rossinyol (*Agriotes sp.*)

Els cucs de rossinyol són coleòpters de la família Elateridae. L'espècie més estesa és *Agriotes lineatus*.

Tenen una longitud d'uns de 20 mm i posseeixen una cutícula dura que els proporciona una certa rigidesa. El cuc hiverna a les capes profundes del sòl i durant la primavera arriba a la zona radicular. Els tubercles afectats presenten petites cavitats, si els danys es produeixen al principi del cicle de cultiu, cicatritzen al voltant del forat d'entrada, però la collita es deprecia econòmicament. Els majors danys es produeixen sobre patates de mitja estació i tardanes podent provocar la nul·la productivitat.

#### Control

- Llaurar la terra en profunditat elimina un gran nombre de larves i ous, ja que els exposa a l'exterior i moren. Per tant, incloure a la rotació, cultius que exigeixin preparacions del terreny profundes.
- Aplicar insecticides al sòl al moment de la sembra.

#### 1.5.1.4.- Pugons

Cinc espècies d'àfids ataquen el cultiu de la patata, aquests són: *Aphis frangulae*, *Aulacorthum solani*, *Myzus persicae*, *Macrosiphum euphorbiae* i *Rhopalosiphoninus latysiphon*. Els problemes més greus provocats per aquests pugons esdevenen amb el fet de succionar la saba de les plantes, provocar l'aparició de fumagina, i el fet de que causen greus danys com a transmissors de virosis.

#### Control

- Ús d'insecticides específics de pugons (aficides), alternant matèries actives per evitar l'aparició de resistències.

### 1.5.2.- Malalties

A continuació, es descriu breument les malalties més comuns dins el cultiu de la patata a les Illes Balears.

#### 1.5.2.1.- Mildiu (*Phytophthora infestans*)

Es tracta de la malaltia més important que afecta al cultiu de la patata i consegüentment és la que provoca unes majors pèrdues econòmiques arreu del món i a les Illes Balears.

La infecció es produeix amb temperatures suaus i alta humitat. La simptomatologia més freqüent, són unes taques obscures d'aspecte oliós situades a les vores dels folíols, que creixen i es disseminen pels pecíols fins a la tija; si l'atac és molt fort pot afectar als tubercles donant lloc a putrefaccions.

#### Control

- Utilització de varietats resistents.
- Destrucció de possibles fonts d'inòculs.
- Mantenir una bona cobertura del terreny mitjançant aporcats apropiats.
- Recollir els tubercles afectats abans d'emmagatzemar-los.
- Aplicació de fungicides.

#### 1.5.2.2.- *Alternaria solani*

Aquest fong es desenvolupa amb climatologies més seques que *Phytophthora infestans*. Aquesta malaltia pot afectar a les tiges i a les fulles de la patatera i en menor mesura als tubercles. La infecció comença a les fulles més velles, donant lloc a petites taques que amb el pas del temps es van enfosquint, es fan més grans i apareixen cercles concèntrics. El desenvolupament de la malaltia té lloc durant períodes d'humitat i sequera alternants.

---

Pel seu control es recomana:

- Realitzar una rotació de cultius àmplia.
- No recol·lectar els tubercles fins a la seva maduració plena per evitar ferides durant la collita.
- Mantenir durant tot el cicle de cultiu una bona nutrició mineral.
- Aplicar fungicides.

#### 1.5.2.3.- Rizoctònia de la patata (*Rhizoctonia solani*)

Aquesta malaltia presenta una ample distribució geogràfica ja que es localitza a qualsevol zona on es cultivin patates.

Als tubercles apareixen unes pústules de color marró obscur. Els danys més greus transcorren durant la primavera, després de la sembra; ja que el fong ataca als brots subterranis retardant el seu naixement. Als camps de cultiu s'observa el naixement i creixement desigual de les plantes, per tant es produeix una disminució del rendiment.

Pel seu control es recomana:

- Sembrar tubercles lliures d'aquesta malaltia.
- Establir rotacions de cultius amples.
- Realitzar la solarització durant quaranta-cinc dies.
- Si es preveu una elevada humitat del sòl i temperatures baixes, sembrar superficialment per accelerar la brotació.
- Tractaments dels tubercles abans o durant la sembra.

#### 1.5.2.4.- *Fusarium solani*

Aquest fong afecta al cultiu de la patata provocant tres problemes fonamentals: pansiment de la planta, putrefacció dels tubercles durant l'emmagatzament i putrefacció de la llavor de sembra.

El més freqüent és que afecti directament als tubercles emmagatzemats produint una podridura seca amb abundant miceli. La podridura comença per ferides i avança lentament fins pansir-se el tubercle en cas que no s'hagin produït infeccions secundàries (p. ex. per *Pectobacterium*).

Pel seu control es recomana:

- Emprar tubercles sans. (llavor certificada).
- Aplicar fungicides a les llavors esbocinades.
- Establir una rotació de cultius àmplia.
- Evitar ferides durant la recol·lecció i emmagatzament.
- Mantenir una ventilació i humitat adequada durant l'emmagatzament.

#### 1.5.2.5.- Peu negre (*Pectobacterium* spp.)

Es tracta d'una bactèria que provoca nombroses pèrdues a la major part de països productors. Es troba a la superfície dels tubercles i, en condicions idònies, provoca la putrefacció del material vegetal a vegades abans de la brotació de les plàntules. En altres ocasions la infecció es produeix quan la planta ja està brotada, i un símptoma característic és la podridió progressiva de la zona del coll, amb un color obscur que dóna el nom col·loquial a la malaltia.

Durant la conservació es produeix un ennegriment del contingut cel·lular, alliberant una forta olor característica quan els tubercles entren en contacte amb l'aire.

---

Pel seu control es recomana:

- Utilitzar tubercles llibres d'aquesta malaltia.
- Evitar sembrar a sòls freds i humits.
- No realitzar regs excessius.
- Mantenir una rigorosa higiene a l'explotació.
- Manipular correctament la patata durant la collita.
- Recollir en temps sec per facilitar l'eixugat i la cicatrització de les ferides.

#### 1.5.2.6.- Sarna pulverulenta (*Spongospora subterranea*)

Els símptomes poden recordar algunes afeccions pustuloses de sarna comuna, però en aquest cas es tracta d'un fong. Produeix unes espores de conservació anomenades quistosors que s'agrupen en masses més o menys esfèriques. Els teixits afectats dels tubercle s'expandeixen, es col·lapsen, rebenten i alliberen una gran quantitat d'espores. La zona afectada queda reblanida i amb aspecte de cràter envoltant per l'epidermis esquinçada.

En quant a la prevenció i control, s'ha de destacar que les mesures preventives per aquesta malaltia són:

- L'ús de llavor lliure de la malaltia.
- Fer una rotació de cultius el més ampla possible per la patata.
- És preferible sembrar a sòls porosos i ben drenats.
- No emprar fems d'animals que hagin menjat tubercles afectats, ja que el patògen roman viable després de passar pel seu tracte intestinal.



#### 1.5.2.7.- Virus Y de la patata (PVY)

És un virus de gran incidència en la producció de patata de sembra. La simptomatologia d'aquesta malaltia depèn de la raça del virus i del tipus de varietat de patata; començant aquest per una clorosi, seguida d'una necrosi i finalitzant amb una mort prematura de les plantes.

Pel seu control es recomana:

- Utilitzar tubercles lliures d'aquest virus.
- Cultivar les varietats menys susceptibles a aquest virus.
- Usar mètodes de lluita contra els pugons transmissors d'aquest virus.

#### 1.5.2.8.- Nemàtodes dels quists (*Globodera sp*)

Són cucs de reduït tamany inapreciables a ull nu, que s'alimenten del sistema radicular de la patatera. Gran part del seu cicle de vida succeeix a la planta; exceptuant la seva època de latència que realitzen al sòl.

Provoquen el debilitament de la planta, donant lloc a plantes nanes, engrogiment de la planta i reducció de la producció.

Pel seu control es recomana:

- Sembrar sempre tubercles certificats.
- Realitzar rotacions de cultiu de manera que dos cicles de patata estiguin separats temporalment el més possible.
- Aplicar un desinfectant del sol autoritzat.
- Solarització, biofumigació, o la combinació d'ambdós mètodes.
- Llaurar en profunditat a l'estiu per tal de voltejar bé la terra i que els quists del nemàtode quedin exposats al sol, reduint sensiblement el nivell poblacional.



Fig. 11- *Leptinotarsa decemlineata*  
 (Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



Fig. 12 - *Pthorimaea operculella*  
 (Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



Fig. 13 - *Agriotes* sp.  
 (Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



Fig. 14 - Pugons  
 (Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



Fig. 15 - *Phytophthora infestans*  
 (Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



Fig. 16 - *Globodera* sp.  
 (Font: Bonsak Hammeraas, Bioforsk - Norwegian  
 Institute for Agricultural and Environmental  
 Research,) Bugwood.org





*Fig. 17 - Alternaria solani*  
(Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



*Fig. 18 - Rhizoctonia solani*  
(Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



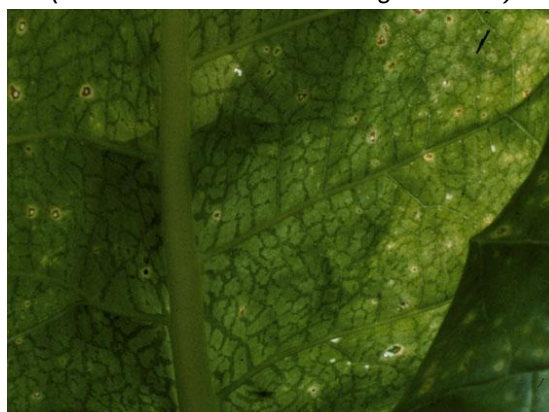
*Fig. 19 - Sarna comuna*  
(Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



*Fig. 20 - Fusarium solani*  
(Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



*Fig. 21 - Pectobacterium sp*  
(Font: Laboratori Sanitat Vegetal CAIB)



*Fig. 22 - PVY*  
(Font: R.J. Reynolds Tobacco Company Slide Set, R.J. Reynolds Tobacco Company, Bugwood.org)

### 1.6. - La Sarna comuna de la patata (*Streptomyces* sp.)

La sarna comuna és una malaltia ocasionada per diverses espècies del gènere *Streptomyces*, presents a tots els indrets on es cultiva patata. Provoca a la superfície dels tubercles lesions surenques de morfologia variable des de llises a pustuloses, eruptives o formant retícules. Quan les lesions són importants, disminueix la qualitat de la collita, depreciant el seu valor comercial.

*Streptomyces* són bacteris del grup de la família dels estreptomicets (ordre Actinomycetales) habitants normals del sòl, on participen activament al cicle de degradació de la matèria orgànica.

Creixen formant filaments característics, semblants a les hifes dels fongs. Només unes poques de les més de 400 espècies conegudes d'*Streptomyces* són causants de la sarna comuna de les patates. D'elles, la més coneguda és l' *S. scabies*.

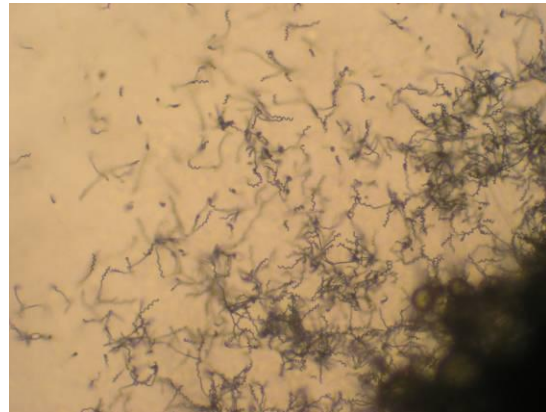
Encara que molt freqüent, la sarna comuna de les patates és una malaltia poc coneguda, per les dificultats que presenta la caracterització dels *Streptomyces* patògens i el seu diagnòstic. (Flores, 2008)

#### 1.6.1.- Morfologia de les colònies

Les colònies bacterianes de les espècies d'*Streptomyces* en medi de cultiu són morfològicament bastant homogènies, es caracteritzen per una coloració grisenca i un miceli aeri petit, grisenc i espiralat (*S. scabies*) o llis (*S. acidiscabies*) (Loria et al., 2001).



*Fig. 23 – Miceli lls de S. acidiscabies*



*Fig. 24 – Miceli espiralat de S. scabies*



*Fig. 25 - Cultiu de Streptomyces sp. aïllat de patata en medi d'aïllament NCPP.*



*Fig. 26 – Cultiu de Streptomyces sp. aïllat de patata en medi de creixement YME.*

### 1.6.2.- Síntomatologia

El tipus de lesió que causa la sarna està determinat pel tipus de terreny i en certa mesura per la major o menor predisposició de la varietat utilitzada.

En general, la sarna comuna es pot agrupar en dos grups segons la morfologia de les taques o lesions produïdes. La primera d'elles produeix taques marronenques que al principi són petites però que amb el temps es van desenvolupant i adquireixen una aparença surenca, a vegades aquestes

taques penetren a la superfície del tubercle i quan s'erradica el teixit infectat deixa galeries profundes. L'altre grup de sarna comuna està representat per una sarna més superficial. Les lesions apareixen com a petites zones més o menys rugoses, a vegades tan nombroses que arriben a cobrir tota la patata, a aquest tipus de sarna es poden formar lleugeres protuberàncies amb una depressió al centre de les mateixes, cobertes sempre d'una capa surenca (Alonso, 2008).

A Espanya, generalment la sarna comuna es presenta a sòls alcalins, amb un pH per damunt de 7, com és el cas de Mallorca, en canvi hi ha raïces d'aquest bacteri que poden créixer i provocar infeccions amb pH menors de 5. A la part aèria de la planta, no s'observa cap símptoma (Flores et al., 2008).

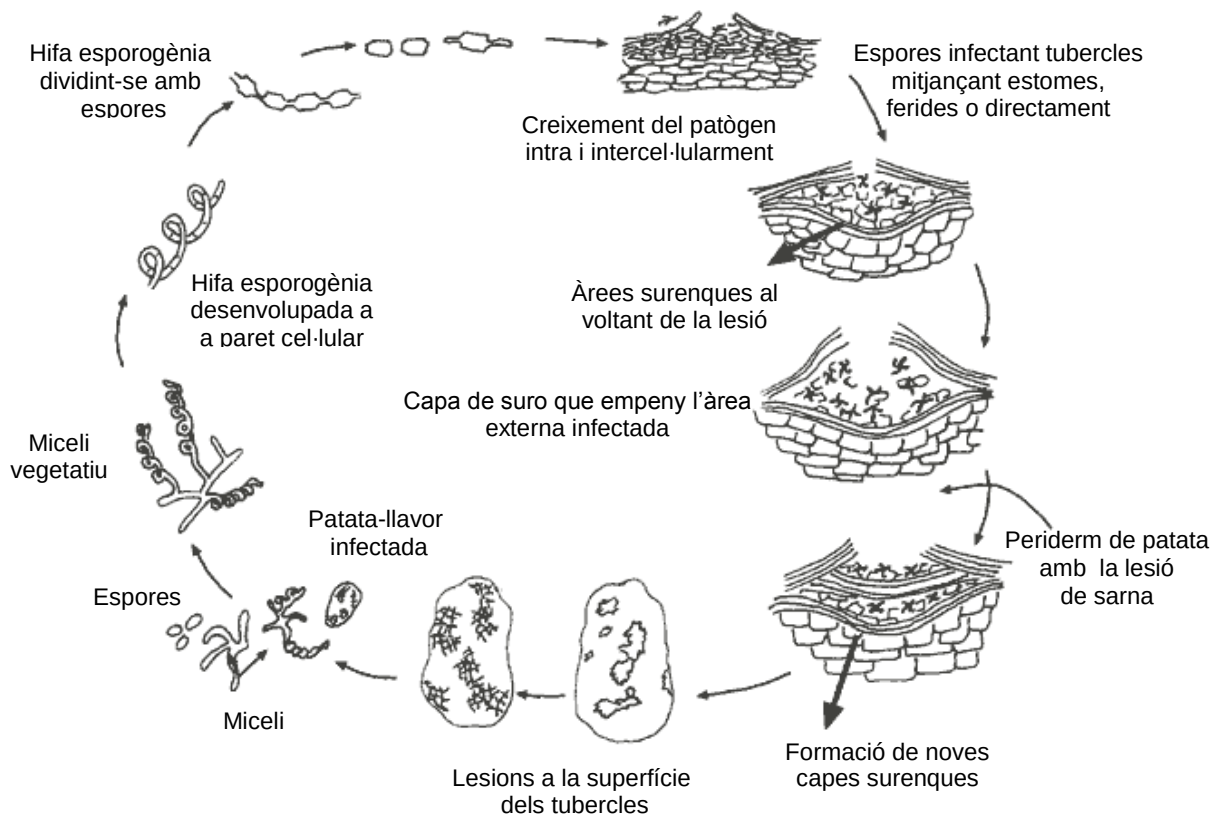


Figura 27 - Cicle biològic del bacteri *Streptomyces scabies* (Font: Portal agrari ancash)



### 1.6.3.- Control

Els productes fitosanitaris no ofereixen cap possibilitat de lluita, per tant han de prevaler les mesures preventives, les quals hem de tenir en compte són:

- Cultivar varietats poc sensibles.
- Practicar rotació de cultiu amples.
- Sembrar patata exempta de sarna.
- Reduir la reacció alcalina del sòl mitjançant l'aplicació, d'una bona aportació de fems.
- Enterrar adob verd, que pot provocar una proliferació de microorganismes antagonistes a la sarna.
- Aplicar elevades dosis de bor o sulfat de manganès al sòl i ensofrar la patata de sembra.
- Mantenir durant el període vegetatiu, i sobretot durant la fase de tuberització, una bona humitat al sòl.

L'escurçament de les rotacions, que condueix al freqüent ús de varietats sensibles sobre la mateixa parcel·la, produeix un agreujament de la sarna. No obstant això, existeixen casos de parcel·les amb monocultiu sense problemes de sarna, així com, inversament, altres casos on els atacs són forts des del principi del cultiu. L'efecte de rotacions curtes és més acusat amb el tipus surenc que el pustulós.

Els *Streptomyces* poden estar albergats als sòls o ser transmesos per les patates de sembra. A la pràctica, el sòl sembla jugar un paper primordial perquè l'inòcul pot conservar-se molts anys. El cultiu reiterat de varietats sensibles indueix, amb matisos, segons el tipus de sarna, a un augment del nivell d'infecció dels sòls. A més, les propietats del sòl tenen tal importància amb l'expressió de la malaltia que emmascaren l'efecte d'inòcul que la patata de sembra hagi pogut aportar (Roussell *et al.*, 1999).

En quant a la investigació relacionada amb la malaltia, s'ha d'esmentar que es treballa amb la recerca d'un fong de caràcter antagònic amb l'*Streptomyces*, del gènere *Trichoderma*, però encara no s'han extret resultats definitius (García i Vicent, 2007).

1.6.4.- La tècnica PCR en la detecció de *Streptomyces* sp. causants de sarna comuna de la patata

1.6.4.1.- Aspectes generals

La tècnica PCR ha suposat una revolució amb els mètodes basats a l'anàlisi d'ADN, que s'empren, entre altres moltes aplicacions, a la identificació d'organismes i amb el diagnòstic de malalties (Innis y Gelfand, 1990).

La reacció en cadena de la polimerasa (PCR) és bàsicament la reproducció *in vitro* de la duplicació de l'ADN que té lloc a les cèl·lules. L'avantatge és que es poden duplicar segments determinats, una vegada coneguts els encebadors o *primers* que delimiten dits segments. A més és exponencial, ja que a cada cicle la quantitat d'ADN es duplica, ja que cada nova cadena serveix de patró per la síntesi d'altres dues noves cadenes.

El fonament de la PCR és senzill i requereix un procés de tres passes repetides cíclicament:

- 1) Desnaturalització de l'ADN bicatenari, per separar les dues cadenes d'ADN unides per ponts d'hidrogen mitjançant l'encalientiment a 90-95°C.
- 2) Inici de la reacció mitjançant la incorporació al medi de dues seqüències, encebadors o *primers*, que són seqüències d'oligonucleòtids (al voltant de 20 parells de bases) sintetitzades *in vitro*, complementàries dels extrems de la seqüència que es vol amplificar. Les seqüències dels encebadors no han de ser complementàries entre sí per evitar la unió entre ells formant dímers



estables i aturant la reacció. L'anellament dels encebadors amb les cadenes d'ADN delimita la seqüència d'interés. Aquesta passa es realitza a temperatures d'entre 40 i 60°C.

- 3) Síntesi del nou ADN, amb l'extensió delimitada pels encebadors mitjançant l'acció d'una enzima ADN polimerasa que incorpora desoxinucleòtids lliures sobre la seqüència delimitada a l'ADN diana. Per això s'utilitza un enzim ADN polimerasa termoestable, essent la *Taq* polimerasa aïllada de *Thermophilus aquaticus* la que s'utilitza més comunment.

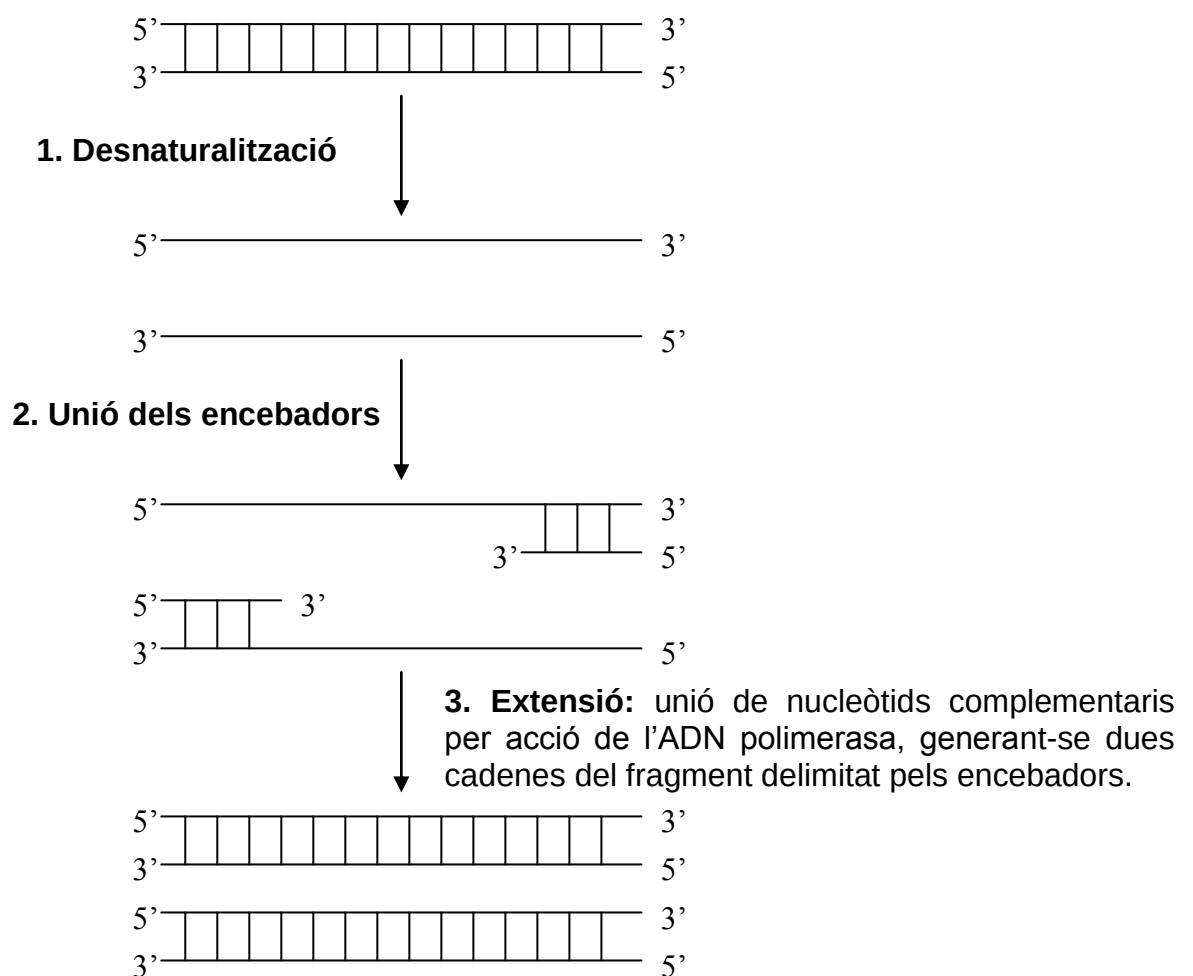


Fig. 28- Representació esquemàtica del procés general d'una amplificació d'ADN mitjançant PCR.

Aquestes tres fases corresponen a un cicle de reacció. El nombre de cicles necessaris per aconseguir una eficient amplificació que permeti visualitzar posteriorment l'ADN sintetitzat, depèn de la quantitat de mostra i de l'eficiència de cada fase de la reacció. Les condicions exactes de temperatura, concentració de reactius i temps de la reacció s'hauran d'ajustar per cada assaig concret a partir d'uns protocols estandaritzats (Innis y Gelfand, 1990).

La composició de la mescla de reacció d'una PCR és bastant simple: ADN plantilla (de l'organisme que volem analitzar), encebadors, ADN polimerasa i trifosfats dels 4 desoxirribonucleòtids (dNTPs) mesclats amb un tampó amb els ions adequats.

*Taula 5- Condicions estàndard per una amplificació d'ADN mitjançant PCR. (Edel, 1998)*

| Component                 | Concentració           |
|---------------------------|------------------------|
| ADN plantilla             | 10-100 ng              |
| Tampó                     | 1/10 del volum inicial |
| MgCl <sub>2</sub>         | 0,5-5 mM               |
| dNTPs                     | 20-200 $\mu$ M         |
| Encebador 1               | 0,1-0,5 $\mu$ M        |
| Encebador 2               | 0,1-0,5 $\mu$ M        |
| Taq ADN polimerasa        | 0,25-0,5 unitats       |
| Aigua destil·lada estèril | Fins al volum final    |
| Volum final               | 25-100 $\mu$ l         |

La temperatura, així com la concentració dels reactius de la mescla pot fer variar el resultat de la PCR sensiblement, i amb ocasions fent-la inapreciable.

Innis i Gelfand (1990) recomanen provar concentracions d'enzim compreses entre 0,5 i 5 unitats per cada 100  $\mu$ l de mescla de reacció. Una concentració excessiva pot fer que s'acumulin productes no específics que interferirien amb els resultats obtinguts al gel. Per altra banda, una concentració massa baixa pot ocasionar que s'obtingui una quantitat insuficient del producte desitjat.

L'especificitat i la fidelitat de la PCR es veuen incrementades per una concentració relativament baixa de dNTPs, minimitzant-se els errors d'unió de nucleòtids en llocs no complementaris.

La concentració de  $MgCl_2$  afecta a la unió dels encebadors a l'ADN plantilla, a la temperatura de desnaturalització de l'ADN, a l'especificitat, a l'activitat de la *Taq* polimerasa i a la fidelitat de la reacció (Innis i Gelfand, 1990). A partir d'una concentració normal d'1,5 mM de  $MgCl_2$  per l'amplificació amb *Taq* polimerasa, concentracions majors d'aquesta sal incrementen la producció de productes amplificats però disminueixen l'especificitat, mentre que concentracions més baixes incrementen la temperatura d'anillament dels encebadors entre 40°C i 60°C augmenten extraordinàriament l'especificitat de la reacció, ja que a partir de 55°C només es produeixen aparellaments entre seqüències absolutament homòlogues. L'augment del temps d'extensió i del tamany dels encebadors també influeixen negativament sobre l'especificitat (Vicente, 1999).

Els assaigs PCR han d'incloure un control positiu ( amb un ADN plantilla de referència amb amplificació coneguda), per detectar les possibles amplificacions falses negatives que poden ocórrer degut a problemes amb el termociclador, els reactius o la inhibició de l'ADN polimerasa. També és necessari incloure un control negatiu (absència d'ADN plantilla) per verificar l'absència de contaminacions que donen lloc a amplificacions falses-positives (Edel, 1998).

En fitopatologia, les principals aplicacions de la tècnica PCR són la detecció de patògens en teixit malalt o la identificació de l'organisme patògen després del

seu aïllament en cultiu axènic, mitjançant l'amplificació selectiva de fragments d'ADN específics de l'organisme patògen cercat.

Aquesta tècnica, també s'empra amb freqüència per l'establiment de relacions taxonòmiques i filogenètiques entre essers vius (White et al, 1990).

La tècnica d'amplificació PCR és, per tant, una poderosa eina pel diagnòstic de malalties i també amb estudis ecològics per la identificació d'organismes a ambients naturals, tals com el sòl, l'aigua, les plantes o mostres clíniques (Edel, 1998). A més la PCR pot ser utilitzada amb el diagnòstic de microorganismes poc freqüents, difícils de cultivar o difícils d'identificar una vegada cultivats, gràcies a la seva elevada sensibilitat.

#### 1.6.4.2.- PCR en *Streptomyces* sp. patògens en patata, els gens de la zaxtamina.

En el cas d'*Streptomyces*, encara que són diverses espècies d'aquest gènere les que ocasionen la sarna comuna de la patata, la investigació sobre l'etiologia de la malaltia s'ha centrat principalment en tres espècies: *S. scabies*, *S. acidiscabies* i *S. turgidiscabies*. No obstant això, la identificació d'espècies no dona cap indicació de la seva patogeneïtat, ja que en la mateixa espècie de *Streptomyces* es poden trobar estirps patògenes i no patògenes (Hao, J. et al., 2009).

Quan es tracta de d'estirps patògenes, malgrat les diferències evidents en les àrees de distribució i els trets fenotípics i genotípics, les tres espècies mostren mecanismes anàlegs per la patogeneïtat (Loria et al., 1997; Flores et al., 2008). Les tres espècies esmentades produeixen símptomes similars i tenen rangs similars d'hostes i totes elles sintetitzen zaxtomines, unes fitotoxines implicades en el desenvolupament de la malaltia. Tant és així, que les zaxtomines aïllades i purificades produeixen els mateixos símptomes de la malaltia en els teixits de l'hoste (Lawrence et al., 1990, King et al., 1989).

Healy et al. (2000 i 2002) varen aconseguir descriure tres gens que codifiquen proteïnes implicades en la síntesis de zaxtomina, són els gens *txtA*, *txtB* i *txtC*. Aquests gens són molt conservats en les tres espècies patògenes i probablement s'han transferit horitzontalment des d'*S. scabies* a les altres espècies patògenes (Bukhalid, et al., 2002).

Recentment tots els gens de patogeneïtat, inclosos els gens de la biosíntesi de zaxtomina s'han considerat agrupats en una regió cromosòmica gran que funciona com una illa de patogeneïtat (PAI) en *Streptomyces* (Kers et al. 2005).

Un segon gen, el *nec1* també es conserva entre la majoria dels causants de la sarna d'*Streptomyces* i està associat a un fenotip necrogènic als tubercles. (Hao, J. et al., 2009). Aquest gen s'emprava antigament com a marcador genètic de la patogeneïtat (Bukhalid et al., 1998; Loria et al. 1999), però més recentment s'ha considerat que té un paper subsidiari en la patogeneïtat i que algunes estirps patògenes s'escapen a la detecció mitjançant aquest gen (Bukhalid et al., 1998; Wanner et al., 2006; Flores et al., 2008).

Per tant, la zaxtomina, és un determinant de la patogeneïtat d'*Streptomyces* sp. en tubercles de patata, i els gens que regulen la seva síntesi són un bon indicador genètic, molt conservat, per a la determinació de la patogeneïtat d'un cep o estirp del bacteri.

---

### 1.7.- Legislació relativa al material de plantació

La qualitat de la patata de sembra ve regulada pel *Reglament tècnic de Control i Certificació de la Patata de Sembra* (O.M. de 1-7-1986, B.O.E. 15-7-1986, nº 168/1986, pàgina 25520-25521), els requisits que ha de complir la patata de sembra són els següents:

*Taula 6- Requisits que ha de complir la patata de sembra*

| Requisit                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Màxim en pes admès |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| <b>1) Tubercles fora de calibre.</b> Un lot no podrà tenir més del 3% expressat en pes de tubercles inferiors al calibre mínim, ni més del 3% de tubercles superior al calibre màxim                                                                                                                                                                           | 6%                 |
| <b>2) Terra o matèries estranyes</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 2%                 |
| <b>3) Tubercles ferits, deformats, mossegats o arrugats.</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 3%                 |
| <b>4) Podridura seca + Podridura humida</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 1%                 |
| <b>5) Sarna comuna.</b> Tubercles afectats a una superfície superior a 1/3 del tubercle                                                                                                                                                                                                                                                                        | 5%                 |
| <b>6) Sarna negra.</b> A <i>Rhizoctonia</i> es distingeixen tres tipus d'atacs: lleu, mitjà i greu. La tolerància de l'1% es refereix als atacs mitjans i greus. En cas d'atacs lleus la tolerància és del 20%. En qualsevol cas, seran rebutjades les partides que presentin <i>Rhizoctonia</i> als ulls o pròxima a ells, dins l'atac considerat com a lleu. | 1%                 |
| <b>7) La tolerància total de la suma dels punts 3,4,5 i 6</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 6%                 |

**No s'admeten toleràncies als següents organismes:** *Synchytrium endobioticum*, *Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis* sub. *Sepedonicus*, *Globodera* i PSTV

---

## **2. OBJECTIUS**

## 2.- Objectius

Anteriorment s'ha comentat la importància de la sarna comuna dins el cultiu de la patata. I la importància del cicle extraprimerenc a Mallorca.

Per tant, amb aquestes bases, els objectius plantejats al present treball, són:

- I. Prospectar mostres de patata de sembra per al cicle extraprimerenc a Mallorca (de novembre-desembre a març-abril) i determinar el grau d'afecció per sarna.
- II. Identificar els organismes patògens causants de la sarna, mitjançant aïllaments en medi de cultiu i determinacions morfològiques i moleculars.
- III. Analitzar el sòl de les parcel·les per determinar la presència d'*Streptomyces*.
- IV. Avaluar la patogeneïtat dels *Streptomyces* aïllats mitjançant la tècnica PCR. Comparar dos mètodes d'extracció d'ADN d'*Streptomyces*.
- V. Relacionar l'afecció per sarna amb els rendiments del cultiu i la qualitat de la patata en la collita.



### **3. MATERIAL I MÈTODES**

### 3.- Material i mètodes

#### 3.1.- Recollida de mostres de tubercles i terra

Durant l'arribada de la patata de sembra importada a les empreses de transformació del municipi de Sa Pobla corresponent al cicle extraprimerenc o d'exportació, entre els mesos d'octubre a gener, es va realitzar un mostreig de la pràctica totalitat dels lots arribats a l'illa, obtenint un total de 42 mostres de 200 tubercles cadascuna, escollits a l'atzar. El tamany de mostra s'escollí per tal d'aprofitar el mateix mostreig pels anàlisis oficials que duu a terme cada any el Laboratori de Sanitat Vegetal de la Direcció General de Medi Rural i Marí de la Conselleria d'Agricultura, Medi Ambient i Territori del Govern de les Illes Balears, dels bacteris de quarantena *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* i *Ralstonia solanacearum*, les quals estan subjectes a protocols oficials que estipulen aquest tamany de mostra.

Les patates, una vegada al laboratori, es rentaven amb aigua, per tal d'eliminar tota la terra sobrant. Una vegada realitzada aquesta tasca ja es podia discernir si els tubercles presentaven símptomes de sarna o no, obtenint el pes total de la mostra i el pes d'aquelles patates amb més d'1/3 de la superfície amb símptomes de sarna comuna tal i com s'especifica al *Reglament tècnic de Control i Certificació de la Patata de Sembra* (O.M. de 1-7-1986, B.O.E. 15-7-1986, nº 168/1986, pàgina 25520-25521).

Uns dies abans de que es dugués a terme la collita, es va realitzar un altre mostreig en camp, d'aquelles parcel·les en que s'hi havia sembrat patata infectada amb *Streptomyces sp.* per tal d'observar com es desenvolupa aquest bacteri al llarg del cicle de cultiu. S'arrabassaren patateres escollides a l'atzar, fins arribar a un nombre de 200 tubercles (per tal de seguir el mateix tamany de mostra que al mostreig de la patata de sembra) que tot seguit es dugueren al laboratori per seguir el mateix protocol que es realitzà a les patates de sembra.

Una vegada acabat el cicle de cultiu, es féu un mostreig de la terra de les parcel·les on s'havien sembrat les patates que havien donat resultats positius a *Streptomyces* sp. en les anàlisis prèvies, per tal de veure presència d'inòcul de sarna. Es féu una recollida de les mostres en ziga-zaga creant una malla de mostreig amb la finalitat de cobrir tota la parcel·la. Es realitzà una extracció a una profunditat d'entre 20 i 30 cm, recollint uns 5 Kg. de terra per parcel·la.

### 3.2.- Aïllament en medi de cultiu

#### 3.2.1.- En patata

Una vegada s'havien seleccionat les patates infectades de sarna, s'aïllava el bacteri, dins el medi de cultiu NPPC (Nistatina, polimixina, penicil·lina, cicloheximida, agar i aigua) amb la següent fórmula:

|                       |          |
|-----------------------|----------|
| Solució d'antibiòtics | 10.0ml/l |
| Agar                  | 20.0g/l  |

Per preparar la solució d'antibiòtics, s'afegeix dins 100 ml d'aigua destil·lada estèril el següents components : 500 mg de nistatina, 50 mg sulfat de polimixina B, 10 mg de penicil·lina G sòdica i 500 mg de cicloheximida. Aquesta solució mare s'esterilitza per filtració, i s'emmagatzema per un període de temps màxim de 4 setmanes a 5 ° C o congelada a -20 ° C.

La solució d'antibiòtics s'incorpora a l'agar una vegada refredat aquest a 45-55°C després d'haver estat esterilitzat en autoclau durant 20 minuts.

Per procedir a l'aïllament es varen agafar, amb l'ajuda d'un bisturí, porcions de les lesions característiques de sarna de les patates seleccionades i s'introduïren dins un microvial amb 1 ml d'aigua ultrapura estèril, es va esmicolar mitjançant un micropistil i tot seguit es va agitar el conjunt amb un

vòrtex de laboratori per homogeneïtzar el conjunt. Després, amb una ansa de sembra estèril, es va realitzar una sembra en triple estria al medi NCPP.

Les plaques de cultiu sembrades es varen tancar amb Parafilm<sup>®</sup> i es varen introduir a una estufa a una temperatura de 29°C, temperatura òptima de creixement segons Loria et. al (2001).

Una vegada transcorreguts entre 2 i 4 dies, els aïllaments es varen repicar a un altre medi, perquè la colònia aïllada augmentés la seva mida. El medi de cultiu utilitzat va ser YME (Yeast malt extract agar), amb la següent fórmula:

|                    |         |
|--------------------|---------|
| Extracte de llevat | 4.0g/L  |
| Extracte de malta  | 10.0g/L |
| Dextrosa           | 4.0g/L  |
| Agar               | 20.0g/L |

S'ajusta el pH a 7.0-7.2 amb NaOH abans d'afegir l'agar. El medi es dissol en aigua i s'autoclava durant 15 minuts a una pressió de 15 bars.

Per realitzar els repicats es varen agafar porcions de colònies amb la morfologia característica d'*Streptomyces* en el medi d'NCPP i es varen introduir dins un microvial amb 1 ml d'aigua ultrapura estèril homogeneïtzant amb vòrtex i procedint després a una sembra en triple estria. Les plaques de cultiu es tacaven amb Parafilm<sup>®</sup> i es conservaven a 29°C igual que les del medi NCPP.

### 3.2.2.- En terra

Una vegada la mostra de terra ha estat recollida, es va seguir el protocol de Loria et al. (2001) el qual especifica el mètode d'extracció. Es varen eixugar les mostres els dies necessaris perquè el grau d'humitat fos baix. S'agafaren 10 g de terra i s'hi afegiren 100 ml d'aigua destil·lada estèril (solució mare), s'agità amb un agitador durant 10 minuts. Partint d'aquesta solució mare, es

realitzaren vuit dilucions 1/10 successives amb 900  $\mu$ l d'aigua ultrapura estèril i 100  $\mu$ l de la solució anterior, tenint un volum final de 1000  $\mu$ l. Tot seguit es sembraren les sis darreres dilucions (des de la dilució  $10^{-3}$  a la  $10^{-8}$ ) obtenint sis plaques de cada mostra sembrades a un medi de selecció NCPP, a triple estria. Es posen les plaques a dins un forn a 28-30°C durant 7-10 dies. Passats aquests dies, es repica a una placa de medi de creixement YME.

### 3.3.- Anàlisi per PCR

#### 3.3.1.- Extracció de l'ADN d'*Streptomyces* sp.

Transcorreguts uns 10 dies després del repicat a YME la colònia adquiria una certa mida, suficient per obtenir una quantitat suficient de ADN per les anàlisis posteriors.

Per a l'extracció de l'ADN es provaren dos mètodes, el mètode de Hao et al. (2009) i el mètode de Llop et al. (1999). La quantitat i la puresa de les preparacions d'ADN es va verificar amb un espectrofotòmetre model NanoDrop ND-1000.

El primer mètode consisteix en retirar les colònies bacterianes de la placa i suspendre dins 500  $\mu$ l de tampó de lisi (1.86 g de KCl, 0.605 g de Tris-HCl, 500  $\mu$ l de Tween 20, i 450 ml d'aigua, el volum final s'ha de dur fins a 500 ml amb aigua, el pH s'ajusta a 8,3). La suspensió es bull 15 minuts a 100 ° C i es centrifuga durant 1 minut a 9391 rpm. Es recupera el sobrenedant on es troba l'ADN genòmic i es conserva a -20°C fins el moment en que s'utilitzi per l'anàlisi molecular.

El segon mètode, de Llop et al. (1999), consisteix en la centrifugació de la suspensió bacteriana en aigua a 13.000 rpm durant 10 minuts. Es descarta el sobrenedant i es resuspèn el pellet en 500  $\mu$ l de tampó d'extracció (6,304 g de Tris-HCl, 2.922 g NaCl, 1,861 g de EDTA, 1 g de SDS, 4 g de PVP en 150 ml

d'aigua, s'ajusta a 7,5 el pH, el volum final s'ha de dur fins a 200 ml i esterilitzar per filtració ), s'agita en vòrtex i es deixa en agitació durant una hora a temperatura ambient. Es torna a centrifugar a 5000 rpm. durant 5 min. S'agafen 450 µl del sobrenadant i es passen a un nou microvial, s'afegeix el mateix volum d'isopropanol, s'inverteix el microvial varies vegades, i es deixa reposar una hora a temperatura ambient. Es centrifuga a 13.000 r.p.m. durant 5 min., es descarta el sobrenadant, finalment es resuspen el pellet en 50 µl de aigua ultrapura estèril i es conserva a -20°C fins el moment en que s'utilitzi per l'anàlisi molecular.

Per determinar la quantitat i la puresa es va emprar un Nanodrop® de Thermo Scientific® model 2000c.

### 3.3.2.- Detecció d'*Streptomyces* patògens mitjançant PCR

Es varen provar dos protocols de PCR que es basen en l'amplificació de fragments dels gens *txtAB*, relacionats amb la patogenicitat de *Streptomyces* sp. Són els protocols de Wanner (2006) amb els encebadors TxtAB1 i TxtAB2 i el de Flores et al. (2008) amb els encebadors Stx1a i Stx1b, les seqüències dels quals es mostren en la següent taula.

Taula 7- Seqüències dels encebadors específics per la detecció de *Streptomyces* patògenes.

| Encebador | Seqüència                            | Mida del<br>fragment<br>d'amplificació | Referència              |
|-----------|--------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------|
| TxtAB1    | 5' – CCA CCA GGA CCT GCT CTT C - 3'  | 385 pb                                 | Wanner, L. A.<br>(2006) |
| TxtAB2    | 5' – TCG AGT GGA CCT GAC AGA TG – 3' |                                        |                         |
| Stx1a     | 5'- GTG GAC CGT GGA GCA TCT - 3'     | 402 pb                                 | Flores et al. (2008)    |
| Stx1b     | 5'- CAG TTC GGC GTA ACT CAG C - 3'   |                                        |                         |

Al protocol de Wanner (2006) les concentracions de la mescla de reacció de PCR són, per a un volum final de 25 µl, les següents: 1X (2,5 µl) de tampó de PCR, 1 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de mescla de desoxiribonucleòtids (DNTPs), 0,5 µM de cada encebador, 1 unitat de Taq polimerasa i 100 ng de ADN plantilla.

Per a la reacció es va utilitzar un termociclador Techne<sup>®</sup> model Ftgne2D programat amb 1 cicle previ de desnaturalització a 95° C durant 5 minuts, seguit de 35 cicles de 95°C durant 20 segons, 48°C durant 30 segons, 72 °C durant 2 minuts i 1 cicle d'extensió final a 72°C durant 10 minuts.

Al protocol de Flores et al. (2008) les concentracions de la mescla de reacció de PCR són, per a un volum final de 25 µl, les següents: 1X (2,5 µl) de tampó de PCR, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de mescla de desoxiribonucleòtids (DNTPs), 0,5 µM de cada encebador, 0,5 unitat de Taq polimerasa i 100 ng de ADN plantilla.

En aquest cas, el programa utilitzat al termociclador va ser 1 cicle de 95° C, 35 cicles de a 95° C durant 5 minuts, seguit de 35 cicles de 95°C durant 30 segons, 60°C durant 45 segons, 72 °C durant 1 minut i 1 cicle d'extensió final a 72°C durant 10 minuts.

En acabar la reacció, el termociclador es va programar en ambdós casos que quedés a 4°C per temps indefinit. En qualsevol cas, els microtubs amb productes de la reacció de PCR es treien del termociclador una vegada terminada la reacció i es guardaven en gelera a 4°C fins el moment d'analitzar els resultats mitjançant electroforesis.

Les electroforesis es varen fer en gels d'agarosa al 1,5 % amb 0,5 µg/ml de bromur d'etidi per tenyir els fragments amplificats. En cada pouet del gel es va posar 8 µl de producte de PCR i 4 µl de tampó de càrrega (glicerol i colorant). Es va emprar un marcador en escala de 100 pb (Genetics<sup>®</sup>), el gel es va posar en cubeta amb tampó TBE 1X (Tris-HCl 89 mM, àcid bòric 89 mM, EDTA 2 mM, pH 8). L'electroforesi va transcorre a 90 V durant 1 hora.

Per visualitzar les bandes dels fragments d'ADN amplificats en el gel es va utilitzar un transiluminador UV Biorad<sup>®</sup> model UV 2000. La llum ultraviolada fa que el bromur d'etidi intercalat al fragments d'ADN amplificats emeti fluorescència que permet detectar aquests fragments com una banda en el gel. Per comprovar que la mida de la banda era l'esperada de cada protocol (taula 7) es comparava amb el resultat de l'electroforesi en el pouet del marcador en escala que es posava en cada gel.

A la següent taula es poden observar les condicions de la PCR que s'han assajat al laboratori, provant els dos encebadors d'extracció (taula 8).



Taula 8 - Condicions de les PCR assajades

| Encebador        | Seqüència                                                                   | Mescla de reacció               | Programa de temperatures de reacció | Mida del fragment d'amplificació | Referència           |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------|
| TxtAB1<br>TxtAB2 | 5' – CCA CCA GGA CCT GCT CTT C - 3'<br>5' – TCG AGT GGA CCT GAC AGA TG – 3' | Volum final25 µl                | Núm. ciclesTemperatura temps        | 385 pb                           | Wanner, L. A. (2006) |
|                  |                                                                             | Tampó (10X)1x                   |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | MgCl <sub>2</sub> (50 mM)1 mM   |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | dNTPs (2,5 mM)0,2 mM            |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | TxtAB1 (10 µM)0,5 µM            |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | TxtAB2 (10 µM)0,5 µM            |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | Taq (5u/µl)1 U                  |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | ADN mostra100 ng                |                                     |                                  |                      |
| Stx1a<br>Stx1b   | 5'- GTG GAC CGT GGA GCA TCT - 3'<br>5'- CAG TTC GGC GTA ACT CAG C - 3'      | Volum final25 µl                | Núm. ciclesTemperatura temps        | 402 pb                           | Flores et al. (2008) |
|                  |                                                                             | Tampó (10X)1x                   |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | MgCl <sub>2</sub> (50 mM)1,5 mM |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | dNTPs (2,5 mM)0,2 mM            |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | stx 1a (10 µM)0,5 µM            |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | stx 1b (10 µM)0,5 µM            |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | Taq (5u/µl)0,5U                 |                                     |                                  |                      |
|                  |                                                                             | ADN mostra100 ng                |                                     |                                  |                      |

### 3.3.3.- Identificació d'espècies d'*Streptomyces* mitjançant PCR.

Per a les identifikacions moleculars de les espècies d'*Streptomyces* vàrem assajar els encebadors desenvolupats per Wanner (2006), concretament els que detecten *S. scabies* i *S. europaeiscabiei* (scab1m/scab2m) i els que detecten *S. acidiscabies* (acidi1/acidi2), tal i com s'observa a la taula 9.

Les condicions de la PCR s'ajustaren a les que proposa aquesta autora, i també es va provar amb les que proposen Hao et al. (2009).

Taula 9 – Encebadors assajats per la diferenciació d'espècies d'*Streptomyces* (Wanner, 2006).

| Encebador | Seqüència                    | Mida del<br>fragment<br>d'amplificació |
|-----------|------------------------------|----------------------------------------|
| scab1m    | 5'-CGACACTCTCGGGCATCCGA-3'   | 1278 pb                                |
| scab2m    | 5'- TTCGACAGCTCCCTCCCTTAC-3' |                                        |
| acidi1    | 5'-TCACTCCTGCCTGCATGGGCG-3'  | 1278 pb                                |
| acidi2    | 5'-CGACAGCTCCCTCCCACAAG-3'   |                                        |

## **4. RESULTATS I DISCUSSIÓ**

## 4.- Resultats i discussió

4.1.- Prospecció de mostres de patata de sembra per al cicle extraprimerenc a Mallorca (de novembre-desembre a març-abril) i determinar el grau d'afecció per sarna.

A la següent taula podem observar el total de mostres analitzades amb el percentatge d'afecció per *Streptomyces sp.*, i si es va obtenir aïllament del bacteri.

Taula 10 - Dades de les prospeccions de patata de sembra

| MOSTRA    | DATA       | VARIETAT      | PAÍS D'ORIGEN      | % SARNA<br>COMUNA  | AÏLLAMENT |
|-----------|------------|---------------|--------------------|--------------------|-----------|
| CLA 17/11 | 18/10/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 2,57               | +         |
| CLA 18/11 | 18/10/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 2,45               | +         |
| CLA 19/11 | 18/10/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 0                  | -         |
| CLA 20/11 | 18/10/2011 | LADY CHRISTL  | HOLANDA            | 0                  | -         |
| CLA 21/11 | 18/10/2011 | INOVA         | HOLANDA            | 0                  | -         |
| CLA 22/11 | 18/10/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 1,48               | +         |
| CLA 23/11 | 26/10/2011 | DORE          | HOLANDA            | 27,98 <sup>a</sup> | +         |
| CLA 24/11 | 26/10/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 3,22               | +         |
| CLA 25/11 | 26/10/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 0                  | -         |
| CLA 26/11 | 26/10/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 5,54 <sup>a</sup>  | +         |
| CLA 27/11 | 02/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 5,97 <sup>a</sup>  | +         |
| CLA 28/11 | 02/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 0                  | -         |
| CLA 29/11 | 02/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 4,98               | +         |
| CLA 30/11 | 02/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 0,75               | +         |
| CLA 31/11 | 02/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 6,55 <sup>a</sup>  | +         |
| CLA 32/11 | 02/11/2011 | LADY CHRISTL  | HOLANDA            | 0                  | -         |
| CLA 33/11 | 02/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 1,22               | +         |
| CLA 34/11 | 02/11/2011 | MARFONA       | HOLANDA            | 10,19 <sup>a</sup> | +         |
| CLA 35/11 | 08/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 0                  | -         |
| CLA 36/11 | 08/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 7,27 <sup>a</sup>  | +         |
| CLA 37/11 | 08/11/2011 | MARIS PEER    | ESCÒCIA            | 1,74               | -         |
| CLA 38/11 | 08/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 1,8                | +         |
| CLA 39/11 | 08/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 0                  | -         |
| CLA 40/11 | 08/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 0                  | -         |
| CLA 41/11 | 16/11/2011 | PRINCESS      | ALEMANYA           | 7,45 <sup>a</sup>  | +         |
| CLA 42/11 | 16/11/2011 | MARIS PEER    | ESCÒCIA            | 0                  | -         |
| CLA 43/11 | 21/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 5,90 <sup>a</sup>  | +         |
| CLA 44/11 | 21/11/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 5,49 <sup>a</sup>  | -         |
| CLA 45/11 | 21/11/2011 | TOSCANA       | ALEMANYA           | 0                  | -         |
| CLA 46/11 | 21/11/2011 | PATRICIA      | ALEMANYA           | 0,51               | -         |
| CLA 47/11 | 21/11/2011 | MARABEL       | ALEMANYA           | 3,02               | +         |
| CLA 48/11 | 21/11/2011 | MARFONA       | HOLANDA            | 3,96               | +         |
| CLA 49/11 | 05/12/2011 | PENTLAND DELL | ESCÒCIA            | 0                  | -         |
| CLA 50/11 | 05/12/2011 | MARIS PEER    | ANGLATERRA - GALES | 0                  | -         |
| CLA 51/11 | 05/12/2011 | MARFONA       | ANGLATERRA - GALES | 0                  | -         |

Taula 10 (continuació)- Dades de les prospeccions de patata de sembra

| MOSTRA    | DATA       | VARIETAT   | PAÍS D'ORIGEN      | % SARNA<br>COMUNA | AÏLLAMENT |
|-----------|------------|------------|--------------------|-------------------|-----------|
| CLA 52/11 | 05/12/2011 | MARIS PEER | ANGLATERRA - GALES | 2,37              | +         |
| CLA 53/11 | 05/12/2011 | PRINCESS   | ALEMANYA           | 0                 | -         |
| CLA 54/11 | 05/12/2011 | TOSCANA    | ALEMANYA           | 0                 | -         |
| CLA 55/11 | 05/12/2011 | NICOLA     | HOLANDA            | 0                 | -         |
| CLA 56/11 | 05/12/2011 | FOLVA      | HOLANDA            | 0                 | -         |
| CLA 57/11 | 05/12/2011 | ARIZONA    | HOLANDA            | 0                 | -         |
| CLA 58/11 | 05/12/2011 | SAFRANE    | FRANÇA             | 0                 | -         |

<sup>a</sup>: mostres que superen el 5% admès pel Reglament tècnic Control i Certificació de la Patata de Sembra.

Tal i com s'aprecia a la taula, de les 42 mostres prospectades de patata de sembra, es trobaren 22 mostres amb presència de símptomes de sarna comuna (52,38% del total prospectat), amb percentatges que oscil·len entre el 0,51% i el 27,98% d'afecció, calculat en pes. D'aquestes 22 mostres amb símptomes, 9 d'elles superaven el 5% admès que marca el *Reglament tècnic de Control i Certificació de la Patata de Sembra* (O.M. de 1-7-1986, B.O.E. 15-7-1986, nº 168/1986, pàgina 25520-25521).

Es va aconseguir aïllar bacteris amb morfologia característica d'*Streptomyces* sp. en 19 de les 22 mostres amb símptomes.

Creant una classificació per països productors de patata de sembra, 23 de les mostres obtingudes, tenien una procedència d'Anglaterra-Gales, (s'ha d'esmentar que es mira en conjunt, ja que comparteixen l'òrgan acreditatiu del passaport fitosanitari). De la resta, 9 de les mostres procedeixen de terres holandeses, 6 d'alemanyes, 3 d'escoceses i 1 mostra de procedència francesa.

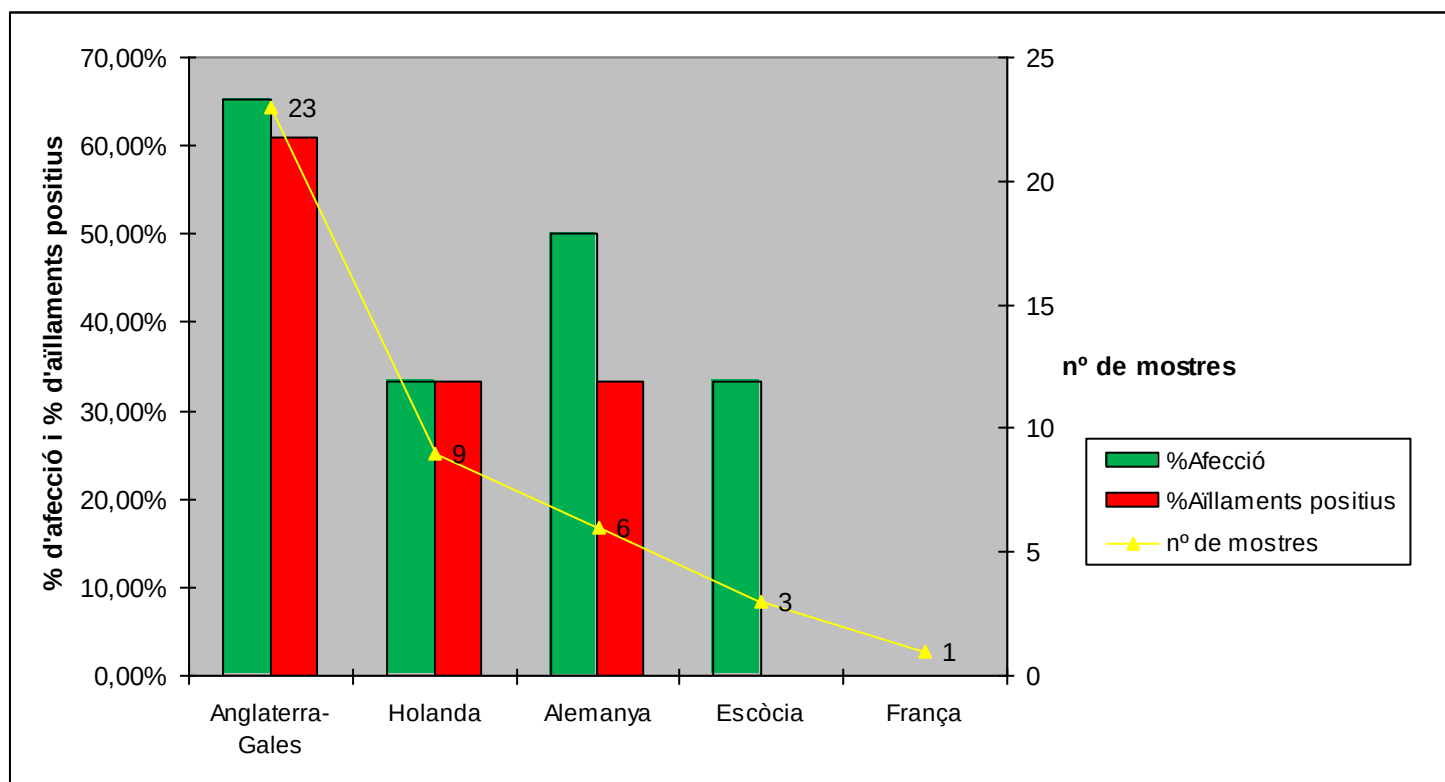
De les 23 mostres de procedència anglesa-gal·la, han esdevingut amb simptomatologia de sarna comuna 15 mostres (65,21%), aconseguint aïllar l'*Streptomyces* sp. en un 93,34% dels casos. En el cas de les patates holandeses presenten simptomatologia 3 mostres (33,33%) aïllant totes les mostres. En quant a la patata procedent d'Alemanya 3 de les mostres (50%)

presentaven símptomes, aïllant positivament dos dels casos. 1 mostra escocesa ha presentat símptomes, mostra que no s'ha aconseguit aïllar. A la mostra francesa no s'ha detectat cap símptoma de sarna comuna.

Amb aquestes dades queda patent que la patata de sembra importada suposa una font d'inòcul de sarna comuna important. El 21,3% dels lots, fins i tot han superat el percentatge admès pel Reglament tècnic.

A la següent figura podem observar les diferències significatives entre països productors de patata de sembra i l'afecció de sarna, i els aïllaments aconseguits al laboratori.

*Figura 29 – Comparativa entre països productors de patata de sembra i aïllaments d'*Streptomyces sp. positius*.*



4.2.- Identificació dels organismes patògens causants de la sarna, mitjançant aïllaments en medi de cultiu i determinacions morfològiques i moleculars.

Com ja hem avançat, segons Loria et al. (2001), els *Streptomyces* es caracteritzen per una coloració grisenca i un miceli petit i espiralat en el cas d'*Streptomyces scabies* i llis en el cas d'*Streptomyces acidiscabies*.

Els nostres resultats mostren que dels 19 aïllaments de *Streptomyces* sp., 16 tenien un miceli en forma llisa i 3 en forma d'espiral. Encara que actualment hi ha disponibles diferents tècniques de biologia molecular per poder confirmar l'espècie, aquesta dada ens dóna una aproximació que indica que a les patates de sembra analitzades, l'espècie més abundant seria *S. acidiscabies*.

A la taula següent observam aquests aspectes morfològics que presenten els micelis analitzats.

Taula 11 - Aspectes morfològics analitzats dels *Streptomyces* sp.

| MOSTRA    | FORMA MICELI | COLOR MICELI |
|-----------|--------------|--------------|
| CLA 17/11 | Espiral      | Gris clar    |
| CLA 18/11 | Llis         | Gris clar    |
| CLA 22/11 | Espiral      | Gris         |
| CLA 23/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 24/11 | Llis         | Gris clar    |
| CLA 26/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 27/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 29/11 | Llis         | Gris clar    |
| CLA 30/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 31/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 33/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 34/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 36/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 38/11 | Llis         | Gris clar    |
| CLA 41/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 43/11 | Llis         | Gris clar    |
| CLA 47/11 | Llis         | Gris         |
| CLA 48/11 | Espiral      | Gris         |
| CLA 52/11 | Llis         | Gris clar    |

---

Pel que fa referència a les PCR, per diferenciar les espècies d'*Streptomyces*, no vàrem obtenir cap resultat amb els mètodes assajats, és a dir, ni amb els encebadors desenvolupats per Wanner (2006) i les condicions de PCR que ella mateixa proposa, ni amb els mateixos encebadors i les condicions modificades per Hao et al. (2009).



#### 4.3.- Anàlisi de sòl de les parcel·les per determinar la presència de *Streptomyces* sp.

A la següent taula podem observar els diferents aïllaments de sòl realitzats a les parcel·les on s'hi varen sembrar patates afectades per *Streptomyces* sp.

*Taula 12- Resultats de l'anàlisi de sòl.*

| MOSTRA    | NCPP      | YME       | FORMA MICELI | COLOR MICELI | EXTRACCIÓ DNA | DNA (ng/ul) | 280/260 | 260/230 | Stx 1a/1b | TxtAB |
|-----------|-----------|-----------|--------------|--------------|---------------|-------------|---------|---------|-----------|-------|
| CLA 17/11 | 12-abr-12 | 20-abr-12 | Espiral      | Gris         | 25-abril-12   | 1086,60     | 2,19    | 1,60    | -         | -     |
| CLA 18/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 22/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 23/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 24/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 26/11 | 12-abr-12 | 20-abr-12 | Espiral      | Gris         | 25-abril-12   | 152,40      | 1,80    | 0,60    | -         | -     |
| CLA 27/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 29/11 | 12-abr-12 | 20-abr-12 | Espiral      | Gris         | 25-abril-12   | 231,20      | 1,88    | 0,84    | +         | +     |
| CLA 30/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 31/11 | 12-abr-12 | 20-abr-12 | Espiral      | Gris         | 25-abril-12   | 175,10      | 2,00    | 0,84    | +         | +     |
| CLA 33/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 34/11 | 12-abr-12 | 20-abr-12 | Espiral      | Gris         | 21-maig-12    | 127,60      | 1,89    | 0,70    | -         | -     |
| CLA 36/11 | 12-abr-12 | 20-abr-12 | Espiral      | Gris         | 21-maig-12    | 240,60      | 1,62    | 0,68    | -         | -     |
| CLA 38/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 41/11 | 12-abr-12 | 20-abr-12 | Espiral      | Gris         | 21-maig-12    | 177,70      | 1,92    | 0,73    | +         | +     |
| CLA 43/11 | 12-abr-12 | 20-abr-12 | Espiral      | Gris         | 21-maig-12    | 183,50      | 1,95    | 0,67    | -         | -     |
| CLA 47/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 48/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |
| CLA 52/11 | 12-abr-12 | -         | -            | -            | -             | -           | -       | -       | -         | -     |

Observant a la taula anterior, partint de 19 mostres de terra, tan sols s'ha aconseguit aïllar *Streptomyces* sp., en 8 dels casos i d'aquests, només 3 han resultat ser patògenes segons els resultats de les PCR amb els dos parells d'encebadors (stx 1a/1b i txtAB).

Aquest resultat demostra dues coses que ja suposàvem, primerament, la dificultat d'aïllar patògens a partir de mostres de terra, a l'estar molt acompanyats per altres organismes, es necessiten medis de cultiu selectius, que no sempre són tan eficients com ens agradaria.

D'altra banda es demostra que hi ha moltes *Streptomyces* sp. no patògenes al sòl de les parcel·les mostrejades.

Si observam una característica important, tal i com indica Loria et al. (2001), els *Streptomyces* sp. amb formació de miceli espiralat representen els *Streptomyces scabies*. A les mostres de sòl prospectades, on s'hi ha aconseguit aïllar *Streptomyces* el seu miceli és espiralat, dada amb prou transcendència considerant que a la patata de llavor, com hem vist a l'apartat anterior, ens trobaven amb miceli llis, és a dir *Streptomyces acidiscabies*.

#### 4.4.- Avaluació de la patogeneïtat dels *Streptomyces* aïllats mitjançant la tècnica PCR i de la comparació dels mètodes d'extracció d'ADN.

Tal i com està explicat al capítol 3.2.1 – Extracció de l'ADN d'*Streptomyces* sp., del present treball, es provaren dos mètodes d'extracció de DNA, Hao i Llop. Per tal de discernir quin dels dos mètodes ens aportava una major quantitat de DNA i de major puresa, es realitzà un assaig amb 7 mostres comparant els dos mètodes.

A la taula següent podem observar les comparatives entre els dos mètodes d'extracció provats.

*Taula 13- Comparativa dels mètodes d'extracció d'ADN resultats amb Nanodrop® 2000C*

| Mètode Hao (2009) |        |                  |                  | Mètode Llop (1999) |       |                  |                  |
|-------------------|--------|------------------|------------------|--------------------|-------|------------------|------------------|
| Mostra            | ng/μl  | Ràtio<br>260/280 | Ràtio<br>260/230 | Mostra             | ng/μl | Ràtio<br>260/280 | Ràtio<br>260/230 |
| DNA CLA 17        | 1400,0 | 2,02             | 1,15             | DNA CLA 17         | 287,4 | 1,95             | 0,67             |
| DNA CLA 26        | 1274,3 | 1,91             | 1,08             | DNA CLA 26         | 240,7 | 1,97             | 0,55             |
| DNA CLA 27        | 669,5  | 1,83             | 0,85             | DNA CLA 27         | 16,7  | 2,30             | 0,07             |
| DNA CLA 29        | 402,2  | 1,98             | 1,08             | DNA CLA 29         | 209,9 | 2,01             | 0,58             |
| DNA CLA 30        | 523,9  | 2,15             | 1,07             | DNA CLA 30         | -6,0  | 2,41             | -0,04            |
| DNA CLA 34        | 823,5  | 1,84             | 0,99             | DNA CLA 34         | 164,1 | 1,95             | 0,41             |
| DNA CLA 36        | 160,2  | 1,84             | 0,66             | DNA CLA 36         | 16,3  | 2,02             | 0,06             |

El mètode que ens aportava l'anteriorment citat, és a dir quantitat de DNA i que aquest, presentés una bona dada de puresa va ser el mètode de Hao (2009), ja que la quantitat de ng/μl i la puresa eren molt superiors a les obtingudes amb el mètode de Llop (1999). Respecte a la relació d'absorbància a 260 nm i 280 nm, una relació d'entre 1,8 i 2 indica que la mostra és d'un ADN pur. Si la proporció és sensiblement inferior pot indicar la presència de proteïnes, fenols o altres contaminants que absorbeixen fortament a prop de 280 nm. La relació d'absorbància 260/230, el que s'accepta com a pur és allò que es troba dins l'interval 1,8-2,2. Observem que amb el mètode de Llop, a la ratio 260/230 la puresa no és bona.

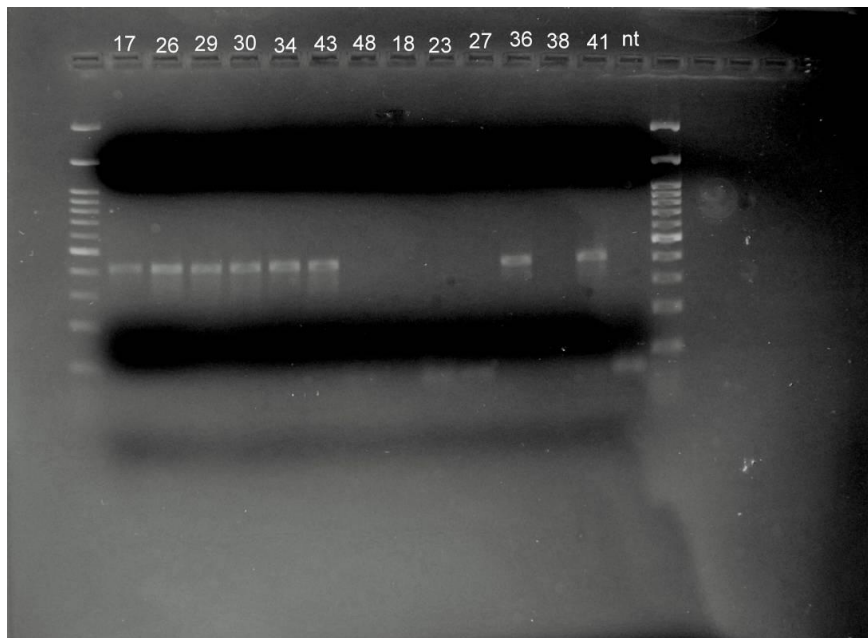
Com es veu a la taula següent, dels 19 aïllaments obtinguts d'*Streptomyces* sp. 12 són positius i 4 són negatius amb els dos mètodes de PCR. En 3 dels casos els resultats amb una parella d'encebadors difereix respecte de l'altra parella. D'aquests tres casos, 1 és positiu amb Stx 1a/1b i 2 positius amb TxtAB.

Taula 14 - Patogeneïtat d'*Streptomyces* mitjançant la PCR.

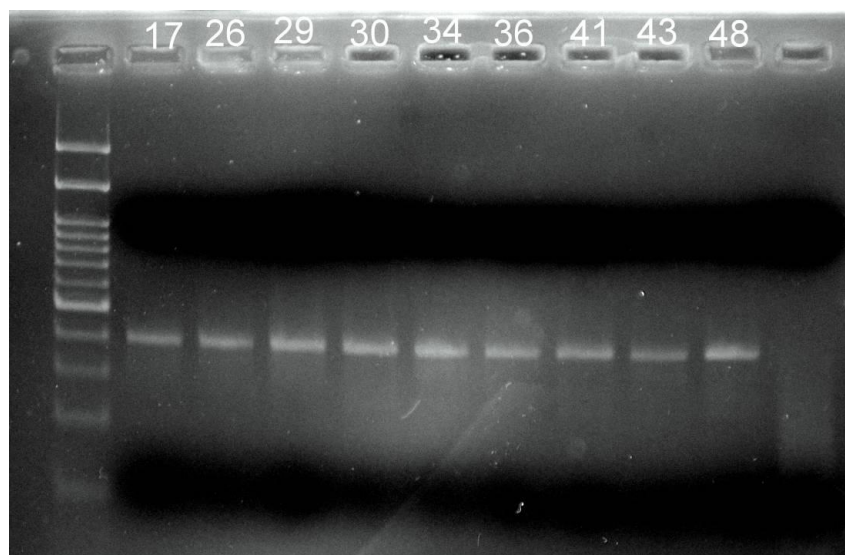
| Extracció<br>DNA | DNA<br>(ng/ul) | Mostra    | PCR       |       |
|------------------|----------------|-----------|-----------|-------|
|                  |                |           | Stx 1a/1b | TxtAB |
| 29-nov           | 1400           | CLA 17/11 | +         | +     |
| 16-des           | 159,5          | CLA 18/11 | +         | -     |
| 16-gen           | 278,8          | CLA 22/11 | -         | -     |
| 03-gen           | 65,9           | CLA 23/11 | -         | +     |
| 16-gen           | 150,7          | CLA 24/11 | -         | +     |
| 29-nov           | 1274,3         | CLA 26/11 | +         | +     |
| 29-nov           | 669,5          | CLA 27/11 | -         | -     |
| 29-nov           | 402,2          | CLA 29/11 | +         | +     |
| 29-nov           | 523,9          | CLA 30/11 | +         | +     |
| 16-gen           | 521,4          | CLA 31/11 | +         | +     |
| 16-gen           | 155,1          | CLA 33/11 | +         | +     |
| 29-nov           | 823,5          | CLA 34/11 | +         | +     |
| 29-nov           | 160,2          | CLA 36/11 | +         | +     |
| 16-des           | 137,4          | CLA 38/11 | +         | +     |
| 03-gen           | 196,5          | CLA 41/11 | +         | +     |
| 16-des           | 157,6          | CLA 43/11 | +         | +     |
| 16-des           | 123,6          | CLA 47/11 | -         | -     |
| 16-des           | 88,5           | CLA 48/11 | +         | +     |
| 16-des           | 176,5          | CLA 52/11 | -         | -     |

D'aquests resultats es desprèn que 4 dels aïllats no serien patògens, perquè no s'ha detectat la seqüència dels gens que intervenen a la producció de la zaxtomina, com ja s'ha explicat anteriorment.

A les fotografies següents es poden veure dos dels resultats de les PCR amb els dos parells d'encebadors diferents utilitzats.



*Figura 30.- Exemple d'un dels resultats de la PCR amb els encebadors Stx 1a/1b*



*Figura 31.- Exemple d'un dels resultats de la PCR amb els encebadors TxtAB*

#### 4.5.- Afecció per sarna dels rendiments del cultiu i la qualitat de la patata en la collita.

A les següents taules podem observar la producció per quartó de les finques sembrades amb les mostres analitzades.

*Taula 15- Rendiments de collita de patata de llavor no afectada per Streptomyces sp.*

| EMPRESA      | Nº MOSTRA<br>LAB | VARIETAT         | PRODUCTOR  | Polígon | Parcel·la | Municipi | Kg / quartó  | % sarna  |
|--------------|------------------|------------------|------------|---------|-----------|----------|--------------|----------|
| ESPLET SAT   | CLA 25/11        | MARIS PEER       | GREENSEED  | 10      | 7         | SA POBLA | <b>3.560</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 28/11        | MARIS PEER       | GREENSEED  | 4       | 139       | SA POBLA | <b>6.770</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 35/11        | MARIS PEER       | GREENSEED  | 15      | 318       | SA POBLA | <b>6.335</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 44/11        | MARIS PEER       | B&C        | 8       | 73        | SA POBLA | <b>7.345</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 45/11        | TOSCANA          | SOLANA     | 10      | 153/154   | SA POBLA | <b>8.120</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 50/11        | MARIS PEER       | GREENSEED  | 8       | 206       | SA POBLA | <b>7.660</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 51/11        | MARFONA          | GREENSEED  | 15      | 100       | SA POBLA | <b>9.765</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 53/11        | PRINCESS         | SOLANA     | 6       | 685       | LLUBÍ    | <b>8.435</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 54/11        | TOSCANA          | SOLANA     | 10      | 153/154   | SA POBLA | <b>8.520</b> | <b>0</b> |
| ESPLET SAT   | CLA 49/11        | PENTLAND<br>DELL | GREENSEED  | 14      | 151       | SA POBLA | <b>9.785</b> | <b>0</b> |
| MATEU & UCO  | CLA 19/11        | MARIS PEER       | PEP        | 15      | 122       | SA POBLA | <b>4.353</b> | <b>0</b> |
| MATEU & UCO  | CLA 20/11        | LADY CHRISTL     | MEIJER     | 12      | 53        | SA POBLA | <b>3.668</b> | <b>0</b> |
| MATEU & UCO  | CLA 32/11        | LADY CHRISTL     | MEIJER     | 8       | 24        | SA POBLA | <b>5.474</b> | <b>0</b> |
| MATEU & UCO  | CLA 33/11        | MARIS PEER       | PEP        | 9       | 24        | SA POBLA | <b>8.140</b> | <b>0</b> |
| MATEU & UCO  | CLA 42/11        | MARIS PEER       | PEP        | 8       | 126       | SA POBLA | <b>6.762</b> | <b>0</b> |
| MATEU & UCO  | CLA 55/11        | NICOLA           | DANESPO    |         |           |          |              | <b>0</b> |
| MATEU & UCO  | CLA 56/11        | FOLVA            | DANESPO    |         |           |          |              | <b>0</b> |
| VDA A. SERRA | CLA 21/11        | INOVA            | VAN RINJIS | 15      | 358       | SA POBLA | <b>5000</b>  | <b>0</b> |
| VDA A. SERRA | CLA 57/11        | ARIZONA          | AGRICO     | 11      | 59        | CAMPANET | <b>4500</b>  | <b>0</b> |
| VDA A. SERRA | CLA 58/11        | SAFRANE          | GOPEX      | 1       | 33        | SA POBLA | <b>4000</b>  | <b>0</b> |

*Taula 16- Rendiments de collita de patata de llavor afectada per Streptomyces sp.*

| <b>EMPRESA</b> | <b>Nº MOSTRA LAB</b> | <b>VARIETAT</b> | <b>PRODUCTOR</b>      | <b>Polígon</b> | <b>Parcel·la</b>   | <b>Municipi</b> | <b>Kg / quartó</b> | <b>% sarna</b> |
|----------------|----------------------|-----------------|-----------------------|----------------|--------------------|-----------------|--------------------|----------------|
| ESPLET SAT     | CLA 17/11            | MARIS PEER      | Three Musketeers LTDD | <b>9</b>       | <b>54</b>          | <b>Sa Pobra</b> | <b>3.263</b>       | <b>2.57</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 18/11            | MARIS PEER      | Three Musketeers LTDD | <b>15</b>      | <b>46</b>          | <b>Sa Pobra</b> | <b>2.562</b>       | <b>2.45</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 26/11            | MARIS PEER      | B&C                   | <b>8</b>       | <b>246</b>         | <b>Sa Pobra</b> | <b>6.568</b>       | <b>5.54</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 27/11            | MARIS PEER      | B&C                   | <b>15</b>      | <b>118</b>         | <b>Sa Pobra</b> | <b>6.500</b>       | <b>5.97</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 36/11            | MARIS PEER      | GREENSEEDS            | <b>15</b>      | <b>48</b>          | <b>Sa Pobra</b> | <b>6.500</b>       | <b>7.27</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 41/11            | PRINCESS        | SOLANA                | <b>7</b>       | <b>276-284-650</b> | <b>Inca</b>     | <b>9.000</b>       | <b>7.45</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 43/11            | MARIS PEER      | B&C                   | <b>7</b>       | <b>273</b>         | <b>Inca</b>     | <b>7.000</b>       | <b>5.90</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 47/11            | MARABEL         | SOLANA                | <b>1</b>       | <b>124-125</b>     | <b>Sa Pobra</b> | <b>9.000</b>       | <b>3.02</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 52/11            | MARIS PEER      | FOSKETT               | <b>8</b>       | <b>168</b>         | <b>Sa Pobra</b> | <b>7.000</b>       | <b>2.37</b>    |
| ESPLET SAT     | CLA 46/11            | PATRICIA        | SOLANA                | <b>10</b>      | <b>184</b>         | <b>Sa Pobra</b> | <b>8.450</b>       | <b>0.45</b>    |
| MATEU & UCO    | CLA 33/11            | MARIS PEER      | PEP                   | <b>9</b>       | <b>95</b>          | <b>Sa Pobra</b> | <b>1.876</b>       | <b>1.22</b>    |
| ILLACAMP       | CLA 30/11            | MARIS PEER      | PEP                   | <b>9</b>       | <b>17</b>          | <b>Sa Pobra</b> | <b>4430</b>        | <b>0.75</b>    |
| ILLACAMP       | CLA 38/11            | MARIS PEER      | PEP                   | <b>15</b>      | <b>15</b>          | <b>Sa Pobra</b> | <b>5420</b>        | <b>1.80</b>    |
| ILLACAMP       | CLA 29/11            | MARIS PEER      | PARK AND SON          | <b>9</b>       | <b>122-129</b>     | <b>Sa Pobra</b> | <b>4980</b>        | <b>4.98</b>    |
| ILLACAMP       | CLA 31/11            | MARIS PEER      | PARK AND SON          | <b>9</b>       | <b>33</b>          | <b>Sa Pobra</b> | <b>3500</b>        | <b>6.55</b>    |
| VDA A. SERRA   | CLA 22/11            | MARIS PEER      | PEP                   | <b>6</b>       | <b>114</b>         | <b>Sa Pobra</b> | <b>4.119</b>       | <b>1.48</b>    |
| VDA A. SERRA   | CLA 24/11            | MARIS PEER      | PEP                   | <b>15</b>      | <b>125</b>         | <b>Sa Pobra</b> | <b>6342</b>        | <b>3.22</b>    |
| VDA A. SERRA   | CLA 23/11            | DORE            | AMPASOL (AGROPLANT)   | <b>1</b>       | <b>91</b>          | <b>Sa Pobra</b> | <b>3521</b>        | <b>27.98</b>   |
| VDA A. SERRA   | CLA 34/11            | MARFONA         | AGRICO                | <b>11</b>      | <b>59</b>          | <b>Campanet</b> | <b>9346</b>        | <b>10.19</b>   |
| VDA A. SERRA   | CLA 48/11            | MARFONA         | AGRICO                | <b>7</b>       | <b>610</b>         | <b>Inca</b>     | <b>10125</b>       | <b>3.96</b>    |
| VDA A. SERRA   | CLA 37/11            | MARIS PEER      | AGRICO                |                |                    |                 |                    | <b>1.74</b>    |

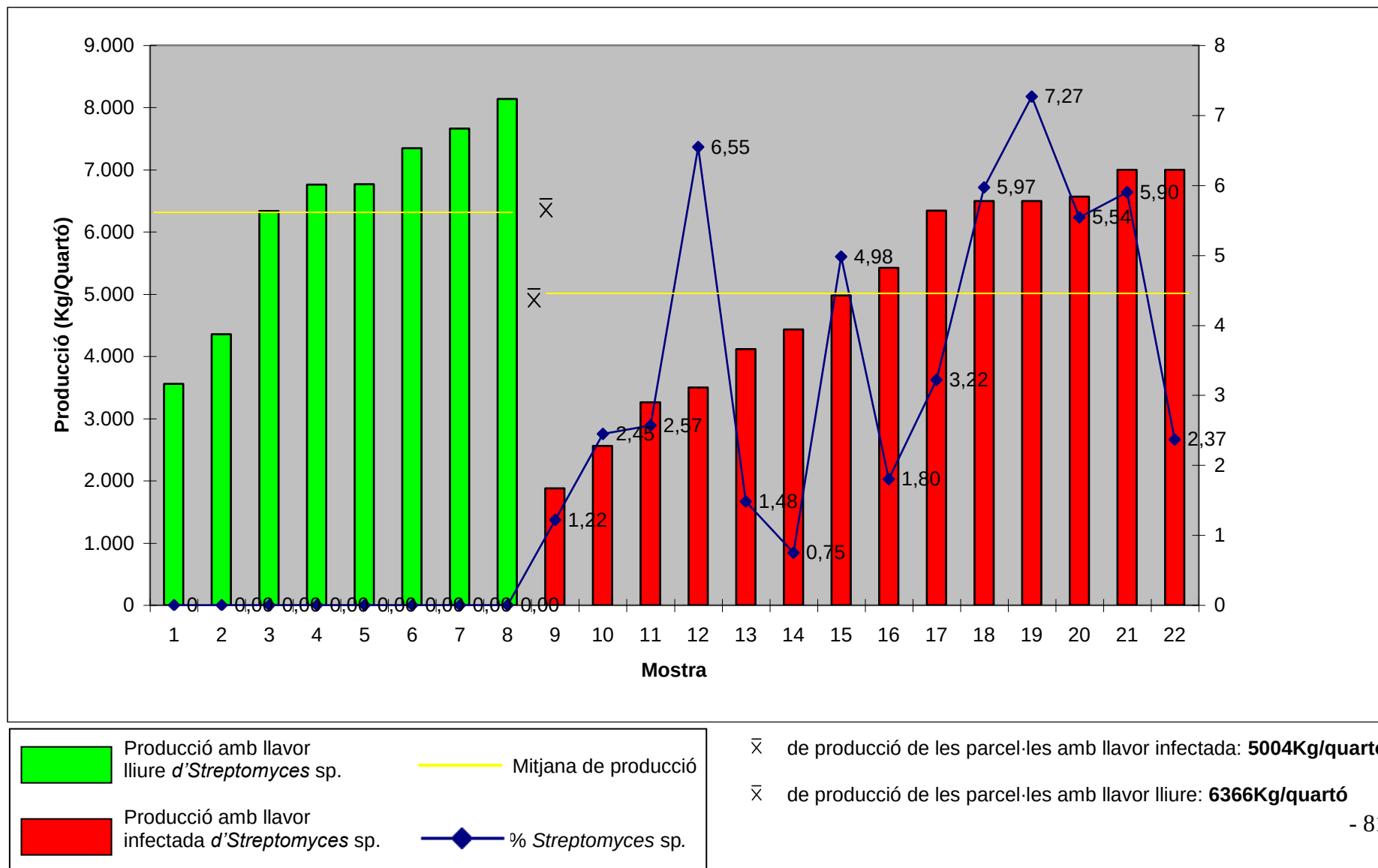
Com podem observar a les dues taules anteriors, s'han separat les dades de producció de les finques on s'hi va sembrar la patata analitzada, amb resultat negatiu a la presència d'*Streptomyces*, de les finques on el resultat fou positiu, amb afeccions més o menys importants.

S'ha realitzat una comparativa de producció entre parcel·les sembrades amb llavor afectada i parcel·les sembrades amb llavor sense presència d'*Streptomyces* sp. de la varietat Maris Peer, ja que el rendiment és una variable que depèn de la varietat i és aquesta l'única varietat de la que es disposen repeticions suficients per fer un anàlisi estadístic.

A la següent figura s'observa com la mitjana de les produccions de patata de sembra de la varietat Maris Peer infectada és de 5.004 Kg/quartó i de les patates de sembra lliures de sarna, de 6.366 Kg/quartó, essent evident una diferència de producció, que més endavant compararem estadísticament.

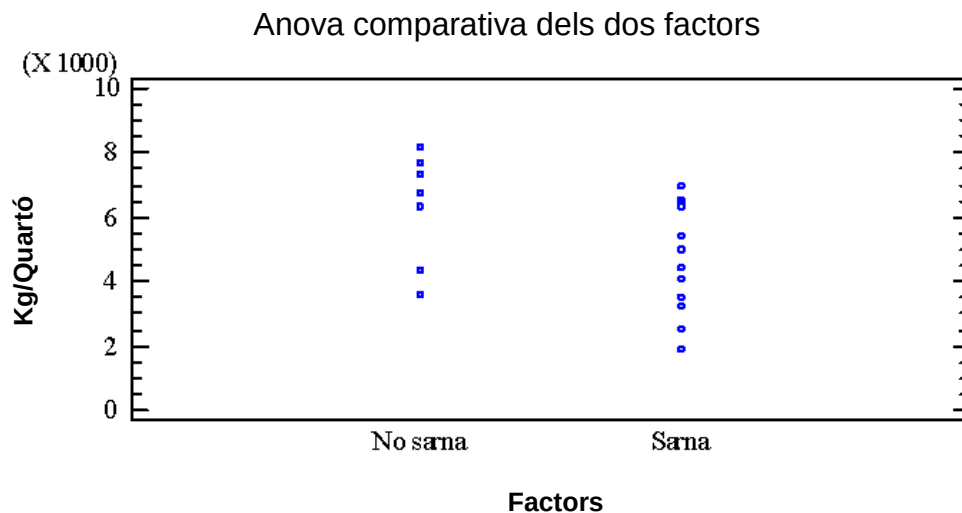


Figura 32– Relació percentual d'*Streptomyces* sp. a la patata de sembra amb la producció de la varietat Maris Peer al cicle de cultiu extra primerenc a Mallorca

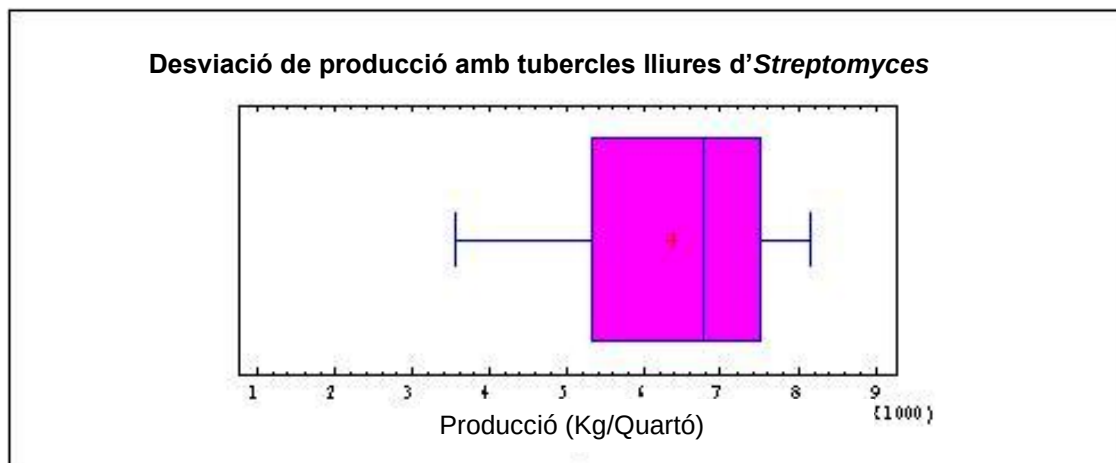


Observant la taula, i fent un anàlisi estadístic es desprèn que la presència d'*Streptomyces* sp. a la patata de sembra, sense tenir en compte factors com les condicions edafològiques, l'adob, el reg o el maneig del cultiu per part del pagès, no afecta al rendiment.

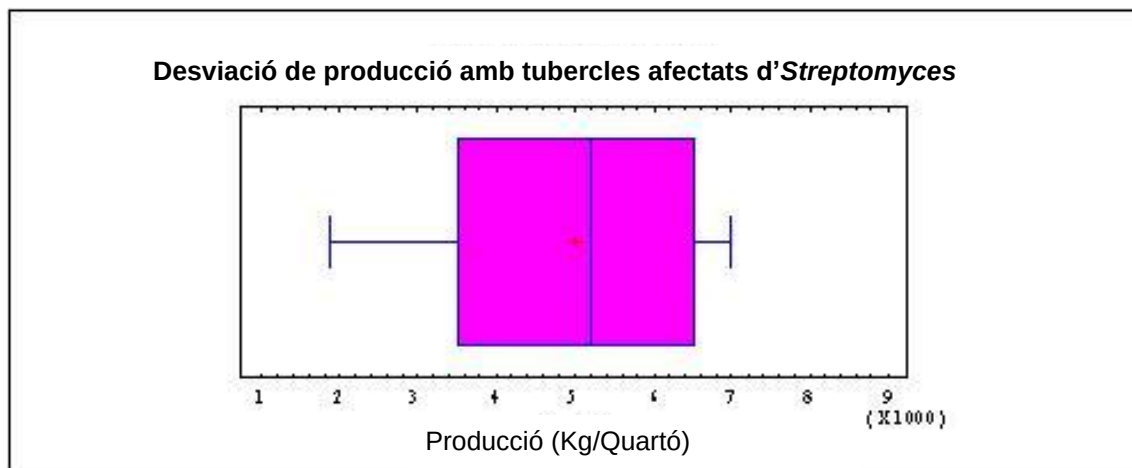
Per l'anàlisi estadístic esmentat s'ha emprat el programa informàtic Statgraphics Plus 4.1<sup>®</sup>, que ha donat com a resultat del anova amb un interval de confiança del 95 % (Test de Tukey) que no hi ha diferències significatives entre els dos factors (afecció per sarna / no afecció per sarna) respecte a la variable rendiment.



En quant a l'estudi de la desviació i heterogeneïtat de les dades, observam que les dades són molt disperses i la homogeneïtat és molt baixa.



Desviació típica de 1604,75



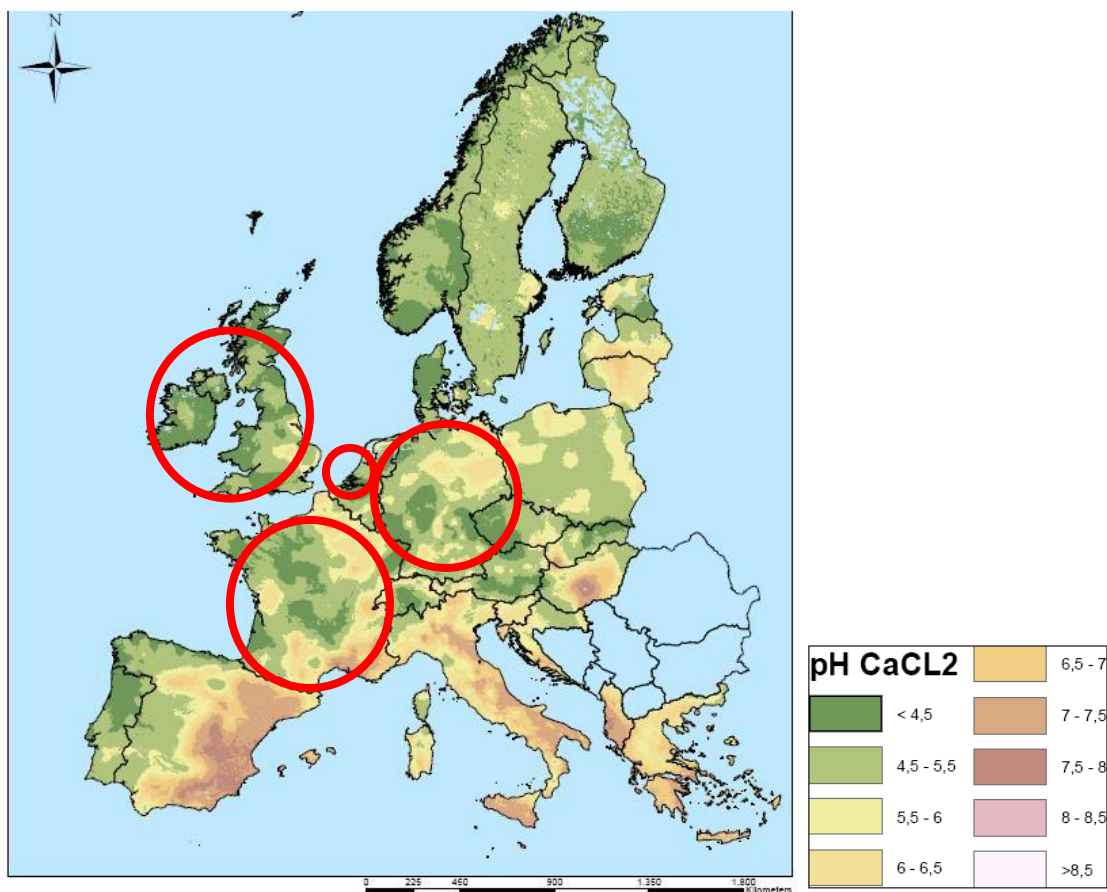
*Desviació típica de 1732, 21*

En quant a la qualitat de la patata de consum, s'ha de dir que es trobaren tres mostres amb possibles *Streptomyces sp.* però que una vegada aïllats, observàrem que no corresponien a tal bacteri. Per tant podem afirmar que la patata de consum no és afectada per *Streptomyces sp.*

#### 4.6.- Discussió general

Segons les observacions morfològiques dels aïllats, podem dir que la gran part de tubercles de sembra del cycle extraprimerenc, infectats amb *Streptomyces* sp., presenten *Streptomyces acidiscabies*, ja que com hem citat anteriorment, presenten un miceli llis, que segons deia Loria et al. (2001), representava dita espècie. Aquests tubercles de sembra, provenen majoritàriament d'Anglaterra-Gales, Alemanya, Escòcia, Holanda i França, tots ells amb sòls amb pH àcid, com bé podem observar al següent mapa:

Figura 33-Mapa d'acidesa de sòls d'Europa



Mapa procedent de la pàgina web:

<http://eusoils.jrc.ec.europa.eu/library/data/ph/>

Una vegada aquests tubercles es sembren a les nostres illes, amb sòls de pH bàsic, podem apreciar que a les mostres de terra analitzada no observam presència d'*Streptomyces acidiscabies*, sinó d'altres *Streptomyces* sp.

Per tant el que podem extreure d'aquestes afirmacions anteriors, i sempre basant-nos amb la cita de Loria et al. (2001), és que l'*Streptomyces acidiscabies*, està adaptada a sobreviure a sòls àcids i si al lloc on s'ha de desenvolupar el cultiu, presenta un sòl bàsic, com és el cas de la major part de Mallorca, aquesta espècie, no sobreviurà i per tant no observarem inòcul d'aquesta bactèria al sòl ni es transmetrà a les patates de consum. Això coincideix amb les observacions dels treballs de Flores et al., (2008) i aquesta podria ser la raó principal de l'absència de danys als tubercles recollits, a partir de les patates de sembra afectades.

Per demostrar amb més seguretat aquesta hipòtesis s'hauria de seguir fent feina per posar a punt la PCR amb els encebadors desenvolupats per Wanner (2006) que identifiquen *S. scabies* i *S. acidiscabies*, o bé emprar altres mètodes com RFLP i BOX (Flores, et al. 2008) o la seqüenciació.

En la part referent a la comparació de rendiments de cultiu, amb els resultats obtinguts, ens plantejem que de cara a propers assaigs, s'ha de tenir en compte que s'han de mantenir les mateixes condicions per totes les mostres de patata de sembra, per dur a terme tal tasca, allò més factible, seria poder disposar d'un camp d'experimentació on s'hi pogués sembrar una mostra representativa de cada lot de patata de sembra arribat a l'illa. Aquests assaigs permetrien disposar de les mateixes condicions edafoclimàtiques, de reg, d'adobat i de maneig del cultiu per part del pagès, per totes les mostres prospectades, de manera que s'eliminarien variables no controlades, i es podria fer un anàlisi estadístic.

## **6. CONCLUSIONS**

## 6.-Conclusions

1. Gran part dels lots patata de sembra importats del nord d'Europa, per sembrar al cicle extraprimercenc a Mallorca estan afectats per sarna comuna.
2. S'han aïllat *Streptomyces* sp. a partir de les patates de sembra afectades.
3. Mitjançant la tècnica de PCR, s'ha comprovat que aquests aïllats d'*Streptomyces* eren productors de zaxtomina i, per tant, patògens.
4. S'ha comprovat que amb les nostres condicions, tant els encebadors de PCR txtAB com els stx1a/1b detecten eficientment els *Streptomyces* patògens.
5. S'ha comprovat que amb les nostres condicions s'obtenen millors resultats en l'extracció d'ADN de *Streptomyces* sp. amb el mètode de Hao (2009) que amb el de Llop (1999).
6. Les observacions morfològiques dels aïllats indiquen que la sarna de l'esmentada patata de llavor, seria causada per *Streptomyces acidiscabies*.
7. Només tenint en compte l'afecció o no per sarna de la patata de sembra, no s'han trobat diferències significatives en la producció de patates de consum, ni en la quantitat, ni en la qualitat.
8. S'ha comprovat la presència d'*Streptomyces* patògens ( comprovat per PCR) al sòl d'algunes parcel·les. En aquest cas les observacions morfològiques indiquen que es tracta d'*Streptomyces scabies*.
9. No s'han obtingut resultats als assajos amb els mètodes de PCR per diferenciar les espècies *S. scabies* de *S. acidiscabies*.

## **7. BIBLIOGRAFIA**



## 7.- Bibliografia

ALONSO, F. (2002). El cultivo de la patata. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.

ALONSO, F. (2008). Enfermedades, plagas y fisiopatías de la patata. Junta de Castilla y León. Consejería de Agricultura y Ganadería. Castilla y León.

AGRIOS, G. N. (2004). Fitopatología. Ed. Limusa. Ciudad de México.

BUKHALID, R.A., TAKEUCHI, T., LABEDA, D. I LORIA, R. (2002). App. Environ. Microbiol. 68:738-744

EDEL, V. (1998). Polymerase Chain Reaction in Mycology: an Overview. A: Aplicaciones de PCR in Mycology. (Bridge, P. Arora, K, Reddy, A, and Elener, P.). Cab International. Wallingford, U.K. 1-20.

FLORES, R., Velasco, I., Montes, F. (2008). Detection and characterization of *Streptomyces* causing potato common scab in Western Europe. Plant Pathology 57: 162-169.

GARCÍA, M. I VICENT, A. (2007). Plagas i enfermedades y fisiopatías de la patata. Fundación Ruralcaja. València.

GOVERN DE LES ILLES BALEARS. (2006). Principals plagues i malalties de la Patata a les Illes Balears. Conselleria d'Agricultura i Pesca. Palma.

HAO, J., MENG, Q., YIN J., KIRK W. (2009). Characterization of a New *Streptomyces* Strain, DS3024. That causes potato common scab. Plant disease 93 (12): 1329-1334.

- HEALY, F. G., WACH, M., KRASNOFF S. B., GIBSON, D. M., LORIA, R., (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.
- HEALY, F. G., KRASNOFF, S. B., WACH, M., GIBSON, D. M., LORIA, R., (2002). Involvement of a cytochrome P450 monooxygenase in thaxtomin A biosynthesis by *Streptomyces acidiscabies*. *Journal of Bacteriology* 184, 2019-29.
- JUSCAFRESA, B., (1982). Patata. Su cultivo. Biblioteca agrícola AEDOS. Barcelona.
- KING, R. R., LAWRENCE, C. H., CLARK, M. C., I CALHOUN, L. A. (1989). Isolation and characterization of phytotoxins associated with *Streptomyces scabies*. *Chem. Commun.* 13: 849-850.
- KERS, J. A., CAMERON, K. D., JOSHI, M. V., (2005). A large, mobile pathogenicity on *Streptomyces* species. *Molecular Microbiology* 55, 1025-33.
- LLOP, P., CARUSO, P., CUBERO, J., MORENTE, C., LÓPEZ M. (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., BUKHALID, R. A., FRY, B. A., I KING, R. R. (1997). Plant pathogenicity in the genus *Streptomyces*. *Plant Disease* 81(8): 836-846.
- LORIA, R., CLARK, C. A., BUKHALID, R. A. I FRY, B. A. (2001). *Streptomyces* en: SCHAAD, N., JONES, J., CHUN, W. (2001). *Laboratory guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria*. APS Press. Minnesota.

- LAWRENCE C.H., CLARK, M.C., KING, R.R. (1990). Induction of common scab symptoms in aseptically cultured potato tubers by the vivotoxin, thaxtomin, *Phytopathology* 80: 606-608
- MAROTO, J. (1983). *Horticultura herbàcea especial*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- MAS, L. (2011). Secció d'estadística agrària-CAIB. Comunicació personal.
- MAYOL, B., (1995). Informe técnico del sector de la patata en Balears. Govern Balear. Conselleria d'Agricultura, Comerç i Indústria. Palma.
- OLMO, D. (2001). Identificación de aislados de *Fusarium oxysporum* Schlecht. Procedentes de *Phoenix spp.* Estudios de patogeneicidad y diagnóstico mediante PCR. Trabajo fin de carrera. Universidad Politécnica de València.
- PASCO, C., I JOUAN, B., (1998). Sarna común de la patata (*Streptomyces scabies*; *Streptomyces sp.*). A: La Patata. (ROUSSELLE, P., ROBERT, Y., CROSNIER, J.C.). Editorial Mundi-Prensa. Madrid.
- RUANO, B., (1999). Evolución de las poblaciones de nemátodos (*Globodera spp*) en patata en Mallorca. Govern Balear. Conselleria d'Economia, Agricultura Comerç i Indústria. Palma.
- SCHAAD, N., JONES, J., CHUN, W. (2001). Laboratory guide for identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press. Minnesota.
- SMITH, I., DUNEZ, J., PHILLIPS, D., LELLIOTT, R., ARCHER, S. (1992). Manual de enfermedades de las plantas. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- STEVENSON, W., LORIA, R., FRANC, G., WENGARTNER, D. (2004). Compendium of potato diseases. APS Press. Minnesota.

WALE, S., PLATT, H., CATTLIN, N. (2007). Diseases, pests and disorders of Potatoes. Manson Publishing. London.

WANNER, L. A. (2006). A survey of genetic variation in *Streptomyces* isolates causing potato common scab in the United States. *Phytopathology* 96:1363-1371.

WHITE, J., BRUNS, T, LEE, S i TAYLOR, W (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. A: PCR protocols. A guide to Methods and Applications. (Innis, A., Gelfand, H., Sninsky, J., i White, T.). Academic press. San Diego: 315-322.

Directiva 2002/56 CE del Consell de 13 de juny de 2002 relativa a LA COMERCIALITZACIÓ DE PATATES DE SEMBRA.

REGLAMENT TÈCNIC DE CONTROL I CERTIFICACIÓ DE LA PATATA DE SEMBRA (O.M. de 1-7-1986, B.O.E. 15-7-1986, nº 168/1986, pàgina 25520-25521)

Fonts electròniques:

<http://www.agroancash.gob.pe/node/25> (Consulta: 27/12/2011)

<http://www.infoagro.com/hortalizas/patata2.htm> (Consulta: 11/11/2011)

<http://eusoils.jrc.ec.europa.eu/library/data/ph/> (Consulta: 08/06/2012)