

# VIRUS Y FITOPLASMAS DE CHILE: UNA PERSPECTIVA REGIONAL

Rodolfo Velásquez-Valle, Luis Roberto Reveles-Torres, Jorge Armando Mauricio-Castillo,  
Jaime Mena-Covarrubias, Mario Domingo Amador-Ramírez, Silvia Salas-Muñoz, Manuel Reveles-Hernández,  
Rebecca Creamer, Yasmin Ileana Chew-Madinaveitia, Ángela María Chapa-Oliver,  
Laura Mejía-Teniente, Mario Martín González-Chavira, José Ángel Cid-Ríos



# **SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN**

**LIC. ENRIQUE MARTÍNEZ Y MARTÍNEZ**  
Secretario

**LIC. JESÚS AGUILAR PADILLA**  
Subsecretario de Agricultura

**LIC. JUAN MANUEL VERDUGO ROSAS**  
Subsecretario de Desarrollo Rural

**M.C. RICARDO AGUILAR CASTILLO**  
Subsecretario de Alimentación y Competitividad

## **INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRÍCOLAS Y PECUARIAS**

**DR. LUIS FERNANDO FLORES LUI**  
Director General

**DR. MANUEL RAFAEL VILLA ISSA**  
Coordinador de Investigación, Innovación  
y Vinculación

**M.C. JORGE FAJARDO GUEL**  
Coordinador de Planeación y Desarrollo

**MTRO. EDUARDO FRANCISCO BERTERAME BARQUÍN**  
Coordinador de Administración  
y Sistemas del INIFAP

### **CENTRO DE INVESTIGACIÓN REGIONAL NORTE CENTRO**

**DR. HOMERO SALINAS GONZÁLEZ**  
Director Regional

**DR. URIEL FIGUEROA VIRAMONTES**  
Director de Investigación

**DR. HÉCTOR MARIO QUIROGA GARZA**  
Director de Planeación y Desarrollo

**ING. HÉCTOR MANUEL LOPEZ PONCE**  
Director de Administración

**DR. FRANCISCO GPE. ECHAVARRÍA CHÁIREZ**  
Director de Coordinación y Vinculación en Zacatecas

## **VIRUS Y FITOPLASMAS DE CHILE: UNA PERSPECTIVA REGIONAL**

***Rodolfo Velásquez-Valle***

Dr., Investigador del Programa de Fitopatología  
Campo Experimental Zacatecas, INIFAP

***Luis Roberto Reveles-Torres***

Dr., Investigador del Programa de Recursos Genéticos  
Campo Experimental Zacatecas, INIFAP

***Jorge Armando Mauricio-Castillo***

Dr., C.A.-UAZ-198 Agricultura Alternativa  
Unidad Académica de Agronomía, UAZ

***Jaime Mena-Covarrubias***

Dr., Investigador del Programa de Entomología  
Campo Experimental Zacatecas, INIFAP

***Mario Domingo Amador-Ramírez***

Dr., Investigador Invitado  
Campo Experimental Zacatecas, INIFAP

***Silvia Salas-Muñoz***

Dra., Investigadora Invitada  
Campo Experimental Zacatecas, INIFAP

***Manuel Reveles-Hernández***

Ing., Investigador del Programa de Hortalizas  
Campo Experimental Zacatecas, INIFAP

***Rebecca Creamer***

Dra., Professor of Department Entomology,  
Plant Pathology and Weed Science,  
New Mexico State University, Las Cruces, NM.

***Yasmin Ileana Chew-Madinaveitia***

MC., Investigadora del Programa de Fitopatología  
Campo Experimental la Laguna, INIFAP

***Mario Martín González-Chavira***

Dr., Investigador del Programa de Chile  
Campo Experimental Bajío, INIFAP

***Ángela María Chapa-Oliver***

Dra., Investigadora Invitada  
Universidad Autónoma de Querétaro

***Laura Mejía-Teniente***

Dra., Investigadora Invitada  
Universidad Autónoma de Querétaro

***José Ángel Cid-Ríos***

Ing., Investigador del Programa de Frijol  
Campo Experimental Zacatecas, INIFAP

# **VIRUS Y FITOPLASMAS DE CHILE: UNA PERSPECTIVA REGIONAL**

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y  
Pecuarias  
Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina  
Delegación Coyoacán  
México, D.F.  
C.P. 04010 México, D.F. Teléfono (55)  
3871-8700

ISBN: 978-607-37-0316-1

Primera Edición: Diciembre 2014

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

## **Cita correcta:**

Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., Mauricio-Castillo, J.A., Mena-Covarrubias, J., Amador-Ramírez, M.D., Salas-Muñoz, S., Reveles-Hernández, M., Creamer, R., Chew-Madinaveitia, Y.I., Chapa-Oliver, A.M., Mejía-Teniente, L., González-Chavira, M.M. y Cid-Ríos, J.A. 2014. Virus y fitoplasmas de Chile: una perspectiva regional. Libro técnico No. 10. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP, 279 p.

# CONTENIDO

	Página
AGRADECIMIENTOS .....	vi
PRESENTACIÓN .....	vii
PRÓLOGO .....	viii
<b>CAPITULO 1</b>	1
Importancia económica del cultivo de chile .....	1
Impacto en el cultivo por la presencia de virus .....	2
Infecciones mixtas .....	9
Impacto en el cultivo por la presencia de fitoplasmas .....	11
Insectos vectores .....	11
Daños .....	14
Conclusiones .....	18
Literatura Citada.....	19
<b>CAPITULO 2 EL CHILE EN EL NORTE CENTRO DE MÉXICO.....</b>	25
Introducción .....	25
Usos .....	26
Descripción de tipos .....	28
Uso de tecnología en la región norte centro de México .....	39
Uso de fertilizantes químicos .....	40
Asistencia técnica .....	41
Acciones sanitarias .....	42
Semilla mejorada .....	44
Conclusiones .....	44
Literatura Citada .....	45
<b>CAPITULO 3 BEGOMOVIRUS Y CURTOVIRUS: GENERALIDADES Y MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO .....</b>	51
Introducción .....	51
Descripción de los Geminivirus .....	53
Organización genómica de los Begomovirus .....	56
Diferencias entre los genes de Begomovirus monopartitas y bipartitas ...	61
Proteína de la cápside (CP) .....	62

Proteína del movimiento (MP) .....	63
Replicación de los Geminivirus .....	68
Los Begomovirus y Curtovirus en México .....	71
Begomovirus, Curtovirus y sus vectores .....	74
Malezas como Reservorios de Geminivirus .....	79
Métodos de Diagnóstico.....	80
Literatura Citada .....	88
<b>CAPITULO 4 FITOPLASMAS COMO AGENTES PATOGENICOS Y SU DIAGNÓSTICO POR MEDIOS MOLECULARES .....</b>	<b>99</b>
Introducción.....	99
Características .....	100
Mecanismo de transmisión .....	103
Hospedantes .....	107
Sintomatología .....	109
Clasificación de fitoplasmas .....	111
Técnicas para la detección de fitoplasmas .....	114
Literatura Citada .....	121
<b>CAPITULO 5 INSECTOS VECTORES DE VIRUS Y FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE CHILE EN MÉXICO .....</b>	<b>129</b>
Introducción .....	129
El proceso de transmisión de un virus .....	131
Modo de transmisión de los virus a través de sus insectos vectores .....	132
Tipos de virus más comunes que afectan el chile en México .....	133
Las especies de insectos vectores que transmiten virus y fitoplasmas .....	136
Las chicharritas (Familia Cicadellidae) .....	136
La paratrioza del chile (Familia Triozidae).....	142
Las mosquitas blancas (Familia Aleyrodidae).....	145
Los pulgones (Familia Aphididae) .....	147
Los trips (Familia Thripidae) .....	149
Literatura Citada .....	150
<b>CAPITULO 6 LOS VIRUS EN EL CULTIVO DE CHILE EN LA COMARCA LAGUNERA .....</b>	<b>155</b>
Introducción .....	155

Incidencia y severidad .....	156
Virus asociados al cultivo de chile .....	158
Transmisión de virus por semilla .....	160
Dorado del Fruto .....	163
Maleza como reservorio de virus .....	164
Descripción de los virus detectados en la Comarca Lagunera .....	165
Virus Mosaico del Pepino (CMV) .....	165
Virus Motedo del Chile (PepMoV) .....	167
Virus de la Marchitez Manchada del Tomate (TSWV) .....	169
Virus Jaspeado del Tabaco (TEV) .....	171
Virus Mosaico de la Alfalfa (AMV) .....	173
Virus Mosaico del Tabaco (TMV) .....	174
Literatura Citada .....	175
<b>CAPITULO 7 EPIDEMIOLOGÍA DE VIRUS Y FITOPLASMAS DE CHILE</b>	
<b>PARA SECADO .....</b>	<b>179</b>
Introducción .....	179
Presencia de virus en almacigos .....	183
Infecciones mixtas .....	185
El papel de la maleza .....	188
Vectores de virus y fitoplasmas .....	191
Transmisión por semilla .....	194
Influencia de factores ambientales .....	196
Comentarios finales .....	198
Literatura Citada .....	199
<b>CAPITULO 8 VIRUS EN EL CULTIVO DE CHILE .....</b>	<b>205</b>
Introducción .....	205
Virus Fitopatógenos .....	208
Familias de virus fitopatógenos con incidencia en el cultivo de chile .....	211
Familia Bromoviridae .....	211
Familia Comoviridae .....	213
Familia Potyviridae .....	213
Familia Virgaviridae .....	215
Familia Geminiviridae .....	217

Clasificación .....	218
Impacto económico de los begomovirus .....	220
Enfermedad del rizado amarillo del chile (PHYVV y PepGMV) .....	223
Estrategias de control para geminivirus .....	226
Estrategias de ingeniería genética para conferir resistencia a virus en plantas .....	229
Literatura Citada .....	231
<b>CAPITULO 9 CURTOVIRUS INFECTION OF PEPPERS IN MEXICO AND NEW MEXICO</b> .....	239
Introduction .....	239
Disease .....	239
Viral pathogens .....	242
Insect vectors .....	244
Disease management .....	249
Literature Cited .....	253
<b>CAPITULO 10 MANEJO DE ENFERMEDADES PROVOCADAS POR VIRUS Y FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE CHILE PARA SECADO</b> .....	257
Introducción .....	257
Prácticas de control .....	259
I.Reducción de inóculo primario .....	259
1.Empleo de semilla sana .....	259
2.Eliminación de hospederos invernales .....	261
3.Monitoreo de vectores de virus y fitoplasmas .....	263
4.Aplicación de insecticidas .....	263
5.Eliminación de plántulas enfermas .....	264
6.Recomendaciones generales .....	264
7.Limpieza de la parcela a trasplantar .....	264
8.Empleo de cultivos barrera .....	265
II. Reducción de la dispersión .....	268
1.Empleo de cultivos intercalados .....	268
2.Trampas amarillas pegajosas .....	268
3.Monitoreo de vectores de virus y fitoplasmas .....	269
4.Sanidad del cultivo .....	271

5.Saneamiento del cultivo .....	272
6.Empleo de insecticidas .....	272
7.Empleo de arcillas .....	273
8.Uso de acolchados o cubiertas vegetales .....	273
9.Destrucción de residuos .....	274
10.Activadores de Resistencia .....	275
11. Otras medidas .....	275
Literatura Citada .....	276

## AGRADECIMIENTOS

El presente libro fue posible al apoyo económico tanto del proyecto fiscal: **“SUSCEPTIBILIDAD DEL GERMOPLASMA DE CHILE AL AMARILLAMIENTO, ETIOLOGÍA Y DIVERSIDAD GENÉTICA DE LOS AGENTES CAUSALES”**, como al del proyecto sectorial SAGARPA-CONACYT de Chile: **“MEJORAMIENTO INTEGRAL DE LA PRODUCTIVIDAD EN EL CULTIVO DE CHILE EN MÉXICO PARA AUMENTAR LA COMPETITIVIDAD, MEDIANTE EL INCREMENTO DEL RENDIMIENTO Y CALIDAD”**.

## PRESENTACIÓN

Una de las hortalizas más emblemáticas de México es, junto con el jitomate, el chile en sus muy diversas formas; de manera comercial o doméstica la planta se encuentra presente en la mayor parte del territorio nacional y contribuye, incluso a darle identidad local a la región donde se produce.

Además del aspecto gastronómico, el chile asume un importante papel económico en la agricultura de algunas regiones de nuestro país como es el caso del norte centro de México, donde llega a representar hasta el 35% del valor de la producción agrícola. La importancia social del cultivo es aún mayor ya que requiere mano de obra desde el establecimiento de almácigos en febrero hasta la cosecha, clasificación y empaque durante diciembre; prácticamente todo el año se genera una demanda de mano de obra que incide en la economía local y regional.

Sin embargo, el largo proceso de producción de esta hortaliza no está libre de riesgos causados por fenómenos climáticos adversos como heladas, inundaciones, etc, pero marcadamente por la presencia de plagas y enfermedades que reducen año con año el potencial productivo del cultivo.

En este sentido el presente libro pretende reunir la información generada sobre la presencia de virus y fitoplasmas así como la concerniente a los vectores presentes en una amplia región de México que comprende desde Guanajuato hasta la Comarca Lagunera. Se agrega información generada en el estado de Nuevo México, EUA por considerar que la región productora de chile en esa región enfrenta problemas similares en condiciones agroecológicas similares a las del norte centro de México.

La obra contiene, en resumen, la información más actual que se ha generado sobre la importancia, incidencia, identificación y manejo de enfermedades causadas por virus y fitoplasmas en el cultivo de chile en instituciones de investigación y docencia como algunos Campos Experimentales pertenecientes al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), la Universidad Autónoma de Zacatecas, la Universidad Autónoma de Querétaro y la Universidad Estatal de Nuevo México (New Mexico State University).

El libro técnico "Virus y fitoplasmas de chile: Una perspectiva regional" contribuye a mejorar el proceso de producción de chile al proporcionar información actual que, sin duda, mejorará la toma de decisiones en el combate de estas enfermedades.



**Dr. Francisco G. Echavarría Cháirez**  
**Director de Coordinación y Vinculación Campo Experimental Zacatecas**  
**Diciembre de 2014**

## PRÓLOGO

La presencia de enfermedades que reducen la población de plantas y abaten el rendimiento de los cultivos es una constante a través del tiempo, regiones y cultivos; en México, tradicionalmente se ha considerado a la marchitez causada por *Phytophthora capsici* Leo., como la principal enfermedad de esa hortaliza, sin embargo en pocos años, en el norte centro de México se ha registrado la emergencia de nuevas sintomatologías que coinciden total o parcialmente con las causadas por las infecciones virales o por fitoplasmas; con frecuencia, la incidencia y severidad de estas epidemias llega a sobrepasar a las de marchitez, desplazándola a un segundo sitio de importancia.

En el libro “Virus y fitoplasmas: una perspectiva regional” se aborda una amplia gama de temas relacionados con estos brotes epidémicos que afectan al cultivo de chile: la temática relacionada con la importancia económica de este tipo de enfermedades en Chile y con ejemplos en otros patosistemas es discutido en el primer capítulo de la obra.

Los capítulos 2 y 3 se relacionan con aspectos biológicos de begomovirus, curtovirus y fitoplasmas que infectan las plantas de Chile en el norte centro de México; especial énfasis es dado a la identificación utilizando herramientas moleculares.

Un factor que aumenta la complejidad del patosistema virus–fitoplasma–chile es, sin duda, la presencia y actividad de sus vectores; la descripción de la transmisión viral o de fitoplasmas constituye el tema central del capítulo cinco.

En el capítulo 6 se analiza y discute la ocurrencia de virus en los tipos de Chile cultivados en La Laguna; se proporciona información acerca de las propiedades de los virus detectados en esa región; sus vectores y sintomatologías asociadas con la infección.

El desarrollo de las epidemias virales o causadas por fitoplasmas pueden iniciar o retrasar su desarrollo en función de la ocurrencia de factores

climáticos o de aspectos biológicos propios del patógeno como su forma de transmisión; el manejo agronómico del cultivo influye directamente en la magnitud de estas epidemias; estos temas son abordados en el capítulo 7.

La temática del capítulo 8 se desarrolla principalmente en torno a la presencia de geminivirus en el cultivo de chile en el estado de Guanajuato, sin embargo, también proporciona información acerca de la incidencia de virus de ARN en esa misma área a la vez que proporciona información del papel de la biotecnología en la investigación realizada sobre esos patógenos.

En el capítulo 9 se explica la situación de las infecciones provocadas por Curtovirus, especialmente *Beet mild curly top virus* en las parcelas comerciales de chile en Nuevo Mexico, EUA.

Finalmente, el capítulo 10 proporciona una guía de las principales tácticas de manejo integrado que pueden ser de utilidad para reducir las pérdidas provocadas por este grupo de patógenos.

# CAPITULO 1

## IMPACTO ECONÓMICO DE VIRUS Y FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE CHILE (*Capsicum annum* L.).

Mario Domingo Amador-Ramírez<sup>1</sup>

Rodolfo Velásquez-Valle<sup>2</sup>

### Importancia económica del cultivo de chile

El chile es un importante cultivo hortícola producido en Zacatecas en más de 30 040 hectareas cosechadas en 2013, ocupando el primer lugar a nivel nacional por su superficie sembrada y cosechada, y con una aportación al valor de las producción del 14.8% (SIAP, 2013). Los municipios del Estado con mayor superficie cosechada en 2013 fueron Fresnillo, Guadalupe, Pánuco, Gral. Enrique Estrada, Gral. Pánfilo Natera, Calera de Víctor Rosales y Zacatecas con superficies que fluctuaron entre 7,947 y 1,003 hectáreas. De acuerdo con el Plan Rector del Sistema Producto Chile (Consejo y Comité Sistema Producto Chile Seco, 2010), el Estado se caracteriza por producir los siguientes tipos de chile para secar: Ancho (12, 823 ha), Guajillo (17,345 ha), de Árbol (1, 069 ha), Pasilla (3, 672 ha) y Puya (1, 975 ha).

---

<sup>1</sup> Investigador Invitado, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP;

<sup>2</sup> Programa de Fitopatología, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP.

En 2013, las regiones productoras de Chile de Zacatecas contribuyeron con un 22.6% a la producción de México de 132, 910 hectáreas.

Los virus y fitoplasmas son patógenos responsables de algunas enfermedades presentes en cultivos hortícolas y árboles frutales. Actualmente, el control de estos patógenos es difícil porque a la fecha no existen pesticidas que puedan reducir sus efectos dañinos. En forma general, entre las estrategias necesarias para alcanzar un manejo exitoso de virus y fitoplasmas está el control preventivo constituido mediante el uso de material vegetal sano, así como la detección de mecanismos de transmisión junto con la identificación de plantas hospederas.

## **Impacto en el cultivo por la presencia de virus**

### *Generalidades*

Los virus son parásitos obligados, es decir, requieren de un hospedero vivo para su desarrollo y multiplicación. Una vez que las partículas virales se encuentran dentro de una célula, se deshacen de su cubierta proteica y el ácido nucleico dirige la producción de múltiples copias de el mismo y de las proteínas relacionadas, lo cual conduce a al desarrollo de nuevas partículas virales. El movimiento de célula a célula de estos patógenos ocurre a través de “puentes” citoplasmáticos

entre células llamados plasmodesmos; la diseminación de las partículas virales dentro de la planta ocurre por medio del floema; la manifestación de la enfermedad ocurre, al menos parcialmente, debido a que la infección viral provoca una re localización de los fotosintatos así como una alteración de los procesos celulares del hospedero (Ellis *et al.*, 2008). Algunos estudios han profundizado en el efecto de la infección viral sobre el comportamiento de las plantas de chile; Cordrey y Bergman (1979) reportaron que las raíces de plantas de chile (var. Yolo Wonder) inoculadas con CMV redujeron su tamaño en mayor proporción que el enanismo expresado en la parte aérea y frecuentemente la reducción en la altura de planta precedió a la manifestación de síntomas foliares; además, las hojas basales de las plantas infectadas poseían una concentración menor de K, Mn y Fe que las de plantas sanas.

Se estima que en México el cultivo de chile sufre pérdidas de entre 20 y 100% causadas por enfermedades virales (Anaya-López *et al.*, 2003).

La infección por un miembro del género Tobamovirus (*Zucchini yellow mosaic virus*) de plantas de calabacita redujo el contenido total de clorofila a (48%), clorofila b (53%) y carotenoides (52%) en hojas

que mostraban síntomas como mosaico, ampollas, tamaño reducido y deformación; en Chile la infección de otro miembro de esta familia, el virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus: TMV*) indujo la aparición de síntomas como enanismo, necrosis de tallo, hojas y frutos, mosaico y deformación en hojas, defoliación y frutos pequeños; además se registró la reducción de parámetros de desarrollo vegetativo, de contenido relativo de agua, de clorofila a y b y de producción en fresco y seco; también se observó un aumento en el contenido de prolina en las hojas (Pazarlar *et al.*, 2013).

#### *Virus jaspeado del tabaco (Tobacco etch virus: TEV)*

Reddick (2003) indica que este virus es uno de los más destructivos en EUA; la incidencia de la enfermedad puede alcanzar el 100% con una baja de 70% en el rendimiento. Nutter *et al.* (1989) cuantificaron el impacto de la epidemia de TEV en el rendimiento de plantas de Chile Bell (Yolo Wonder) en Georgia, EUA, durante varios ciclos de cultivo; la infección temprana abatió el rendimiento en 74 y 73% durante 1986 y 1987 respectivamente mientras que cuando se registró una infección tardía la reducción fue de 5 y 7% en 1986 y 1987 respectivamente. En Tamaulipas, México se mencionaron daños cuya severidad fluctuaba entre 10 y 100% para este virus; otras áreas productoras de Chile en México como Celaya, Guanajuato y Autlán de

La Grana, Jalisco también han reportado incidencia de este virus de 90% (Garzón *et al.*, 2012).

#### *Virus Y de la papa (Potato virus Y: PVY)*

Las plantas de Chile infectadas con PVY pueden también sufrir coinfecciones que hacen más severos los síntomas y consecuentemente las pérdidas en rendimiento son mayores; entre los virus más frecuentemente encontrados junto con el PVY se encuentran virus del mosaico de la alfalfa (AMV), el jaspeado del tabaco (TEV) y el mosaico del pepino (CMV) (Luis-Arteaga y Ponz, 2003).

#### *Virus del mosaico del pepino (Cucumber mosaic virus: CMV)*

Un experimento realizado por Agrios *et al.* (1985) en plantas de *C. annuum* ("Lady Bell") reveló que las plantas inoculadas con este virus al inicio del ciclo desarrollaron anillos necróticos y patrones parecidos a la hoja de encino en las hojas mientras que en infecciones sistémicas las hojas desarrollaban un moteado verde amarillento y eran delgadas y pequeñas; en inoculaciones tardías estos mismos síntomas aparecían atenuados. Las plantas inoculadas al inicio del ciclo fueron significativamente de menor tamaño, tuvieron menos hojas y éstas fueron de menor tamaño así como menos frutos totales y se redujo el número de frutos con calidad comercial; consecuentemente, el

desarrollo de las plantas y el rendimiento mejoró a medida que se retrasó la inoculación con el virus.

*Virus de la punta rizada del betabel (Beet curly top virus: BCTV)*

Las plantas infectadas con este virus frecuentemente son de menor tamaño, con hojas cloróticas y si son infectadas en etapas tempranas no producen frutos. Los frutos producidos en plantas que se infectan tardíamente son deformes y pequeños (Creamer *et al.*, 2003). Las pérdidas indirectas debidas al combate de la enfermedad se estiman en 1.27 millones de dólares anuales debido a la aspersión de insecticidas para control del vector en 40 a 100, 000 hectáreas en California, EUA (Creamer *et al.*, 1996). Las pérdidas provocadas por este virus en otros cultivos pueden ser cuantiosas; en 2001, cientos de acres con jitomate en el Valle Central de California fueron afectadas con esta enfermedad; las pérdidas alcanzaron los millones de dólares; una situación similar ocurrió en el estado de Washington donde el cultivo de frijol sufrió el ataque de este patógeno (Chen *et al.*, 2010).

El impacto de la infección por BCTV también ha sido descrito en plantas de remolacha (*Beta vulgaris* L.); según Duffus y Skoyen (1977) los aislamientos de BCTV en California causaban severas pérdidas aún cuando la inoculación de plantas ocurriera 10 semanas después de la

siembra cuando más del 40% del ciclo de desarrollo del cultivo había transcurrido; tanto el rendimiento del rizoma como el contenido de sucrosa fueron significativamente reducidos. Un estudio posterior (Wintermantel y Kafka, 2006), indicó que cuando las plantas de remolacha contaban con dos hojas y fueron inoculadas expresaron enanismo severo; el peso total de plantas sanas (testigos) fue de tres veces mayor que el de plantas infectadas, independientemente de si eran susceptibles o resistentes al virus, sin embargo, cuando la inoculación se realizó con plantas de cuatro y seis hojas se observó una separación entre fenotipos resistentes y susceptibles. Strausbaugh *et al.* (2007) mencionaron que el rendimiento del rizoma estuvo negativamente correlacionado con el grado de daño; por cada unidad de incremento en la escala de daño, el rendimiento del rizoma se abatió entre 5.7 y 6.9 t/ha.

El ataque de las especies virales comprendidas dentro del género *Tospovirus* causa pérdidas en Argentina que alcanzan el 80%; sin embargo, en jitomate las pérdidas de rendimiento pueden representar un 54% de reducción en el número de frutos y 65% menos peso de frutos (Williams *et al.*, 2001).

*Virus de la marchitez manchada del jitomate (Tomato spotted wilt virus: TSWV)*

Se han reportado pérdidas provocadas por TSWV de hasta 100 millones de dólares en EUA durante 1996 en los cultivos como Chile, cacahuete y tabaco, sin embargo solo en el estado de Georgia, EUA, las pérdidas por TSWV ascendieron a 31.5 millones de dólares en solamente el cultivo de cacahuete durante 2005 (Olatinwo *et al.*, 2008).

Geminivirus

De acuerdo con Garzón-Tiznado *et al.* (2002) las pérdidas provocadas por geminivirus en los estados de Jalisco, Guanajuato y San Luis Potosí, en donde se cultiva el 20% de la superficie de Chile y el 10% del tomate a nivel nacional, oscilan entre 30 y 40% del área cultivada. Otros estudios han revelado (Bravo-Luna *et al.*, 2000) que la fecha de trasplante temprano (1 – 15 de abril) alcanzó una incidencia máxima del geminivirus texano del Chile cercana al 80% en la etapa de fructificación mientras que los trasplantes en fecha tardía (1 – 15 de junio) alcanzaron ese mismo nivel de incidencia viral desde la etapa de plántula.

*Virus del mosaico dorado del Chile (Pepper golden mosaic virus: PepGMV).*

De acuerdo con Yañez (1991) las pérdidas en rendimiento causadas por este virus en parcelas de Chile serrano pueden ascender hasta 43%.

### ***Infecciones mixtas***

Las infecciones de Chile con dos o más patógenos virales son comunes (Abdalla *et al.*, 1991; Velásquez-Valle *et al.*, 2012) y frecuentemente las estimaciones de las pérdidas provocadas por enfermedades virales se reportan involucrando más de un patógeno. Los reportes de pérdidas provocadas por Potyvirus y Geminivirus en cultivos de Chile son variables; Quiñones *et al.* (2013) mencionan pérdidas de rendimiento entre 20 y 100%, aunque también señalan que la incidencia mixta de los potyvirus PVY y TEV y el begomovirus *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) pueden alcanzar más del 90% en un área. De acuerdo con Lugo *et al.* (2011) las pérdidas estimadas causadas por Geminivirus en los EUA alcanzan el 20% de la producción pero en otros países como República Dominicana, México, Cuba, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Costa Rica, Venezuela y Brasil el daño es aún mayor y oscila entre 30 y 100% de pérdida de

rendimiento en adición a los costos derivados del control de estos patógenos.

La presencia del CMV en México fue reportada por primera vez por Delgado (1974) y frecuentemente se le encuentra asociado con otros virus como el TEV y TMV por lo que, según Garzón *et al.* (2012) es difícil separar el daño que causa cada uno de esos virus; para el sur de Tamaulipas, Mora-Padilla y Bujanos-Muñiz (1979) señalan que la reducción en rendimiento causada por CMV y otros virus alcanzó entre 8 y 15% para las siembras tempranas en tanto que para las siembras de septiembre y octubre fue de 83 y 100% respectivamente. En las plantaciones de otros estados como Jalisco, Sinaloa y Veracruz se ha registrado la presencia de la enfermedad con incidencia cercana al 100% (Garzón *et al.*, 2012).

Un estudio llevado a cabo en invernadero en Indonesia (Damiri, 2014) indicó que las infecciones mixtas de CMV, PVY y TMV causaron una reducción significativa en la producción y biomasa de las plantas de chile; la infección doble de CMV + TMV y CMV + PVY causaron reducción de 52 y 49% del número total de frutos y del peso total de frutos por planta.

## **Impacto en el cultivo por la presencia de fitoplasmas**

Los fitoplasmas son organismos comúnmente confundidos con bacterias, aunque con características bien definidas tales como presentar un tamaño de 500 nm de diámetro, menor pared celular y un genoma celular que fluctúa entre los 530 y 1350 kilobases, entre otras (Ertunk, 2013). Para su supervivencia, los fitoplasmas presentan un ciclo alrededor de la planta y el insecto hospedero, quien es a su vez utilizado para su dispersión. La habilidad de los fitoplasmas reside en la capacidad para habitar en algunas partes del insecto hospedero como la hemolinfa, saliva y partes de órganos, mientras que en la planta se les localiza en el floema, lugar al que llega el fitoplasma durante la actividad alimentaria del insecto hospedero.

### **Insectos vectores.**

En forma general, los insectos que más comúnmente se asocian con la transmisión de fitoplasmas a las plantas suelen pertenecer al Orden Hemiptera, y más específicamente a los Subórdenes Auchenorrhyncha y Sternorrhyncha (Weintraub y Wilson, 2010). Sobresale el suborden Auchenorrhyncha porque contiene insectos vectores de fitoplasmas con ciertas características que les permite ser eficientes en la transmisión del patógeno. Esta eficiencia está basada en los siguientes aspectos: 1) tanto la ninfa como el adulto se

alimentan similarmente y están en el mismo sitio de alimentación, 2) ambos estados inmaduros y adultos se alimentan de las células del floema y por lo tanto pueden transmitir fitoplasmas, y por último, 3) un vínculo establecido entre el insecto vector y el fitoplasma, quien es propagativo y persistente en el insecto Weintraub (2007). Adicionalmente, dentro de los insectos que se alimentan del floema y que están confirmados como insectos vectores de fitoplasmas, comúnmente pertenecen a la familia Cicadellidae, a cuatro familias de insectos del infraorden Fulgoromorpha, como la familia Cixiidae, y a dos géneros de la familia Psyllidae (Weintraub, 2007). Un rasgo sobresaliente de este orden filogenético es la presencia de piezas bucales perforadoras-chupadoras características y constantes en el orden, convirtiendo a los insectos en exitosos transmisores de fitoplasmas y otras enfermedades en plantas cultivadas anuales y perennes y no cultivadas.

En la interacción fitoplasma-insecto hospedero existe una especificidad estrechamente relacionada con la localidad y el cultivo. Por ejemplo, en Eslovenia los psyllidos como *Cacopsylla pruni* Scopoli, *C. pyricola* Förster, *C. pyri* (L.), *C. picta* Foerster y *C. melanoneura* Foerster, juegan un papel importante en la transmisión de fitoplasmas en patosistemas de árboles frutales de la familia de las Rosaceas,

entre los que destacan los agentes asociados con enfermedades como la proliferación de la manzana, la declinación de la pera y los amarillamientos de frutales de hueso (Mehle *et al.*, 2011). Por el contrario, en una enfermedad conocida como “amarillamientos” de la vid, el fitoplasma *Candidatus* phytoplasma vitis, causante de la enfermedad flavescence dorée, es transmitido por el cicadelido *Scaphoideus titanus* Bell o en la enfermedad Bois noir provocada por *Candidatus* phytoplasma solani, el fitoplasma es transmitido por el cixide *Hyalesthes obsoletus* Signoret (Laimer *et al.*, 2009). En ocasiones los cultivos llegan a estar expuestos a la actividad alimentaria de varios insectos, y por consiguiente tener una mayor probabilidad de ser infectados por alguna enfermedad. Tal es el caso del cultivo anual de la papa, en donde el fitoplasma causante de la enfermedad punta morada está asociada a la presencia de un complejo formado por los psilidos *Bactericera cockerelli* Sulc. y *Heteropsylla texana* Crawford (Klein & Campos, 1978) y las chicharritas *Aceratagallia* spp. y *Empoasca* spp., aunque el psilido *B. cockerelli* (Sulc.) podría ser el principal agente vector al mostrar una asociación de 52% con el fitoplasma (Almeyda *et al.*, 2008). Debido a que los fitoplasmas son propagados por insectos que se alimentan del floema de las plantas, el rango de hospederas de fitoplasmas es por

consiguiente altamente dependiente de los insectos vectores (Bertaccini y Duduk, 2009).

En el cultivo de Chile, los fitoplasmas son diseminados por medio de vectores como las chicharritas pertenecientes a la familia Cicadellidae, entre otros, aunque específicamente se ha identificado a la chicharrita del betabel *Neolaliturus tenellus* Baker, (previamente *Circulifer tenellus*), como la responsable de la transmisión de fitoplasmas en Zacatecas (Velásquez-Valle *et al.*, 2011) y a *B. cockerelli* como portador de fitoplasmas en las localidades agrícolas de Saltillo, Guasave y Mocerito (García-Negro, 2007).

### ***Daños***

La acción de los fitoplasmas consiste principalmente en alterar el metabolismo de las plantas al interferir en la actividad de las fitohormonas (Borroto-Fernández, 2010). Entre los síntomas típicos ocasionados por los fitoplasmas en las plantas cultivadas están la “escoba de bruja”, o agrupamiento de ramas de tejidos en desarrollo, filodia o crecimiento anormal de partes florales dentro de las estructuras foliares, virescencia o coloración verdosa de partes florales no verdes, crecimiento de tallos alargados, enrojecimiento de hojas y

tallos, amarillamiento generalizado, achaparramiento de plantas y necrosis del floema (Bertaccini y Duduk, 2009; Borroto-Fernández, 2010).

En árboles frutales como el durazno, las enfermedades causadas por fitoplasmas, tales como roseta del durazno, amarillamientos, durazno pequeño y sutura roja, al parecer típicamente infectan unos pocos árboles dentro de una huerta, aunque históricamente se han llegado a registrar brotes epidémicos de amarillamientos o de hoja enrollada amarilla del durazno (Scott, s/f). Desafortunadamente, no existen reportes de posibles reducciones al rendimiento de este frutal durante la aparición de estos brotes epidémicos.

Basado en la información sintomatológica y de evaluación de daños provocada por la presencia de fitoplasmas, en algunas plantas cultivadas como la papa se han determinado pérdidas en rendimiento de hasta 80% (Salazar, 1999), en canola de hasta 22% de pérdidas en producción de semilla (Oliver y Galka, 2008), mientras que en papaya las pérdidas fluctúan entre 10 a 100% y en vid entre 40 y 50% (Kerr y Gibb, 1997), entre otros casos.

En relación con el cultivo de chile en la región norte centro de México, la información sobre sintomatología causada por la presencia de fitoplasmas es escasa y aunque estimaciones precisas sobre pérdidas en rendimiento no están disponibles, está visto que este tipo de patógenos son capaces de causar pérdidas en rendimiento. Velásquez *et al.* (2013) enumeran una serie de síntomas presentes en chile para secado causado por fitoplasmas, entre los cuales se mencionan el alargamiento y fusión de los sépalos en las flores a lo que denominó como faroles chinos, follaje reducido, amarillamiento o clorótico y compactado en la parte terminal o más joven de la planta, con producción de botones y flores en esta parte de la planta pero con caída de un número elevado de flores o con frutos de tamaño reducido y deformes, y por último, una proliferación excesiva de raíces. Otro síntoma mostrado por las plantas de chile que podría estar asociado con la presencia de fitoplasmas es la formación de yemas grandes en variedades de chile para secado, ya que al analizar 193 muestras por PCR, el 43.5% resultaron positivas para la presencia de fitoplasmas (Arredondo-Pérez *et al.*, 2013).

El daño provocado por infecciones virales y de fitoplasmas en chile para secado en Zacatecas no ha sido plenamente cuantificado, sin embargo se cuenta con información parcial que permite conocer la

magnitud de las pérdidas provocadas por el complejo de patógenos responsables de la enfermedad conocida como amarillamientos del Chile.

El resultado de la comparación de algunos parámetros de desarrollo y rendimiento de plantas de diferentes tipos Chile como altura de planta, peso de tallo y ramas, de hojas y de estructuras reproductivas (botones, flores y frutos) señala que generalmente los valores promedio de esos parámetros en las plantas sanas son superiores a los de las plantas enfermas (con síntomas de amarillamiento), es en el parámetro de rendimiento donde el impacto es notorio (Cuadro 1); sin embargo, es necesario remarcar que la etapa en que las plantas son infectadas tiene una importancia decisiva ya que plantas con sintomatología de la enfermedad pueden mostrar una buena carga de frutos con calidad comercial si la infección ocurre después de la tercera o cuarta floración.

**Cuadro 1.** Evaluación de daño por amarillamientos de chile para secado en Zacatecas.

Variedad	Planta	Altura (cm)	Tallo y ramas (g)	Hojas (g)	Estructuras reproductivas (g)
Mirasol	Testigo	46	49.1	58.2	323
	Enfermas	38.2	30.1	25.2	34.5
Mirasol	Testigo	38	19.4	25.7	15.5
	Enfermas	30.3	14.7	16.8	10.4
Pasilla	Testigo	45	65.7	60.7	21.8
	Enfermas	25.9	12.5	13.7	3.25
Ancho	Testigo	48	42.3	44.9	19.7
	Enfermas	23.2	8.9	10.5	2.2
Ancho	Testigo	42	45.7	53.3	9.6
	Enfermas	26.7	16.2	28.4	8.8

## Conclusiones

La estimación exacta del impacto económico de enfermedades virales y bacterianas (fitoplasmas) en el cultivo de chile para secado en el norte centro de México es escasa y frecuentemente es referida en términos de incidencia de la enfermedad.

La etiología compleja de enfermedades como el amarillamiento de Chile dificulta la evaluación del impacto individual de los virus y fitoplasmas presentes en el cultivo.

### **Literatura Citada**

Abdalla, A.O.; Desjardins, P.R. and Dodds, J.Á. 1991. Identification, disease incidence, and distribution of viruses infecting peppers in California. *Plant Disease* 75:1019-1023.

Agrios, G.N.; Walker, M.E. and Ferro, D.N. 1985. Effect of cucumber mosaic virus inoculation at successive weekly intervals on growth and yield of pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Plant Disease* 69:52-55.

Almeyda-León, I.H., J.A. Sánchez-Salas y Garzón-Tiznado, J.A. 2008. Vectores causantes de punta morada de la papa en Coahuila y Nuevo León, México. *Agricultura Técnica en México* 34(2):141-150.

Anaya-López, J.L; Godínez-Hernández, Y.; Muñoz-Sánchez, C.I.; Guevara-Olvera, L.; Guevara-González, R.G., Rivera-Bustamante, R.F.; González-Chavira, M.M. y Torres-Pacheco, I. 2003. Identificación de resistencia contra infecciones simples y mixtas por el virus del mosaico dorado del Chile (PepGMV) y el virus huasteco del Chile en plantas de Chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 9:225-234.

Arredondo-Pérez, A.; Reveles-Torres L.R. y Velásquez-Valle R. 2013. Presencia de fitoplasmas asociados al síntoma de “yema grande” en Chile para secado en Zacatecas, México. *Agrofaz* 13(3):61-69.

Bertaccini, A. and Duduk, B. 2009. Phytoplasma and phytoplasma diseases: a review of recent research. *Phytopathologia Mediterranea* 48(3):355-378.

Borroto-Fernández, E.G. 2010. Biotechnological approaches to virus and phytoplasma diseases in plants. Dissertation Thesis. Department of Biotechnology. Institute of Applied Microbiology. University of Natural Resources and Applied Life Sciences. Vienna, Austria. 113 p.

- Bravo-Luna, L.; Frías-Treviño, G.A.; Sánchez-Valdez, V. y Garzón-Tiznado, J.A. 2000. Fuentes de inóculo y vectores del geminivirus texano del Chile (*Capsicum annuum* L.) en Ramos Arizpe, Coahuila, México. Revista Mexicana de Fitopatología 18:97-102.
- Chen, L-F.; Brannigan, K.; Clark, R. and Gilbertson, R.L. 2010. Characterization of curtoviruses associated with curly top disease of tomato in California and monitoring for these viruses in beet leafhoppers. Plant Disease 94:99-108.
- Consejo y Comité Sistema Producto Chile Seco. 2010. Plan Rector del Sistema Producto Chile Seco.
- Cordrey, T.D. and Bergman, E.L. 1979. Influence of Cucumber mosaic virus on growth and elemental composition of susceptible (*Capsicum annuum* L.) and resistant (*Capsicum frutescens* L.) peppers. Journal of the American Society of Horticulture Science 104:505-510.
- Creamer, R.; Luque-Williams, M. and Howo, M. 1996. Epidemiology and incidence of beet curly top geminivirus in naturally infected hosts. Plant Disease 80:533-535.
- Creamer, R.; Carpenter, J. and Rascon, J. 2003. Incidence of the beet leafhopper, *Circulifer tenellus* (Homoptera:Cicadellidae) in New Mexico Chile. Southwestern Entomologist 28:177-182.
- Damiri, N. 2014. Mixed viral infection and growth stage on chilli (*Capsicum annuum* L.) production. Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science 37:275-283.
- Delgado, S. S. 1974. Los virus que atacan al cultivo de Chile en México: sus implicaciones, identificación, transmisión y medidas de combate. Agricultura Técnica en México III:317-325.
- Duffus, J.E. and Skoyen, I.O. 1977. Relationship of age of plants and resistance to a severe isolate of the beet curly top virus. Phytopathology 67:151-154.
- Ellis, S.D.; Boehm, M.J. and Qu, F. 2008. Viral diseases of plants. Fact Sheet. Agriculture and Natural Resources. The Ohio State University Extension. PP401.05- 3 p.

- Ertunc, F. 2013. A new threat for Turkish horticulture: phytoplasma diseases and their vectors. Ankara Üniv Vet Fak Derg 60:221-224.
- FAOSTAT, 2009. Food and agricultural commodities production. <http://www.faostat.fao.org> (Accessed on line August 18, 2014).
- García-Negroe, C.B. 2007. Transmisión de fitoplasmas por *Bactericera cockerelli* (Sulc) a plantas de chile, papa y tomate. Tesis de Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente. Departamento Agropecuario. Unidad Sinaloa. Instituto Politécnico Nacional. 111 pp.
- Garzón-Tiznado, J.A, Acosta-García, G.; Torres-Pacheco, I.; González-Chavira, M.; Rivera-Bustamante, R.F.; Maya-Hernández, V. y Guevara-González, R.G. 2002. Presencia de los geminivirus, huasteco del chile (PHV), texano del chile variante Tamaulipas (TPV-T), y chino del tomate (VCdT), en los estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. Revista Mexicana de Fitopatología 20:45-52.
- Garzón, T.J.A., Reyes, C.M. y Milán, J.M. 2012. Virus y fitoplasmas que afectan al cultivo del chile (*Capsicum annuum* L.) en México. 95 – 128. In: Cultivo del chile en México. (Eds. JA Zegbe D., RD Valdez C. y A. Lara H). 183 p.
- Kerr, A. and Gibb, K. 1997. Bacterial and phytoplasma diseases and their control. Pp. 468-487. In: J.F. Brown and H.J. Ogle (Eds.). Plant Pathogens and Plant Diseases. Rockvale Publications. Australasian Plant Pathology Society. [http://www.appsnet.org/Publications/Brown\\_Ogle/29%20Bacteria%20&%20phytoplasma%20\(AK&KSG\).pdf](http://www.appsnet.org/Publications/Brown_Ogle/29%20Bacteria%20&%20phytoplasma%20(AK&KSG).pdf)
- Laimer, M., Lemaire, O.; Herrbach, E.; Goldschmidt, V.; Minafra, A.; Bianco, P. and Wetzell, T. 2009. Resistance to viruses, phytoplasmas and their vectors in the grapevine in Europe: A review. Journal of Plant Pathology 91(1):7-23.
- Lugo, M.O.Y.; Guzmán, U.R.; García, E.R.S. y León, F.J. 2011. Geminivirus transmitidos por mosca blanca (*Bemisia tabaci*) en tomate, en el Valle Agrícola de Culiacán, Sinaloa. Revista Mexicana de Fitopatología 29:109-118.

- Luis-Arteaga, M. and Ponz, F. 2003. Potato virus Y. p. 33 – 34. *In.*: Compendium of pepper diseases. The American Phytopathological Society. APS Press St. Paul, MN, USA. 63 p.
- Mehle, N.; Ravnikar, M.; Seljak, G.; Knapié V. and Dermastia, M. 2011. The most widespread phytoplasmas, vectors and measures for disease control in Slovenia. *Phytopathogenic Mollecutes* 1(2): 65-76.
- Mora-Padilla, C. y Bujanos-Muñiz, R. 1979. El control cultural de las enfermedades virósas que afectan al cultivo del chile serrano (*Capsicum annuum* L.) en la región de las Huastecas. Resúmenes del XXVII Congreso Internacional de la Sociedad Americana de Ciencias Hortícolas.
- Nutter, F.W.; Kuhn, C.W. and All, J.N. 1989. Models to estimate yield losses in bell pepper caused by tobacco etch virus epidemics. 1989 Annual Meeting. The American Phytopathological Society. *Phytopathology* 79:1213.
- Olatinwo, R.O.; Paz, J.O.; Brown, S.L.; Kemerait Jr., R.C.; Culbreath, A.K.; Beasley Jr, J.P. and Hoogenboom, G. 2008. A predictive model for spotted wilt epidemics in peanut based on local weather conditions and the *Tomato spotted wilt virus* risk index. *Phytopathology* 98:1066-1074.
- Olivier, C. and Galka, B. 2008. Consequences of phytoplasma infection on canola crop production in the Canadian prairies. Endure International Conference 2008. Diversifying crop production 12 – 15 October 2008. La Grande-Motte, France. <http://www.saskcanola.com/quadrant/System/research/reports/report-Olivier-phytoplasmainfection-long.pdf>
- Pazarlar, S.; Gümüş, M. and Ötzeğin, G.B. 2013. The effects of *Tobacco mosaic virus* infection on growth and physiological parameters in some pepper varieties (*Capsicum annuum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici* 41:427-433.
- Quiñones, M.; Martínez, Y.; Arana, F.; Martínez, M.A.; Zamora, L.; Miranda, I. y Zerbini, F.M. 2013. Coexistencia de potyvirus y begomovirus en el cultivo de pimiento (*Capsicum annuum* L.) en Cuba. *Revista Protección Vegetal* 28:36-44.
- Reddick, B.B. 2003. *Tobacco etch virus*. P. 38. *In.*: Compendium of pepper diseases. The American Phytopathological Society. APS Press St. Paul, MN, USA. 63 p.

- Salazar, L.F. 1999. Fitoplasmas: un factor negativo para la producción de semilla de papa. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. pp. 1-2. <http://condesan.org/infoandina/Foros/InfoPapa/papa27.htm> (Consultado en línea Noviembre 10, 2014).
- Scott, S.W. s/f. Diseases caused by phytoplasmas. Department of Plant Pathology and Physiology. Clemson University. <http://88.198.249.35/d/Phytoplasmas-in-Plants.pdf> (Accessed on line August 12, 2014).
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2013. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola <http://www.siap.gob.mx> (Consultado en línea Agosto 18, 2014).
- Strausbaugh, C.A.; Gillen, A.M., Camp, S.; Shock, C.C.; Eldredge, E.P. and Gallian, J.J. 2007. Relationship of beet curly top foliar ratings to sugar beet yield. *Plant Disease* 91:1459-1463.
- Velásquez, V.R.; Mena, C.J. y Reveles, T.L.R. 2011. Amarillamientos del chile para secado en el norte - centro de México. Folleto Técnico No. 35. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP. Calera de V. R., Zacatecas, México, 40 p.
- Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L.R. y Mena, C.J. 2012. Incidencia y sintomatología de cinco virus en parcelas comerciales de chile seco en Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3:381-390.
- Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L.R.; Chew-Madinaveitia Y.I. y Mauricio-Castillo, J.A. 2013. Virus y fitoplasmas asociados con el cultivo de chile para secado en el Norte Centro de México.
- Weintraub, P.G. and Wilson, M.R. 2010. Control of phytoplasma diseases and vectors. In: *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors*. (eds. P.G. Weintraub and P. Jones) CAB International 2010. Pp. 233-249. <http://www.ag.udel.edu/delpha/6722.pdf> (Accessed on line October 26, 2014)
- Weintraub, P.G. 2007. Insect vectors of phytoplasmas and their control – an update. *Bulletin of Insectology* 60:169-173.

- Williams, L.V.; Lopez-Lambertini, P.M.; Shohara, K. and Biderbost, E.B. 2001. Occurrence and geographical distribution of tospovirus species infecting tomato crops in Argentina. *Plant Disease* 85:1227-1229.
- Wintermantel, W. M. and Kaffka, S. R. 1996. Sugar beet performance with curly top is related to virus accumulation and age at infection. *Plant Disease* 90:657-662.
- Yañez, M.J. 1991. Virus transmitidos por mosquita blanca al Chile Serrano en el sur de Tamaulipas. *Memorias XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. p. 26.

## CAPITULO 2

### EL CHILE EN EL NORTE CENTRO DE MÉXICO

Manuel Reveles-Hernández<sup>1</sup>

Rodolfo Velásquez-Valle<sup>2</sup>

José Ángel Cid-Ríos<sup>3</sup>

#### Introducción

Mesoamérica forma parte del centro de origen y domesticación del género *Capsicum*, del cual se reconocen cerca de 25 especies de las que cinco son las de mayor importancia económica: *C. annuum* L., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L., *C. pubescens* Ruiz. & Pav. y *C. chinense* Jacq. (Pickersgill, 1989; Perry *et al.*, 2007; Aguilar-Meléndez *et al.*, 2009; Pozo, 1981).

Por la superficie cultivada, la mano de obra utilizada, el valor de la producción y las exportaciones reportadas, los chiles (*C. annuum* L.) y los jitomates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) están considerados como los cultivos hortícolas más importantes de México (Laborde y Rendon-Poblete, 1989). Debido a su uso en la dieta, *C. annuum* es la especie de mayor importancia comercial y cultural del género *Capsicum* en México en donde además de su uso en la cocina ha

---

<sup>1</sup> Programa de Hortalizas, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP;

<sup>2</sup> Programa de Fitopatología, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP;

<sup>3</sup> Programa de Frijol, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP;

jugado un papel como objeto ritual, medicinal y hasta como arma defensiva; vestigios arqueológicos evidencian la domesticación del chile durante el periodo comprendido entre el año 7000 a 5000 a.C.; evidencias encontradas demuestran que se encontraba distribuido prácticamente en todo México desde antes de la llegada de los españoles (Long-Solis, 1986; Long, 2010).

## **Usos**

De acuerdo con el plan rector del sistema producto chile en México, el chile se clasifica en el mercado nacional por la forma en cómo se comercializa el producto por lo que se puede clasificar en chiles para mercado en fresco y chiles para mercado en seco, los primeros son aquellos que se cosechan en estado fresco o verde como los de tipo jalapeño, serrano, ancho, poblano, güero, húngaro, pimiento, habanero; mientras que en los de categoría para secado se encuentra el guajillo, puya, pasilla, de árbol; sin embargo en el mercado internacional se clasifican como picosos y dulces o pimientos (CONAPROCH, 2014; Luna, 2010). Es importante resaltar que algunas variedades de chile se consideran de doble propósito: para verdeo y para secado, lo que depende de las condiciones prevalecientes del mercado así como de los gustos y tradiciones de los productores (Pozo, 2008). De acuerdo con la UNECE (2013), se considera chile

seco a aquel fruto que ha sido sometido a un proceso de pérdida de humedad, ya sea por métodos naturales o artificiales (figura 1).

El tipo de semilla usada en la siembra de chile en la región norte centro, se encuentra en alguna de las categorías: híbridos, variedades de polinización libre o materiales criollos, La producción de semilla de variedades o híbridos es aún muy limitada, al igual que el uso de estos materiales genéticos en la región ya que las compañías semilleras han generado pocos híbridos o variedades de chile para secado para lo cual han usado como fuente para el mejoramiento a los materiales criollos de la región predominando genotipos de chile guajillo y pasilla (Luna, 2010).



**Figura 1.** Principales tipos de chile para secado producidos en la región norte centro de México, de izquierda a derecha: chile de árbol, puya, guajillo o mirasol, pasilla, ancho o poblano y mulato.

### **Descripción de tipos**

El chile ancho se cultiva en los estados mexicanos de Aguascalientes, Coahuila, Durango, Guanajuato, Nayarit, San Luis Potosí, Sinaloa y Zacatecas; el chile guajillo se cultiva en los estados de Aguascalientes, Durango y Zacatecas (figura 2); los principales estados productores de chile mulato son Guanajuato, Jalisco y Puebla (figura 3); el chile pasilla se produce principalmente en Aguascalientes, Guanajuato, Jalisco, Michoacán, Nayarit y Zacatecas (figura 4); el chile tipo poblano se produce en Durango, Guanajuato, Jalisco, Puebla, Sinaloa y Zacatecas (figura 5); el chile serrano se cultiva en los estados de Hidalgo, Nayarit, San Luis Potosí, Sinaloa y Tamaulipas (Universidad del Caribe, 2014).



**Figura 2.** Frutos de chile guajillo o mirasol deshidratado.



**Figura 3.** Frutos de chile mulato deshidratados



**Figura 4.** Frutos de chile pasilla deshidratados



**Figura 5.** Frutos de chile ancho o poblano secos.

Zacatecas es el mayor productor de chile seco, principalmente guajillo (mirasol) y ancho, cosechando más del 50% de la producción nacional de chile para secado, cultivándose además otros como puya y pasilla (Reyes-Rivas *et al.*, 2001); dentro de estos, el que mayor superficie de cultivo ocupa (cerca del 50%) es el mirasol debido a su menor susceptibilidad al ataque de secadera (Bravo *et al.*, 2010). Dentro de la categoría de chiles secos el de mayor importancia por su volumen producido en México es el chile ancho, seguido del guajillo o mirasol y del pasilla, los cuales aportan más del 82% de los chiles secos producidos en el país, mientras que los otros tipos de chile seco aportan cantidades menores al volumen nacional producido (Zegbe *et*

al., 2012); otros tipos cultivados en este estado son el chile de árbol y el chile puya (figuras 6 y 7).



**Figura 6.** Chile de árbol, un producto preferido por su pungencia.



**Figura 7.** Chile tipo puya cultivado principalmente en el estado de Zacatecas, México.

La estadística de producción para el año 2012 indica que en la república mexicana se cultivaron 138,188 ha con algún tipo de chile, de las cuales en la región norte centro se establecieron 83,365 que significaron el 60% de la superficie nacional; para este mismo ciclo esta misma región aportó el 55% de la producción cuyo valor significó el 49% del total nacional (Cuadro 1), lo anterior hace notar que el cultivo del chile tiene un impacto importante por la superficie, producción y valor de la producción obtenida en los ocho estados considerados en esta región (SIACON, 2014).

**Cuadro 1.** Estadística de producción nacional y regional de chile en la república mexicana para el año 2012. (Fuente SIACON, 2014).

Entidad	Superficie (ha)	Volumen de producción (ton)	Valor de la Producción ( \$ )
Nacional	138,188.21	2,379,735.80	13,284,426,329.28
Aguascalientes	781	12,704.70	60,312,927.45
Coahuila de Zaragoza	491.8	11,723.76	85,693,089.32
Chihuahua	23,923.30	562,166.53	1,979,613,329.26
Durango	3,771.05	26,661.74	164,258,868.14
Guanajuato	3,848.04	59,393.48	427,632,275.58
Nuevo León	870.41	20,435.19	117,489,000
San Luis Potosí	15,264.60	174,881.93	1,203,052,134.26
Tamaulipas	2,563	82,103.49	333,478,362.73
Zacatecas	31,852.39	348,833.63	2,142,895,426.40

A pesar de ser el estado con mayor superficie de cultivo de chile en la república mexicana, en el estado de Zacatecas aún se cuenta con una superficie de 798 ha sin mecanizar (SIAP, 2014), lo cual puede ser un indicador del grado de tecnificación que presenta el cultivo en este estado Mexicano.

De acuerdo con la OEIDRUS Zacatecas (2010), en el estado se cultivaron 30, 673 hectáreas de chile para secado durante el ciclo primavera verano 2010, mientras que para ese mismo ciclo solo se establecieron 5, 613 ha de chile para verdeo en el estado; lo anterior reafirma la importancia que tiene el cultivo del chile en el estado y además resalta la relevancia de la superficie que se dedica a los tipos de chile para secado. La misma fuente se reporta una superficie de riego en el estado de Zacatecas de 121,133 ha de las cuales el cultivo de chile ocupa el 29.95% de la superficie con la que reporta un valor de la producción de \$2,384,935,000 (SIACON, 2012), que significa un aporte de ingresos al estado de 48.14% del valor de los cultivos de riego; lo anterior ilustra la importancia económica que tiene el cultivo para este estado productor de chile.

El cultivo de estos tipos de chile está considerado como una actividad que ofrece los mayores ingresos a los productores

zacatecanos y ofrece una fuente importante de empleo en el medio rural ya que llega a ocupar más de 150 jornales por hectárea para la realización de diversas actividades realizadas durante el proceso de cultivo desde la siembra del almacigo hasta la selección y empaque (Bravo *et al.*, 2002). En la producción de chile para secado destaca el hecho de que predomine el uso de mano de obra familiar en las unidades de producción donde la superficie es menor a 10 ha, mientras que en las unidades de producción mayores, el uso de mano de obra es principalmente contratada (Gómez y Schwentesius, 1994). Además de su importancia social es sobresaliente la generación de ingresos para los productores dedicados a este cultivo, mismos que generan un flujo de efectivo principalmente durante la época de cosecha y comercialización del producto (Román y Del Rio, 2012). De acuerdo con lo anterior, el chile para secado, está considerado como el cultivo que ofrece una ventaja competitiva y socio-económica para el estado de Zacatecas en comparación con otros estados de la república (Sánchez y Rumayor, 2010).

Existe una gran variabilidad tanto morfológica como fenológica y de rendimiento en el tipo de chile guajillo que se cultiva en la república mexicana, esta gran variabilidad se considera como una clara muestra de la riqueza genética que representa este tipo de chile (Moreno *et al.*,

2007); el chile tipo ancho o poblano también está considerado como una fuente importante de variabilidad (Contreras *et al.*, 2011).

Algunos de los factores que limitan la producción de chile para secado en Zacatecas están relacionados con el escaso uso de tecnología ya que la mayoría de los productores seleccionan la semilla de manera inadecuada, con baja calidad genética y sanitaria que favorece la diseminación de problemas sanitarios que a su vez contribuyen a la disminución de la productividad del cultivo (Reveles-Hernández *et al.*, 2013); también la rotación de cultivos que realizan se considera inadecuada y la dosis de fertilización es relativamente baja en comparación con la dosis recomendada por los resultados de investigación obtenidos por el Campo Experimental Zacatecas del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (Cabañas y Galindo, 2004; Galindo, 2007).

Según el Plan Rector del Sistema Producto chile del estado de Chihuahua, en el Estado se siembran principalmente los tipos de chile jalapeño, chilaca, Cayene y Morrón en un 71, 22, 3 y 3% de la superficie dedicada al cultivo del chile respectivamente; por otro lado el SIACON (2012) reporta para ese Estado una superficie establecida con chile de 23,923 ha con un valor de la producción de \$1,979,613,329.26

situándolo como el principal productor de chile jalapeño de la república mexicana. Para el año 2006 se sembraron en Chihuahua cerca de 10,000 ha de chile jalapeño, con un producción cercana a las 300,000 toneladas convirtiéndose en el primer productor de este tipo de chile, cosechadas durante el periodo comprendido de junio a octubre (Aldaba, 2006). La región centro-sur de Chihuahua está considerada como la más importante en la producción de chile jalapeño, contribuye con más del 40% de la producción nacional (Chávez *et al.*, 2002); su cultivo tiene importancia económica y social en el estado de Chihuahua ya que en 2004 llegó a generar cuatro millones de jornales al año (SAGARPA, 2004, citado por Luján *et al.*, 2006).



**Figura 8.** Chile tipo Jalapeño, producido en el estado de Chihuahua.

La producción de chile tipo chilaca es importante en el estado de Chihuahua ya que ocupa cerca del 31% de la superficie de chile en el estado (Hermosillo-Cereceres *et al.*, 2008).

Los organismos dañinos tales como los virus, han provocado que la productividad de chile jalapeño en el estado de Chihuahua se estanque durante los últimos 25 años, ya que a pesar de los adelantos tecnológicos se ha incrementado su incidencia sobre el cultivo (Luján *et al.*, 2006).

La siembra y producción nacional de chile para secado ha sufrido un fenómeno de migración al cambiar de una región a otra y de un estado a otro, fenómeno que se atribuye a la incidencia de enfermedades de la raíz que provocan disminución considerable de la productividad y que obliga a los productores a buscar áreas agrícolas no infestadas, dado que no se cuenta con un desarrollo tecnológico que disminuya este tipo de problemas fitosanitarios, de esa manera esta migración se ha dado de Puebla a Guanajuato y de allí a Zacatecas y Durango (Comité Estatal del Sistema Producto Chile de Chihuahua, 2012).

En los estados de Aguascalientes, Durango, San Luis Potosí y Zacatecas se cultivan chiles para secado siendo los tipos ancho, mirasol y pasilla los que ocupan mayor superficie cultivada (Ramos-Gourcy y Luna-Jiménez, 2006; SIAP, 2014). Dentro de los patógenos que causan enfermedades que atacan al chile con mayor frecuencia se señalan a los virus en la república mexicana los cuales han sido mencionados en variadas publicaciones científicas y a los que se atribuyen pérdidas económicas en la producción de chile (Guigón-López y González-González, 2001; González-Pérez *et al.*, 2011).

La afectación de virus en el cultivo de chile en la región norte centro de México provocan una fuerte disminución de la productividad del cultivo desde el establecimiento de los almácigos hasta el periodo de cosecha, las pérdidas en la rentabilidad del cultivo están relacionadas con la pérdida de plantas, la disminución del potencial de producción, la disminución de la cantidad y calidad de los frutos cosechados (Velásquez *et al.*, 2002; Velásquez-Valle *et al.*, 2013a); las enfermedades de origen viral causan daños de magnitud variable, sin embargo, se considera que eventualmente pueden llegar a convertirse en amenazas mayores para el cultivo (Velásquez-Valle *et al.*, 2013b). La sintomatología relacionada con la presencia de infecciones virales en el cultivo de chile se ha observado con mayor frecuencia en los

últimos ciclos de cultivo y se presenta prácticamente en todos los tipos de chile para secado cultivados en la región norte centro de México, así como en los híbridos cultivados para producción de chile verde, provocando en todos los casos reducción en el desarrollo de la planta y pérdida de la estructura de la planta que repercuten en la disminución del rendimiento (Velásquez *et al.*, 2011).

### **Uso de tecnología en la región norte centro de México**

De acuerdo con el SIAP (2014) para el año 2013 se reporta que la mecanización del proceso de producción de chile a nivel nacional corresponde al 86% de la superficie cultivada con esta solanácea, esto quiere decir que un 14% de la superficie establecida con este cultivo no hace uso de maquinaria agrícola en las actividades del manejo del cultivo (Cuadro 2); lo anterior hace suponer que el grado de tecnificación en las áreas sin mecanizar es relativamente bajo, lo que a su vez representa una posible productividad relativamente baja del sistema de producción. En la región norte centro del país el grado de mecanización del cultivo es de 95%, lo que indica que es un 9% mayor que la reportada a nivel nacional para el proceso productivo.

**Cuadro 2.** Superficie mecanizada del cultivo de chile para el año 2013 en los principales estados productores del norte centro de México (Fuente: SIAP, 2014).

Estado	Superficie mecanizada (ha)	Superficie sin mecanización (ha)	Total (ha)
Aguascalientes	773	0	773
Coahuila	391	0	391
Chihuahua	24634	90	24, 728
Durango	782	2, 901	3, 683
Guanajuato	3, 920	112	4, 032
Nuevo León	631	0	631
San Luis Potosí	14, 862	0	14, 862
Tamaulipas	2, 652	249	2, 901
Zacatecas	30,783	798	31, 581
Resumen Nacional	117, 199	18, 854	136, 053

### **Uso de fertilizantes químicos**

De acuerdo con la superficie de chile que usa fertilizantes químicos para el proceso de producción a nivel nacional, para el año 2013, se detectó que cerca del 8% de esta no se fertiliza con abonos químicos (SIAP, 2014), no reportándose si se usa otro tipo de fertilizantes, como tampoco se reporta la dosis aplicada en la superficie que sí emplea fertilizantes químicos (Cuadro 3), sin embargo en el plan rector del sistema producto chile se establece que el uso inadecuado

de dosis de fertilización es un problema que limita la productividad del cultivo.

**Cuadro 3.** Superficie con uso de fertilizante químico del cultivo de chile para el año 2013 en los principales estados productores del norte centro de México (Fuente: SIAP, 2014).

Estado	Total (ha)	Superficie fertilizada (ha)	Superficie sin fertilización (ha)
Aguascalientes	773	773	0
Coahuila	391	391	0
Chihuahua	24, 728	24, 728	0
Durango	3, 684	3, 195	489
Guanajuato	4, 032	4, 032	0
Nuevo León	631	631	0
San Luis Potosí	14, 862	14, 801	61
Tamaulipas	2, 901	2, 875	26
Zacatecas	31581	31387	194
Resumen Nacional	136, 053	125, 558	10, 495

### **Asistencia técnica**

De acuerdo con los datos oficiales (SIAP, 2014), solamente el 44% de la superficie establecida con chile recibe asistencia técnica durante el proceso de cultivo, esta cifra es aún más reducida a nivel norte centro del país, ya que tan solo el 42% de la superficie

establecida con el cultivo recibe este servicio (Cuadro 4), este es un indicador más del grado de tecnificación que prevalece en esta región productora en donde aún es muy variable el grado de tecnificación del cultivo.

**Cuadro 4.** Superficie cultivada con chile en el centro norte de México que dispone de asistencia técnica durante el proceso productivo (Fuente: SIAP, 2014).

Estado	Total (ha)	Con asistencia técnica (ha)	Sin asistencia técnica (ha)
Aguascalientes	773	10	763
Coahuila	385	381	4
Chihuahua	15, 653	7, 960	7, 693
Durango	3, 684	2, 252	1, 432
Guanajuato	4, 027	337	3, 690
Nuevo León	580	580	0
San Luis Potosí	14, 819	680	14,139
Tamaulipas	2, 748	2, 277	471
Zacatecas	31, 567	17, 294	14, 273
Resumen Nacional	134, 280	59, 247	75, 033

### **Acciones sanitarias**

En el cuadro 4 aparecen las superficies por estado que recibieron alguna acción sanitaria durante el ciclo agrícola 2013 (SIAP,

2014), es notoria la ausencia de este tipo de acciones a nivel nacional en donde el 45% de la superficie establecida con el cultivo de Chile no recibió este apoyo técnico; en la región en estudio solamente se recibió este servicio en el 60% de la superficie establecida con el cultivo (Cuadro 4), resultando relevante esta situación considerando la derrama económica del cultivo y el impacto que tienen los problemas fitosanitarios sobre la productividad del cultivo.

**Cuadro 5.** Superficie cultivada con Chile en el centro norte de México que estuvo sujeto a algún programa fitosanitario por parte de alguna dependencia gubernamental durante el proceso productivo (Fuente: SIAP, 2014).

Estado	Total (ha)	Con acciones sanitarias (ha)	Sin acciones sanitarias (ha)
Aguascalientes	773	0	773
Coahuila	391	272	119
Chihuahua	24,728	23,814	914
Durango	3,683	2,666	1,017
Guanajuato	4,032	158	3,874
Nuevo León	631	631	0
San Luis Potosí	14,862	5,811	9,051
Tamaulipas	2,901	2,656	245
Zacatecas	31,581	14,271	17,310
Resumen Nacional	136,054	74,594	61,460

### **Semilla mejorada**

A la fecha no existen variedades o híbridos de los principales tipos de chile para secado que provean resistencia parcial o total contra las enfermedades virales de mayor importancia en la región; tampoco se cuenta con paquetes tecnológicos completos de manejo de este tipo de enfermedades cuya eficacia permita minimizar su impacto.

### **Conclusiones**

En el norte centro de México se cultivan principalmente chiles para secado (Ancho, Pasilla, Mirasol, y Puya) así como chiles para consumo en fresco (Jalapeño).

A pesar del avance en la tecnificación del cultivo persiste el atraso en dos factores (variedades mejoradas con tolerancia o resistencia a enfermedades y asistencia técnica) que podrían auxiliar en el manejo de enfermedades que son insuficientes para fungir como soluciones parciales.

## **Literatura Citada**

- Aguilar-Meléndez A.; Morrell, P.L.; Roose M.L.; Seung-Chul K. 2009. Genetic diversity and structure in semiwild and domesticated chiles (*Capsicum annuum* ; solanaceae) from Mexico. American Journal of Botany 96:1190-1202.
- Aldaba, M.J.L. 2006. Manejo integrado de malezas en chile jalapeño. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro. Campo Experimental Delicias. Folleto para Productores No. 12. 10 p.
- Bravo, L. A. G.; Cabañas, C. B.; Mena C.J.; Velásquez V.R.; Rubio D. S.; Mojarro D. F.; y Medina G.G. 2002. Guía para la producción de chile seco en el Altiplano de Zacatecas. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatecas, México. Publicación Técnica Numero 1. 38 p.
- Bravo L.A.G.; Lara H. A.; Lozano G. J.; España L.M.P. 2010. Importancia del cultivo del chile. En: Lara H. A.; Bravo L. A. G. y Reveles H. M. (Ed) Memorias Primer foro para productores de chile. Zacatecas, Zac., México. 10-22 pp.
- Cabañas, C.B. y Galindo G.G. 2004. Nivel tecnológico de los productores de chile seco (*Capsicum annuum* L.) del Altiplano de Zacatecas. Primera Convención Mundial del Chile 2004. León, Guanajuato, México. 269-277 pp.
- Chávez S., N.; Berzoza M. M. y Cueto W.J.A. 2002. Requerimientos nutricionales y programación de la fertirrigación en hortalizas. Memoria 2º. Simposio Nacional de Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, a 9 de Octubre del 2002. 119-128 pp.
- Comité Estatal del Sistema Producto Chile de Chihuahua. 2012. Plan Rector del Sistema Producto Chile del estado de Chihuahua. 71 p.
- CONAPROCH (Comité Nacional Sistema Producto Chile AC), 2014. Plan rector Comité Nacional Sistema Producto Chile A.C., 80 p.

- Contreras, T. A.R.; López, S.H.; Santacruz, V.A.; Valadez, M.E.; Aguilar, R.V.H.; Corona, T.T. y López, P.A. 2011. Diversidad genética en México de variedades nativas de Chile 'poblano' mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 34:225-232.
- Galindo, G., G. 2007. El servicio de asistencia técnica a los productores de Chile seco en Zacatecas. *Convergencia. Revista de Ciencias Sociales* 14:137-165.
- Gómez, C.M.A. y Schwentesius, R.R. 1994. El Chile seco en Zacatecas y sus perspectivas en el TLC. In: Schwentesius R., R. (Ed). *El TLC y sus repercusiones en el sector agropecuario norte-centro de México*. Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial, Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, Mex., México. p. 63-92.
- González-Pérez, J.L.; Espino-Garduño, M. C.; Torres-Pacheco, I.; Guevara-González, R.C.; Herrera-Ruiz, G.; Rodríguez-Hernández, V. 2011. Quantification of virus syndrome in chili peppers. *African Journal of Biotechnology* 10: 5236-5250.
- Guigón-López, C. y González-González, P.A. 2001. Estudio regional de las enfermedades del Chile (*Capsicum annuum*, L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19:49-56.
- Hermosillo-Cereceres, M.A.; González-García, J.; Romero-Gómez, S.J.; Luján-Favela, M.; Hernández-Martínez, A.; Arévalo-Gallegos, S. 2008. Relación genética de materiales experimentales de Chile tipo chilaca con variedades comerciales. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 14:301-307.
- Laborde, J.A. y Rendón-Poblete, E. 1989. Tomatoes and peppers in Mexico: Commercial production and research challenges. *Tomato and pepper production in the tropics. Proceedings of the International Symposium on Integrated Management Practices*. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan, 21-26 March, 521-534 pp.
- Long, T. J. 2010. Los senderos prehispánicos del capsicum. Caminos y mercados de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto Nacional de Antropología e Historia. México. 79-106 pp.

- Long-Solis, J. 1986. Capsicum Cultura, La Historia del Chilli. Fondo de Cultura Económica. México, 181 p.
- Luján, F.M.; Quiñones, P.F.J.; Chávez, S.N.; Guijón, L.C.; Ávila, Q.G.; Macías, L.B. C.; Berzoza, M.M.; Acosta, R.G.F. 2006. Manejo integral de chile jalapeño enfocado a incrementar su sustentabilidad y sostenibilidad. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional Norte-Centro. Campo Experimental Delicias. Publicación Especial No. 12. 51 p.
- Luna, R.J.J. 2010. Producción conservación y evaluación de semilla de chile, Manual para productores. Universidad Autónoma de Aguascalientes. 95 p.
- Moreno, P.E.C.; Cruz, A. O.; Avendaño, A. C. H.; Martínez, D.R.A.T.; Peña, L. A. 2007. Morphological variation in *guajillo* chili pepper plants (*Capsicum annuum* L.). African Crop Science Conference Proceedings. El-Minia Egypt, Vol 8:327-332.
- OEIDRUS (Oficina de Información para el Desarrollo Rural Sustentable) Zacatecas. 2010. Anuario de producción agrícola del estado de Zacatecas 2010. Secretaria de Desarrollo Agropecuario, Gobierno del estado de Zacatecas-SAGARPA. 219 p.
- Perry, L.; Dickau, R.; Zarrillo, S.; Holst, I.; Pearsall, D. M.; Piperno, D. R.; Berman, M. J.; Cooke, R. G.; Rademaker, K.; Ranere, A. J.; Raymond, J. S.; Sandweiss, D. H.; Scaramelli, F.; Tarble, K.; Zeidler, J. A. 2007 . Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers ( *Capsicum* spp. L.) in the Americas. Science 315:986 - 988.
- Pickersgill, B. 1989. Genetic resources of Capsicum for tropical regions. Tomato and pepper production in the tropics. Proceedings of the International Symposium on Integrated Management Practices. Asian Vegetable Research and Development Center, Tainan, Taiwan, 21-26 March, 2-8 pp.
- Pozo C., O. 1981. Descripción de tipos y cultivares de chile (*Capsicum* spp.) en México. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. México, D. F. Folleto Técnico número 77. 37 p.

- Pozo C., O. 2008. Panorama nacional del cultivo de Chile y transferencia de tecnología. *In*: Tarango R. S. H. (Ed) Memoria del simposio nacional Manejo integrado de picudo del Chile. Junta Local de Sanidad Vegetal Delicias. Cd. Delicias, Chihuahua, México. 4-11 pp.
- Reveles-Hernández, M.; Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L.R.; Mena-Covarrubias, J. 2013. Selección y conservación de semilla de Chile: primer paso para una buena cosecha. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte-Centro. Campo Experimental Zacatecas. Folleto Técnico Num. 51, 43 p.
- Reyes, R. E.; Salinas, G. H.; Bravo L.A.G. y Padilla, B.L.E. 2001. Tecnología de producción de Chile seco en el estado de Zacatecas, México. *Terra Latinoamericana*, 19:83-88.
- Román, G.J.F. y Del Río, H.L.I. 2012. ¡Puro bola y mirasol! Andanzas del Chile en Zacatecas. Secretaría de Desarrollo Agropecuario, Gobierno del Estado de Zacatecas. SAGARPA. México. 191 p.
- Ramos-Gourcy, F. y Luna-Jiménez, A. 2006. Evaluación de tres variedades de Chile (*Capsicum annuum* L.) en cuatro concentraciones de una solución hidropónica bajo invernadero. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. 34:6-12.
- Sánchez, T.B.I. y Rumayor, R.A.F. 2010. Evaluación del entorno para la innovación tecnológica en Zacatecas. *Publicación Especial Núm. 18*. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC-INIFAP. 20 p.
- SIACON. 2012. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta 1980-2010. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.
- SIACON. 2014. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta 1980-2012. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.

- SIAP. 2014. Uso de tecnología y de servicios en el campo, cuadros tabulares 2013. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. 1012 pp.
- UNECE. 2013. UNECE standard on marketing and comercial quality control of whole dried chilli peppers. Explanatory Brochure. New York and Geneva. 62p.
- Universidad del Caribe, 2014. Gastronomía .Cocina mexicana regional. 11p. En: <http://claroline.ucaribe.edu.mx/>, Consultada en línea el 12 de octubre de 2014
- Velásquez, V.R.; Medina, A.M.M.; Mena, C.J. 2002. Guía para identificar las principales enfermedades parasitarias del chile en Aguascalientes y Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte-Centro. Campo Experimental Pabellón. Folleto Técnico Num. 20, 41 p.
- Velásquez, V. R.; Mena, C. J. y Reveles, T. L. R. 2011. Amarillamientos del chile para secado en el norte-centro de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte-Centro. Campo Experimental Zacatecas. Folleto Técnico Num. 35, 40 p.
- Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L. R. y Reveles-Hernández, M. 2013a. Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte-Centro. Campo Experimental Zacatecas. Folleto Técnico Num. 50, 57 p.
- Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L. R.; Chew-Medinaveitia, Y. I.; Mauricio-Castillo, J. A. 2013b. Virus y fitoplasmas asociados con el cultivo del chile para secado en el norte centro de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte-Centro. Campo Experimental Zacatecas. Folleto Técnico Num. 49, 54 p.
- Zegbe, D. J. A.; Mena, C.J.; Valdez, C. R. D.; Amador, R. M. D. y Esparza, F. G. 2012. Importancia, diversidad genética y situación actual del chile en México. *In*: Zegbe D. J. A.; Valdez C., R. D. y Lara H. A. (Eds) Cultivo del chile en México. Tendencias de la producción y problemas fitosanitarios actuales. Universidad Autónoma de Zacatecas. Zacatecas, México. 182 p.



*Virus y fitoplasmas de Chile: Una perspectiva regional*

## **CAPITULO 3**

### **BEGOMOVIRUS Y CURTOVIRUS: GENERALIDADES Y MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO**

Jorge Armando Mauricio-Castillo<sup>1</sup>

Luis Roberto Reveles-Torres<sup>2</sup>

Silvia Salas-Muñoz<sup>2</sup>

#### **Introducción**

Existen reportes milenarios en culturas antiguas, como la china y la egipcia, en donde se infiere claramente la presencia de enfermedades virales en varias actividades humanas. Llamam la atención debido a su impacto negativo hacia los intereses del hombre: pérdidas totales de cosechas o reducción de la productividad de los cultivos (García-Neria *et al.*, 2010). En el siglo XX, se introduce el concepto del rango de hospedantes (plantas a las que un virus específico es capaz de infectar) y el establecimiento de la relación virus-vector (Hull, 2001).

Los virus fitopatógenos con genomas compuestos de ácido desoxirribonucleico (ADN) se dividen en dos grupos: los que contienen ADN circular de doble cadena, como los caulimovirus y badnavirus, los cuales replican su genoma utilizando un mecanismo que involucra

---

<sup>1</sup> Unidad Académica de Agronomía – Universidad Autónoma de Zacatecas;

<sup>2</sup> Programa de Biología Molecular, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP;

intermediarios de ARN y transcripción reversa (“para-retrovirus”); y los que contienen ADN circular de cadena sencilla, que se replican por un mecanismo de círculo rodante, como los nanovirus (Gronenborn, 2002) y los geminivirus (Saunders *et al.*, 1991).

En el caso de los geminivirus, las primeras investigaciones fueron realizadas a principios de 1900, casi 70 años antes de que la taxonomía viral definiera la familia Geminiviridae. Sin embargo, un poema japonés escrito por la Emperatriz KoKen en el año 752 describe un amarillamiento en *Eupatorium lyndleyanum* que muy probablemente fue el resultado de una infección por geminivirus, el virus del enrollamiento de la hoja de tabaco [*TLCV* (Saunders *et al.*, 2003)]. El reporte de Goodman en 1977, se considera como el inicio formal de los estudios sobre los geminivirus, al reportar la caracterización de un virus que infectaba frijol y cuyo genoma estaba compuesto por ADN de cadena sencilla y no por ARN, como la mayoría de los virus reportados hasta la fecha (Goodman, 1977). En México la primera mención de una enfermedad causada por geminivirus se realizó durante 1970 y 1971, en Sinaloa donde se describió una enfermedad en jitomate cuyo síntoma característico era el enchinamiento de las hojas y se confirmó que el agente causal de la enfermedad era un geminivirus que se denominó, virus del chino del tomate (Brown y Hine, 1984).

## Descripción de los Geminivirus

Los geminivirus forman la segunda familia más grande de virus en plantas, la *Geminiviridae*, cuyo genoma es un ADN de cadena sencilla. Reciben su nombre debido a la morfología geminada que presentan las partículas virales, su material genómico puede ser monopartita, donde la información genética está ubicada en un solo componente, o bipartita, si se encuentra distribuida en dos componentes, cada uno de las cuales tiene una longitud entre 2,500 a 3,000 nucleótidos (Matamoros, 2012).

Taxonómicamente la familia Geminiviridae está dividida en siete géneros (Cuadro 1; Varsani *et al.*, 2014a) con base en su organización genómica (monopartita o bipartita), la planta hospedera (monocotiledónea o dicotiledónea), y el insecto vector (chicharritas *Cicadellidae*, periquitos *Membracidae* y mosquitas blancas de la familia *Aleyrodidae*), estos son:

**Mastrevirus**, transmitidos por chicharritas, tienen un genoma monopartita, infectan plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas. El virus tipo es *Maize streak virus (MSV)*.

**Curtovirus**, *Beet curly top virus (BCTV)* es el virus tipo de este género. Son transmitidos por chicharritas, tienen un genoma monopartita, e infectan sólo plantas dicotiledóneas.

**Topocuvirus**, cuyo único miembro es *Tomato pseudo curly top virus (TPCTV)*, transmitido por chicharritas, infecta plantas dicotiledóneas, y tiene un genoma monopartita. Se diferencian de los curtovirus en su organización genómica.

**Begomovirus**, incluye virus transmitidos por la mosca blanca (*Bemisia tabaci*), su virus tipo es *Bean golden yellow mosaic virus (BGYMV)* infectan plantas dicotiledóneas y su genoma puede ser mono o bipartita.

**Becurtovirus:** Constituido por dos especies virales, el *Beet curly top Iran virus (BCTIV)* y el *Spinach curly top Arizona virus (SCTAV)*, su genoma es monopartita y tienen una secuencia de reconocimiento de la proteína de replicación del tipo TAAGATTCC.

**Eragrovirus:** Incluye una especie denominada *Eragrostis curvula streak virus (ECSV)*, tiene un genoma monopartita, tienen una secuencia de reconocimiento de la proteína de replicación del tipo TAAGATTCC. Se diferencian de los becurtovirus en su organización genómica.

**Turncurtovirus:** Su virus tipo es *Turnip curly top virus (TCTV)*, tiene un genoma monopartita, tienen la misma secuencia de reconocimiento de la proteína de replicación presente en Begomovirus, Mastrevirus y Curtovirus (TAATATTAC).

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica establecida por el ICTV para geminivirus basada en hospederos naturales, insecto vector y organización genómica. *MSV = Maize streak virus, BCTV = Beet curly top virus, BGYMV= Bean golden yellow mosaic virus y, TPCTV= Tomato pseudo curly top virus.*

<b>Género</b>	<b>Virus tipo</b>	<b>Hospedero</b>	<b>Vector</b>	<b>Genoma</b>
Mastrevirus	MSV	Monocotiledóneas y dicotiledóneas.	Chicharritas ( <i>Cicadellidae</i> )	Monopartita
Curtovirus	BCTV	Dicotiledóneas	Chicharritas ( <i>Cicadellidae</i> )	Monopartita
Begomovirus	BGYMV	Dicotiledóneas	Mosca blanca ( <i>Aleyrodidae</i> )	Monopartita o Bipartita
Topocovirus	TPCTV	Dicotiledóneas	Chicharritas saltadoras ( <i>Membracidae</i> )	Monopartita
Becurtovirus	BCTIV	Dicotiledóneas	Chicharritas ( <i>Cicadellidae</i> )	Monopartita
Eragrovirus	ECSV	Dicotiledóneas	Chicharritas ( <i>Cicadellidae</i> )	Monopartita
Turncurtovirus	TCTV	Dicotiledóneas	Chicharritas ( <i>Cicadellidae</i> )	Monopartita

## **Organización genómica de los Begomovirus**

Los genomas geminivirales están conformados por uno o dos componentes de ADN circular de cadena sencilla, cada uno con tamaño de 2.5 a 3.0 Kb (Palmer y Rybicki, 1998). Cuando los geminivirus son bipartitas como es el caso de los Begomovirus, sus componentes genómicos son llamados componente ADN A y ADN B. En el ADN A, se encuentran las funciones necesarias para la replicación, transcripción y encapsidación, mientras que en el ADN B, se encuentran las funciones necesarias para el movimiento y pueden estar alojados los determinantes sintomáticos. Cada componente contiene unidades de transcripción divergente, separadas por una región intergénica (RI) de aproximadamente 300 pares de bases (pb). En esta región se encuentra una secuencia denominada región común de aproximadamente 200 pb, la cual contiene un elemento de 30 pb con el potencial termodinámico de formar una estructura de horquilla, rica en G-C en el tallo y una secuencia conservada rica en A-T en el asa, la cual contiene el sitio de inicio de la replicación (Argüello-Astorga *et al.*, 1994a). La transcripción de los genes contenidos en ambos genomas se lleva a cabo de manera divergente, en sentido del virión (V) y en el sentido de la cadena complementaria (C).

El componente A contiene 5 genes (Figura 1) que codifican para las proteínas encargadas de la replicación viral y la encapsidación (revisado por Gutiérrez, 2002). En sentido del virión el gen CP codifica para la proteína de la cápside (CP), estructura que protege al genoma viral en su paso por el vector, es la proteína más abundante durante la infección y se presume que tiene que ver con la llegada del virión al núcleo (Kunik *et al.*, 1999), y está involucrada en el movimiento del ADN viral en el caso de geminivirus monopartitas (Lazarowitz *et al.*, 1989; Boulton *et al.*, 1993). Presenta homología con la proteína BV1 de bipartitas. Utilizando el análisis de distancia evolutiva para secuencias, Howarth y Vandemark, en 1989 propusieron que la evolución del gen CP está regida por la especificidad con el insecto vector. Después se comprobó que si se intercambian los genes de CP entre virus diferentes, se altera la especificidad para la transmisión por el insecto vector (Bridson *et al.*, 1990).

Por otra parte, en la cadena complementaria se localizan cuatro genes:

- 1) AC1 (o AL1), cuyo producto es la proteína iniciadora de la replicación (Rep), que es la única proteína viral indispensable para iniciar la replicación del virus por el mecanismo de círculo rodante y está relacionada con proteínas que catalizan el inicio de la replicación en plásmidos que tienen ADN de cadena sencilla (Ilyina y Koonin, 1992),

así como también tiene actividad de topoisomerasa, ligasa (Laufs *et al.*, 1995a; Orozco y Hanley-Bowdoin, 1996), helicasa (Gorbalenya y Koonin, 1993; Pant *et al.*, 2001) y reprograma células maduras para inducir la replicación del ADN interactuando con la proteína de retinoblastoma (Argüello-Astorga *et al.*, 2004). Rep también se une a la proteína potenciadora de la replicación (AL3) y se oligomeriza en solución (Settlage *et al.*, 1996; Orozco y Hanley-Bowdoin, 1998). La comparación de secuencias entre diferentes proteínas Rep muestra 3 motivos conservados (Ilyina y Koonin, 1992). El motivo 1 parece estar involucrado en la unión a ADN, el motivo 2 está relacionado con la unión a iones metálicos (Koonin e Ilyina, 1992), mientras que el motivo 3 contiene una tirosina conservada implicada en el corte de ADN.

- 2) La proteína TrAP es el producto del gen *AL2*. Es un factor que actúa en forma trans, y es capaz de activar la transcripción de los genes virales *CP*, *BC1* y *BV1* (Sunter y Bisaro, 1991 y 1992). Tiene además la habilidad de suprimir el mecanismo de silenciamiento en las plantas (Voinnet *et al.*, 1999), lo cual implica que la planta se torna susceptible a otros fitopatógenos. Entre los blancos funcionales de la proteína TrAP se han delimitado algunos elementos en forma cis conocidos como Elementos Tardíos Conservados (*CLEs* por sus

siglas en inglés) que han mostrado ser necesarios y suficientes para llevar a cabo la transactivación (Ruíz-Medrano *et al.*, 1999). La proteína presenta tres dominios, uno básico, otro tipo “dedos de zinc” y un tercero ácido (Sunter y Bisaro, 1992).

- 3) El producto de gen *AL3* es la proteína potenciadora de la replicación (REn). Se desconoce cómo esta proteína podría afectar la replicación pero se ha observado que en mutantes REn (-) la tasa de replicación disminuye 50 veces. La proteína REn de *Tomato golden mottle virus (TGMoV)* interactúa con Rep (Settlage *et al.*, 1996) y con la proteína homóloga a retinoblastoma (PRb) de la planta (Settlage *et al.*, 2001). También se ha observado que Rep y la proteína retinoblastoma de la planta se unen a REn en regiones similares (Settlage *et al.*, 2001). Recientemente se ha propuesto que actúa como un multímero potenciando la acción de Rep (Hanley-Bowdoin *et al.*, 1999) aunque aún no se entiende bien la relevancia funcional de estas interacciones.
  
- 4) En el caso de gen *C4*, este codifica la proteína AC4 y no se conoce dato alguno sobre su función.

El componente B, contiene dos genes (Figura 1) cuyos productos están implicados en el movimiento del virus a través de la planta, en sentido del virión se localiza al gen *BV1* y en sentido de la cadena complementaria al gen *BC1* (Yedidya y Bernard, 2002). La proteína NSP es codificada por el gen *BV1* (proteína de transporte nuclear). Tiene afinidad por ADN viral de cadenas doble y sencilla (Rojas *et al.*, 1998) empaquetándolo y transportándolo del núcleo al citoplasma y del citoplasma al núcleo (Hehnle *et al.*, 2004). La proteína se localiza principalmente en el núcleo de la célula vegetal (Pascal *et al.*, 1994). El gen *BC1* codifica a la proteína de movimiento MP, la cual tiene una afinidad específica por el ADN de cadena doble y sencilla (Rojas *et al.*, 1998). El fraccionamiento de extractos obtenidos a partir de células infectadas muestra que BC1 se localiza en las fracciones de la membrana y pared celular (Von Arnim *et al.*, 1993) e interacciona con el complejo “BV1-ADN viral de cadena sencilla” presente en el citoplasma y promueve el movimiento de célula-célula aumentando el límite de exclusión de los plasmodesmos (Hehnle *et al.*, 2004). La alteración en el sistema de los plasmodesmos provoca un desequilibrio en la comunicación intercelular y podría explicar el por qué líneas transgénicas que expresan la proteína BC1 en concentraciones adecuadas presentan síntomas de virosis.

## **Diferencias entre los genes de Begomovirus monopartitas y bipartitas**

El genoma monopartita está constituido por una sola molécula de ADN que contiene todos los genes necesarios para llevar a cabo una infección completa. Los monopartitas se clasifican dentro de los siete géneros en los que se divide la familia Geminiviridae (Mastre, Curto, Topo, Begomo, Becurto, Eragro y Turncurtovirus). Los geminivirus monopartitas comparten muchas de las características presentes en el genoma A de los Begomovirus como el hecho de que la expresión de sus genes se encuentra dirigida por una región promotora divergente, la secuencia palindrómica encargada de formar la estructura tallo asa y el acomodo de los genes presentes en el sentido de la cadena complementaria (Rep, TrAP, REn y C4) y los genes localizados en el sentido del virión (MP y CP).

*Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)* es el virus perteneciente a este grupo mejor caracterizado y se puede observar, es que su genoma contiene seis diferentes marcos de lectura, cuatro en el sentido de la cadena complementaria (*Rep*, *TrAP*, *REn* y *C4*) y dos en el sentido del virión (*CP* y *MP*). Las características y funciones de cada una de las proteínas codificadas por estos genes se enuncian a continuación.

### **Proteína de la cápside (CP)**

La proteína de la cápside es codificada por el gen CP y su peso molecular es de aproximadamente 30 kDa, es la encargada de “encapsidar” o envolver ADN de cadena sencilla y así formar los viriones, se localiza en el núcleo y también se ha observado en el nucléolo (Rojas *et al.*, 1998; Kunik *et al.*, 1999) es una proteína esencial para la infectividad algo que no se observa en los Begomovirus bipartitas (Wartig *et al.*, 1997). Para contrarrestar la ausencia de las proteínas del movimiento codificadas por el genoma B de Begomovirus bipartitas la proteína CP de TYLCV se une a ADN de cadena doble y sencilla transportándolos del núcleo al citoplasma y de ahí a través de los sistemas vasculares de la planta (Rojas *et al.*, 1998) de esta forma se confirma porque se considera un homólogo funcional de BV1. Como se ha establecido para todos los geminivirus la proteína CP tiene ingerencia directa en la especificidad a ser transmitido por su vector (Bridson *et al.*, 1990) ya que se ha identificado un “loop” expuesto que contiene los aminoácidos (aa) críticos para establecer una interacción con proteínas o factores implicados en la transmisión presentes en el insecto vector (Morin *et al.*, 2000).

### **Proteína del movimiento (MP)**

La proteína del movimiento presenta un peso molecular de 13 kDa y es obtenida a partir del gen *MP*. Además, mediante experimentos de microinyección se ha observado que la proteína del movimiento incrementa el transporte de ADN viral del núcleo al citoplasma mediado por la proteína CP y que exhibe una limitada capacidad para el transporte ADN viral por el plasmodesmo (Rojas *et al.*, 2000). Mutaciones en esta proteína producen una alteración entre las cantidades de ADN viral de cadena sencilla y doble reflejándose una alteración en la presencia de síntomas que va desde la disminución en la intensidad hasta la ausencia total de los mismos (Rigden *et al.*, 1993; Padidam *et al.*, 1995).

Las proteínas Rep y REn codificadas por los genes *Rep* y *REn*, respectivamente mantienen exactamente la misma función y posición dentro del genoma que la descrita con anterioridad para Begomovirus bipartitas. Con respecto a la proteína TrAP codificada por el gen *TrAP* de *TYLCSV* hay una diferencia con lo observado en la proteína TrAP de bipartitas pues dependiendo del huésped puede no ser necesaria para infectar plantas de *Nicotiana benthamiana* pero si es importante al tratar de infectar tomate (Wartig *et al.*, 1997), lo cual está asociado con los mecanismos de defensa de la planta. Por último, la proteína C4

codificada por el gen del mismo nombre ha demostrado ser un factor importante al momento de evaluar la patogenicidad de TYLCV (Van Wezel *et al.*, 2002; Selth *et al.*, 2004). Plantas transgénicas de *N. benthamiana* expresando la proteína C4 mostraban un fenotipo característico de síntomas virales (Krake *et al.*, 1998) lo que no se observa en Begomovirus bipartitas (Pooma y Petty, 1996).

Respecto al grupo de los Curtovirus, el *Beet curly top virus* (BCTV) es el virus tipo para este género, presenta un genoma monopartita e infecta plantas dicotiledóneas y sus insectos vectores son chicharritas del género *Circulifer*. Las tres especies de Curtovirus reconocidas por el Comité Internacional para la Taxonomía de Virus (ICTV por sus siglas, en inglés) en su emisión del 2014 son: *Beet curly top virus* (BCTV), *Horseradish curly top virus* (HrCTV), *Spinach curly top virus* (SpSCTV) Varsani *et al.*, (2014b), las cuales se han aislado e identificado principalmente en Estados Unidos, México e Irán (Briddon *et al.*, 1998; Heydarnejad *et al.*, 2007, Fauquet *et al.*, 2008, Robles-Hernández *et al.*, 2011, Velásquez-Valle *et al.*, 2008 y 2012). Aunque la diversidad conocida de los Curtovirus es muy limitada en comparación a la de otros géneros pertenecientes a la familia Geminiviridae, como los Begomovirus (más de 200 especies reconocidas), su capacidad para infectar una amplia variedad de plantas agrupadas en 44 familias de

dicotiledóneas, es un claro ejemplo de su alto nivel de adaptación (Bennett, 1971; Lam *et al.*, 2009; Briddon *et al.*, 2010; Hernández y Brown, 2010).

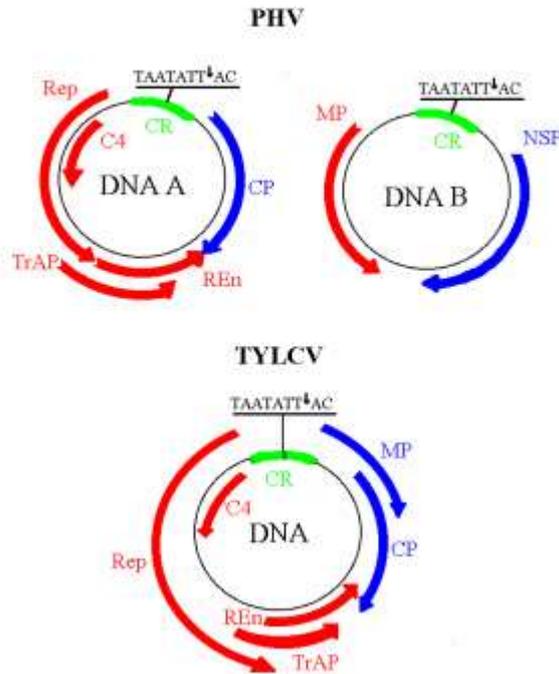
La organización genómica de la mayoría de los Curtovirus (Figura 1) incluye cuatro genes presentes en el sentido de la cadena complementaria que están claramente relacionados a los genes en la región genómica equivalente de los Begomovirus (Baliji *et al.*, 2004); en contraste, los tres genes localizados en el sentido del virión que codifican a la proteína de la cápside (V1), y proteínas aparentemente relacionadas con el movimiento de los Curtovirus (V2 y V3) parecen ser homólogos a los genes V1 y V2 de los Mastrevirus (Heydarnejad *et al.*, 2007). Con base en lo anterior se ha establecido como una hipótesis aceptada que los Curtovirus se originaron a partir de un evento de recombinación entre un Begomovirus y un Mastrevirus ancestral (Varsani *et al.*, 2009).

Con respecto a las proteínas producidas por los Curtovirus y sus funciones se puede señalar a la proteína Rep (codificada por el gen C1) como la encargada de iniciar la replicación viral y alterar el ciclo celular del huésped (Jeske, 2009). Un factor importante para aumentar el nivel de replicación viral es la proteína REn (codificada por el gen C3) y lo

hace mediante su interacción con las proteínas Rep y la proteína Retinoblastoma de la planta (Settlage *et al.*, 2005). Por otra parte, el gen C2 codifica para la proteína TrAP que, a diferencia de la proteína homóloga de Begomovirus, no parece ser capaz de transactivar la expresión de los genes tardíos del huésped, pero actúa inhibiendo el mecanismo de silenciamiento del huésped que se activa frente a las infecciones virales, ya que se ha confirmado su interacción con quinasas celulares implicadas en los mecanismos de defensa de las plantas (Surendranath *et al.*, 2006). El cuarto gen presente en el sentido de la cadena complementaria es C4 y a partir de él se produce la proteína del mismo nombre que funciona como un determinante de la patogenicidad, ya que se ha observado que plantas transgénicas que sobre-expresan C4 presentan fenotipos similares a plantas infectadas. Estudios basados en mutaciones y análisis de complementación también han sugerido la participación de la proteína C4 en la regulación transcripcional, la inhibición del silenciamiento y el transporte intercelular (Teng *et al.*, 2010; Piroux *et al.*, 2007).

Las proteínas CP y del movimiento son codificadas por los genes CP (V1) y MP (V3), respectivamente y ambas están implicadas en el movimientos del virus, la proteína del movimiento se encarga del transporte del virus del núcleo a la periferia de la célula y la proteína de

la cápside es la responsable del movimiento a larga distancia. Por último, la proteína V2 (gen V2) cuya función parece ser la de regular los niveles de ADN de cadena sencilla y de cadena doble, por lo que al infectar plantas con virus mutados en este gen se presentan síntomas atenuados (Jeske, 2009).



**Figura 1.** Organización genómica de: (a) un Begomovirus bipartita típico como el PHV (b) un monopartita como el TYLCV. Proteínas codificadas: Rep, proteína de replicación; TrAP, proteína activadora de la transcripción; Ren, proteína potenciadora de la replicación; proteína de la cápside; MP, proteína de movimiento y NSP, proteína de transporte nuclear; RC, región común. La secuencia TAATATTAC es el sitio de inicio de la replicación por círculo rodante.

## **Replicación de los Geminivirus**

Los geminivirus replican su genoma a partir de intermediarios de ADN de doble cadena en los núcleos celulares de las plantas que infectan (Stenger *et al.*, 1991; revisado por Gutiérrez, 2002), por el mecanismo de círculo rodante y se realiza en células diferenciadas que carecen de los niveles necesarios de polimerasas y factores relacionados con la replicación, producidos por el huésped; este inconveniente es superado por la expresión de la proteína viral Rep, considerada como la única proteína indispensable para iniciar la replicación viral.

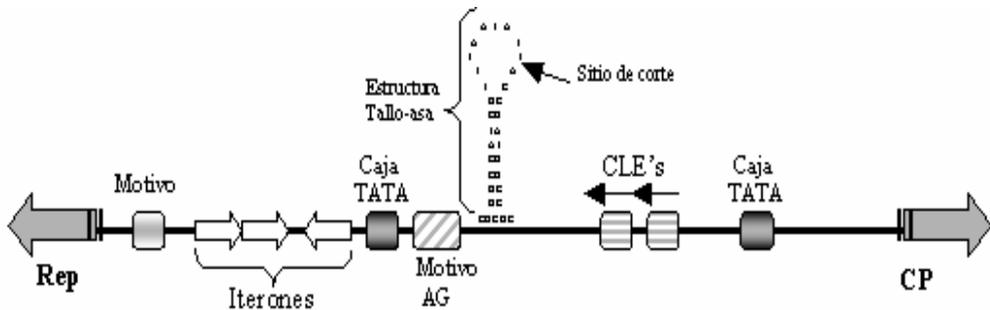
La proteína Rep interactúa con la proteína homóloga a Retinoblastoma (Rb), a través de una región de aproximadamente 80 aa (Kong *et al.*, 2000) que contiene al dominio alfa-hélice 4, conservado entre las proteínas Rep de otros geminivirus. La proteína homóloga a Rb se encarga de regular el ciclo celular mediante su interacción con el factor transcripcional E2F (Sidle *et al.*, 1996) reprimiendo la transcripción de genes que codifican proteínas necesarias para entrar a la fase S del ciclo celular (Lavia y Jansen-Durr, 1999). Al final de la fase G1 del ciclo celular la fosforilación de la proteína Rb por cinasas ciclina-dependientes interrumpe su unión al factor E2F y permite la

expresión de genes requeridos para entrar en la fase S del ciclo celular. La proteína de replicación viral (Rep) interactúa con la proteína Rb, evitando la interacción de esta última con el factor de transcripción E2F.

En el caso del virus *TGMV*, la proteína Rep contiene un residuo de leucina en la posición 148 cuya sustitución por cualquier otro aa (excepto la metionina) afecta de manera negativa la interacción entre Rep y la proteína Rb. En el caso de *Cabbage leaf curl virus (CaLCuV)* el residuo importante para la interacción con Rb se localiza en la posición 145, y corresponde a un residuo de Leucina de tal modo que se establece que la proteína Rep interactúa con Rb por medio de motivos conservados (Argüello-Astorga *et al.*, 2004).

El origen de replicación (Figura 2) está formado por la estructura tallo-asa que incluye una secuencia nanonucleotídica (TAATATT/AC) altamente conservada en todos los geminivirus, además de secuencias repetidas de 6 a 8 nucleótidos, conocidas como “iterones”, y que son característicos de la especie viral, pudiendo diferir aún entre virus filogenéticamente cercanos (Argüello-Astorga *et al.*, 1994b). Los iterones funcionan como determinantes de la replicación viral, y en la regulación transcripcional del gen *Rep*.

Después de la formación del intermediario de ADN de doble cadena, la proteína Rep reconoce los iterones presentes en la región común de ambos componentes e inicia la replicación, generando un corte endonucleolítico en la secuencia (AATATT/AC) presente en la horquilla de replicación. La tirosina 103 de la proteína Rep corta el enlace fosfodiéster entre las bases 8 y 9 del nonanucleótido conservado, produciendo un extremo 3' OH que sirve como punto de inicio de la síntesis de la cadena a partir de la cadena negativa, desplazando la cadena positiva. Rep permanece unida covalentemente al grupo fosfato del nucleótido 8, después realiza el corte de la cadena de ADN de cadena sencilla obtenida, y finalmente actúa como ligasa circularizando la molécula de ADN de cadena sencilla (Laufs *et al.*, 1995b).



**Figura 2.** Se observan los sitios de unión de las proteínas Rep (iterones) y los sitios de acción de diferentes reguladores de la transcripción (motivos, CLE) y la estructura tallo-asa y el sitio de corte para el inicio de la replicación.

## Los Begomovirus y Curtovirus en México

Los primeros reportes sobre la presencia de grandes poblaciones de mosquita blanca en Sinaloa, México vinieron acompañados por la presencia de enchinamientos severos en las plantas de tomate. Después de algunos años se identificó al *Chino del tomate virus* (CdTV) como el agente causal; desde ese momento y hasta la fecha se han identificado una amplia gama de geminivirus que provocan enfermedades serias a los cultivos, y en ocasiones epidemias devastadoras en algunas regiones del país. Entre las especies que representan una mayor afectación a los cultivos de interés económico se encuentran el *Squash leaf curl virus* (SLCV), *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV), *Bean calico mosaic virus* (BCaMV), *Pepper Huasteco yellow vein virus* (PHYVV), *Tomato chino La Paz virus* (ToChLPV), *Tomato chino Baja California Sur virus* (ToChBCSV) (Holguín-Peña *et al.*, 2004), y como resultado de una introducción en años recientes, el *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV), un Begomovirus monopartita originario del Medio Oriente (Navot *et al.*, 1991) que ha sido reportado desde la península de Yucatán (Ascencio-Ibañez *et al.*, 1999) hasta la península de Baja California (Cárdenas-Conejo *et al.*, 2010) y del cual se han reportado la aparición de nuevas variantes con diferencias muy marcadas a nivel de secuencia en las regiones reguladoras en su

genoma (Bañuelos-Hernández *et al.*, 2012).

Si a lo anterior se agrega las malas técnicas de cultivo, la ausencia de una cultura fitosanitaria y la presencia cada vez mayor de infecciones mixtas tanto en malezas como cultivos de interés económico la probabilidad de padecer epidemias cada vez más agresivas está latente. Tal es el caso de los geminivirus *PHYVV* y *PepGMV* los cuales al co-infectar diferentes hospederos, indican que existen ciertas interacciones que favorecen la presencia de estas mezclas en la naturaleza. Se ha observado que a nivel de síntomas, la mezcla generalmente produce un sinergismo no dependiente del huésped, ya que se ha observado en varias especies (Méndez-Lozano *et al.*, 2003).

Durante los últimos años se han intensificado los muestreos de plantas con síntomas de virosis presentes en la Península de Yucatán y como resultado esta región se ha establecido como una de las principales fuentes de diversidad genómica entre especies de Begomovirus (Hernández-Zepeda *et al.*, 2010b). La importancia de todo lo descrito con anterioridad es que los Begomovirus que utilizan a las malezas como reservorios naturales, ahora han sido identificados infectando frijol, Chile y tomate (Ascencio-Ibañez *et al.*, 1999).

A mediados del 2010 se describió una nueva especie viral denominada *Rhynchosia yellow mosaic Yucatán virus* la cual a pesar de haber sido aislada a partir de malezas pertenecientes a la familia de las leguminosas, en un futuro se podría encontrar infectando otras leguminosas como frijol o soya (Hernández-Zepeda *et al.*, 2010b). En los últimos cuatro años el número de nuevas especies aisladas y caracterizadas en la península de Yucatán se ha incrementado drásticamente (Gerardo R. Argüello-Astorga y Cecilia Hernández-Zepeda., comunicación personal).

Con respecto a los Curtovirus, hasta hace poco tiempo el ICTV reconocía siete especies pertenecientes a este género <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1>, todas ellas aisladas en el sur de los Estados Unidos, donde infectan a un amplio rango de cultivos de interés económico incluyendo Chile. Actualmente, se han hecho cambios en los criterios de clasificación de los Geminivirus pertenecientes al género Curtovirus dando como resultado el reconocimiento de solo tres especies: *Beet curly top virus*, *Horseradish curly top virus* y *Spinach severe curly top virus* (Varsani *et al.*, 2014b). A pesar de la proximidad del área de distribución conocida de los Curtovirus con nuestro país, fue hasta el año 2008 cuando se publicó el primer reporte de *Beet mild curly top virus* (actualmente nombrado *Beet*

*curly top virus-Mld*) infectando Chile en Zacatecas, México (Velásquez-Valle *et al.*, 2008), posteriormente se identificó la presencia de *Beet severe curly top virus* (actualmente nombrado *Beet curly top virus-SvrPep*) infectando Chile jalapeño en Chihuahua (Robles-Hernández *et al.*, 2011) y finalmente en 2012 se reportó la presencia de *Beet curly top virus-Mld* infectando frijol (Velásquez-Valle *et al.*, 2012). Con base en lo anterior puede anticiparse que existen otras especies, cepas y variantes de Curtovirus por ser descubiertas en el territorio Mexicano, pues las poblaciones del insecto vector llegan a ser considerables en ciertas áreas agrícolas.

### **Begomovirus, Curtovirus y sus vectores.**

#### **Chicharritas saltadoras (Género *Circulifer*).**

Las chicharritas saltadoras (*Circulifer tenellus*) presentes en el continente americano son insectos pequeños que miden de 3.1 a 3.5 mm de largo y menos de 1.0 mm de ancho, son muy activos en climas áridos y semiáridos, se alimentan de la savia contenida en las plantas localizándola gracias a su capacidad de detectar los gradientes de pH diferenciando al parénquima ácido del floema alcalino. Cuando una chicharrita se alimenta de una determinada planta el daño que puede provocar por sí misma es mínimo o casi nulo; sin embargo, la causa por la cual se ha convertido en una limitante en la producción de cultivos de

interés económico es su alta capacidad para transmitir agentes fitopatógenos a malezas y cultivos de interés económico entre los que destacan los Geminivirus pertenecientes al género Curtovirus.

La distribución geográfica de este vector se ha establecido en casi toda la zona Occidental de los Estados Unidos (Creamer *et al.*, 2003), algunas regiones del desierto Chihuahuense en México (Velásquez-Valle *et al.*, 2008), parte del Mediterráneo y Medio Oriente (Bennett, 1971). Reportes provenientes de Turquía e Irán indican que una segunda especie de chicharrita denominada *Circulifer haematoceps* es capaz de transferir Curtovirus inclusive con características ancestrales (Yazdi *et al.*, 2008). La interacción entre el vector y los Curtovirus inicia al momento de que la chicharrita se alimenta de una planta infectada por un Curtovirus y este es ingerido, los viriones pasan a través del canal alimenticio y llegan al tracto digestivo en donde son absorbidos probablemente mediante un mecanismo de endocitosis mediado por un receptor (Nault, 1997) una vez que los viriones llegan a la hemolinfa son transportados a las glándulas salivales para después ser transmitidos a otra planta al momento de alimentarse. La detección del virus en cada uno de los órganos involucrados en la transmisión nos indica que se trata de una transmisión circulatoria persistente (Bennett, 1971).

Experimentos realizados con *Beet mild curly top virus (BMCTV)* nos muestran que una chicharrita tarda en promedio de uno a dos minutos (Bennett, 1971) en adquirir el virus al alimentarse y que después de una hora de alimentación, la cantidad de virus adquirido por el vector es suficiente para una transmisión efectiva a nuevas plantas (Soto y Gilbertson 2002). La alta eficiencia mostrada para adquirir los viriones se explica por la facilidad para ubicar al floema y las altas cantidades de savia ingeridas (Soto y Gilbertson 2002). Se ha confirmado que el virus no se replica dentro del vector, solo es persistente aproximadamente por un mes y no hay transmisión transovárica (Soto y Gilbertson 2002).

### **La mosquita blanca (*Bemisia tabaci*)**

La correlación entre la presencia de grandes poblaciones de mosquita blanca y la aparición de síntomas característicos de infección por geminivirus ha sido una constante desde finales del siglo XIX. Las condiciones climáticas y geográficas ayudaron en la distribución de los biotipos pertenecientes a este género de tal forma que en México se encontraba de manera predominante el biotipo A el cual tiene una tasa reproductiva limitada, un rango moderadamente limitado de hospederos y aunque era capaz de transmitir Begomovirus las epidemias

provocadas por los mismo se encontraban focalizadas a cultivos de hortalizas en regiones específicas del territorio nacional.

El ciclo infectivo de los Begomovirus es del tipo circulativo no persistente y tiene como etapas principales: la adquisición del virus por parte del vector después de alimentarse por al menos 15 minutos de una planta infectada y la posterior inoculación del virus al seguir alimentándose de plantas sanas (Hunter *et al.*, 1998). A parte de transmitir Begomovirus y algunos otros fitopatógenos provocan alteraciones en la estructura de la planta pues al alimentarse ingieren su savia y producen efectos fitotóxicos; los residuos de savia presentes en la lámina foliar favorecen la aparición de fumagina la cual es la acumulación de una capa de hongos oscuros que bloquean el proceso de la fotosíntesis. Siempre que se identifican infecciones severas causadas por Begomovirus el primer paso y más importante es identificar y controlar al insecto vector mediante técnicas como: la liberación de machos estériles, uso de depredadores naturales, colocación de barreras biológicas, erradicación de malezas y empleo de variedades resistentes.

La apertura comercial a nivel mundial permitió el fácil y rápido intercambio de todo tipo de mercancías entre las que destacaron las

muestras vegetales infestadas con un nuevo biotipo de *Bemisia tabaci* conocido como biotipo B y que fueron introducidas en el continente americano vía República Dominicana para posteriormente diseminarse a gran parte del continente Americano.

La importancia del biotipo B desde el punto de vista económico radica en: su alta tasa de reproducción, un amplio rango de fuentes de alimento, alta voracidad y resistencia a insecticidas organofosforados (Bedford *et al.*, 1994). El biotipo B desplazó a las poblaciones de mosquitos blancos endémicos, estableciéndose con facilidad en regiones en donde antes no se encontraba, de tal forma que para finales de los años 80s se localizaba en todas las regiones agrícolas tropicales y subtropicales de América (Brown *et al.*, 1995), y provocando en 1991 pérdidas económicas hasta por 500 millones de dólares (Teuber *et al.*, 1996). Muestreos realizados en plantas de *Euphorbia* spp. para identificar por medio del análisis de ADN mitocondrial los biotipos de *Bemisia tabaci* presentes en Tucson, Arizona reveló la presencia de un nuevo biotipo denominado Q resistente a un amplio rango de insecticidas y que hasta la fecha había sido restringido al Viejo Mundo (Dennehy *et al.*, 2010).

## Malezas como Reservorios de Geminivirus

Cuando un cultivo determinado está presente durante todo el año las mismas plantas son potencialmente la fuente de geminivirus. Además, las malezas susceptibles a la infección viral pueden actuar como reservorio del virus, constituyendo un “puente” de infección entre las estaciones de cultivo. Entre las plantas arvenses que han sido reportadas como hospederas sintomáticas de geminivirus se encuentran principalmente plantas de las familias de las Solanáceae, Euforbiáceae y Malváceae tal es el caso del *Sida mosaic Sinaloa Virus*, una nueva especie de Begomovirus aislado de *Sida rhombifolia* (Mauricio-Castillo *et al.*, 2014a).

Algunos virus muestran una alta especificidad por los huéspedes que infectan, como es el caso del virus del enrollamiento de la hoja de la calabaza (*Squash leaf curl virus*) con su hospedante natural, calabaza (*Cucurbita pepo* L.), aunque se han encontrado cepas que difieren en 13 nucleótidos de la región intergénica y tres aa de la proteína del movimiento (BV1) colonizan un rango de hospederos diferente (Polston *et al.*, 1989).

## **Métodos de Diagnóstico**

La diseminación de los geminivirus a través de los campos agrícolas del continente Americano se debe a diversos factores, entre ellos la introducción de un nuevo biotipo del insecto vector y la adaptación del mismo a nuevas condiciones climáticas, la comercialización de explantes infectados, técnicas de cultivo inapropiadas, aumento en el rango de hospederos susceptibles a la infección por geminivirus, el uso inadecuado de insecticidas, etc. La presencia de nuevas especies o variantes virales puede deberse algunas veces a la interacción entre geminivirus diferentes que coinfectan a la misma planta; esta interacción favorece el surgimiento de recombinantes y pseudorecombinantes.

Entre los Begomovirus bipartitas presentes en el continente americano se distinguen dos grandes linajes: los Begomovirus denominados “típicos” que incluyen numerosos linajes secundarios como el “clado” del *Bean golden yellow mosaic virus (BGYMV)* y el “clado” del *Abutilon mosaic virus (ABMV)*, y por otra parte los virus pertenecientes al “clado” del *Squash leaf curl virus (SLCV)*. Los virus pertenecientes a este último linaje se encuentran ampliamente distribuidos en los agroecosistemas de Norte y Meso-América donde

causan graves enfermedades en cultivos de interés económico (Nakhla *et al.*, 2005). Estos virus se distinguen de los Begomovirus típicos por los primeros 140 aa de su proteína iniciadora de replicación y por el número y arreglo de sus iterones. El análisis de secuencias indica que el origen de los virus de “clado” SLCV se debe a la recombinación entre un Begomovirus típico y un geminivirus ancestral cuyas características son por el momento un enigma. En la naturaleza se observan de manera común Begomovirus pertenecientes a ambos linajes coinfectando tanto malezas como cultivos de interés económico. Sin embargo, las técnicas de diagnóstico molecular basadas en uno o dos pares de iniciadores degenerados presuntamente “universales”, por lo general favorecen la amplificación de los Begomovirus típicos sobre los virus del “clado” SLCV y es por eso que estos últimos con frecuencia no son detectados en plantas con infecciones dobles o múltiples.

Con base en lo anterior, se hace evidente la necesidad de desarrollar nuevas y mejores técnicas de diagnóstico para Begomovirus y Curtovirus, que hagan factible el aislamiento y caracterización genómica de los mismos, aún y cuando se encuentren formando parte de una infección mixta.

Las primeras técnicas utilizadas para la identificación de plantas infectadas por geminivirus se basaron en observar la sintomatología, esta técnica presentaba como obstáculo principal que los síntomas se pueden confundir con los causados por otros patógenos, deficiencias nutrimentales o condiciones propias del ambiente. Posteriormente se aprovechó de la circunstancia de que los geminivirus forman cuerpos de inclusión nucleares, los cuales pueden ser teñidos con el colorante Azur A, y observados al microscopio de luz; la principal debilidad de este método es que requiere de la capacitación de técnicos, que deben primero adquirir experiencia suficiente para manipular adecuadamente las muestras.

Hasta hace poco las técnicas de identificación tradicional de geminivirus han estado limitadas básicamente a las técnicas de inmunodetección (ELISA). Sin embargo, la producción de antígenos virales específicos para los Begomovirus ha enfrentado dos problemas técnicos: 1) las propiedades físicas y químicas de la partícula las hace difícil de purificar en una forma estable y, 2) los viriones parecen ser poco inmunogénicos (Roberts *et al.*, 1984). Existen métodos basados en técnicas de hibridación del ADN viral utilizando una sonda de ADN radioactiva que reconoce por complementariedad de bases al ADN problema unido a una membrana de Nylon; después de una serie de

lavados se procede a realizar una autoradiografía de la membrana, y se establece si la sonda se unió al ADN problema y comprobando de ese modo si existe o no una infección causada por geminivirus.

A finales de los años 80s se desarrolló una técnica molecular conocida como reacción en cadena de la polimerasa (PCR) capaz de amplificar genomas de ADN a partir de pequeñas muestras de tejido fresco, desecado o liofilizado, gracias a su alta sensibilidad. La PCR se basa en el diseño de oligonucleótidos que funcionan como iniciadores o “primers” para iniciar la replicación del ADN y en la estandarización de variantes como la temperatura, concentración de iones  $Mg^{2+}$ , ADN polimerasa termoresistente, y desoxirribonucleótidos, etc.

Para establecer criterios de caracterización viral es importante amplificar la región correspondiente a los genes *CP*, *Rep* y la región intergénica presentes en el componente A. La técnica de PCR es complementada por técnicas moleculares como la clonación y secuenciación, que han sido utilizadas exitosamente con fines de detección e identificación, así como para poder inferir sobre la relación entre quasi-especies virales (Padidam *et al.*, 1995). Estas técnicas junto con el análisis de polimorfismos de la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés) son muy útiles para la

identificación preliminar de geminivirus y para el estudio de la diversidad genética de los mismos. Las técnicas de clonación y secuenciación se han consolidado como herramientas necesarias para la detección, identificación y caracterización genómica de nuevas especies geminivirales (Czosnek *et al.*, 1990; Brown *et al.*, 2001).

Entre los métodos de diagnóstico basados en la técnica de la PCR figuran los siguientes:

1) El método de Wyatt y Brown, (1996) que consiste en la amplificación de una región conservada de 576 pb del gen que codifica la proteína de la cápside; aunque el método es comparativamente sencillo, tiene varias limitaciones:

La región amplificada está muy conservada entre los Begomovirus y por consiguiente no proporciona suficiente información sobre la identidad del virus. El tamaño del producto de PCR es prácticamente el mismo para todos los Begomovirus conocidos, sin importar su origen geográfico. Por lo tanto, no se obtiene información preliminar de la diversidad viral en muestras de una región dada. Todos los productos de PCR deben ser secuenciados para la identificación preliminar del virus.

2) Un segundo método fue establecido por Rojas *et al.* (1993), quienes diseñaron un juego de iniciadores universales degenerados, basándose en regiones altamente conservadas identificadas en el componente A. Estas oligonucleótidos amplifican un fragmento que comprende parte del gen *Rep*, la *IR* y una porción del gen *CP*. El uso del juego de iniciadores en antisentido permite la amplificación de dos grandes regiones genómicas, que juntas cubren la totalidad del genoma A de estos.

Las ventajas de este método son:

Tiene una aplicación general para la amplificación del componente A de los Begomovirus originarios de ambos hemisferios, los cuales se pueden distinguir porque los Begomovirus del Nuevo Mundo amplifican un fragmento de 1.1 Kb, en tanto que los del Viejo Mundo el tamaño es de 1.3 Kb. Los productos de PCR obtenidos se pueden someter a un análisis de RFLP, lo cual permite la caracterización preliminar de los Begomovirus y la demostración de infecciones mixtas en una planta sintomática. Sin embargo, los autores del método no definieron un conjunto de enzimas de restricción apropiadas para obtener patrones característicos para cada Begomovirus.

Algunas limitaciones del método son las siguientes:

El tamaño de la región amplificada no contribuye con información preliminar sobre la variabilidad entre los Begomovirus originarios de un mismo hemisferio. La identidad viral solo se puede establecer por clonación y secuenciación de la región o regiones amplificadas. Las dos grandes regiones genómicas amplificadas, no se traslapan, lo cual puede dar origen a errores cuando coexisten dos o más Begomovirus en una planta, ya que puede reconstruirse un genoma A inexistente a partir de segmentos genómicos de Begomovirus distintos.

3) Recientemente se ha propuesto un método de diagnóstico que integra a los iniciadores universales propuestos por Monreal-Vargas (2005) y Mauricio-Castillo (2006 y 2011), el cuál presenta las siguientes ventajas:

- Útil para identificar y caracterizar Begomovirus de todos los continentes.
- Involucra varios pares de iniciadores universales que amplifican segmentos traslapados de los genomas A y B de Begomovirus coinfectantes.
- Múltiples posibilidades para el anidamiento de PCRs (mayor sensibilidad).

- Reduce la necesidad de secuenciar todos los productos de PCR, al caracterizarlos por RFLPs (Mauricio-Castillo *et al.*, 2014 *CdTV*).
- Es un método eficiente para amplificar el genoma A completo de Begomovirus pertenecientes a los linajes: *SLCV* (Mauricio-Castillo *et al.*, 2006) y los “Típicos” (Mauricio-Castillo *et al.*, 2007, Mauricio-castillo *et al.*, 2014b) que son comunes en México (v.gr: *Pepper golden mosaic virus, PepGMV*).
- Permite amplificar el genoma completo de Begomovirus monopartitas (Bañuelos-Hernández *et al.*, 2012).
- Incluye iniciadores para amplificar el genoma B completo de los virus bipartitas identificados (Mauricio-Castillo *et al.*, 2014b).
- Incluye iniciadores que permiten amplificar el genoma completo de Curtovirus sin importar su origen geográfico o si se encuentran presentes en infecciones sencillas o mixtas (Velásquez-Valle *et al.*, 2012).

De lo expuesto en la sección precedente, se hace evidente la necesidad de desarrollar más y mejores métodos moleculares de diagnóstico e identificación de geminivirus, los cuales deberán superar o complementar a los ya existentes.

## **Literatura Citada**

- Argüello-Astorga, G. R., Guevara-González, R. G., Herrera-Estrella, L. R. y Rivera-Bustamante, R. F. 1994. Geminivirus replication has a group - specific organization of iterative elements: A model for replication. *Virology* 203: 90-100.
- Argüello-Astorga, G., Herrera-Estrella, L. y Rivera-Bustamante, R. 1994a. Experimental and theoretical definition of geminivirus origin of replication. *Plant Molecular Biology* 26: 553-556.
- Argüello-Astorga, G., Lopez-Ochoa, L., Kong, Ling-Jie, Orozco Beverly M., Settlege Sharon B., y Hanley-Bowdoin Linda. 2004. A novel motif in Geminivirus replication proteins interacts with the plant retinoblastoma-related protein. *Journal of Virology*. 78: 4817-4826.
- Ascencio-Ibañez, J. T., Díaz-Plaza, R., Méndez-Lozano, J., Monsalve-Fonnegra, Z. I., Arguello-Astorga, G. R. y Rivera-Bustamante, R. F. 1999. First report of Tomato yellow leaf curl geminivirus in Yucatan, Mexico. *Plant Disease* 83(12):1178.
- Baliji, S., Black, M. C., French, R., Stenger, D. C. and Sunter, G. 2004. Spinach curly top virus: a newly described Curtovirus species from southwest Texas with incongruent gene phylogenesis. *Phytopathology* 94: 772-79.
- Bañuelos-Hernández, B., Mauricio-Castillo, J. A., Cardenas-Conejo, Y., Guevara-González, R. G. y Arguello-Astorga, G. R. 2012. A new strain of tomato severe leaf curl virus and a unique variant of tomato yellow leaf curl virus from Mexico. *Archives of Virology* 157:1835-1841.
- Bedford, I. D., Briddon, R. W., Brown, J. K., Rosell, R. C. y Markham, P. G. 1994. Geminivirus transmission and biological characterization of *Bemisia tabaci* biotypes from different world regions. *Annals of Applied Biology* 125:311-325.
- Bennett, C. W. 1971. The curly top disease of sugarbeet and other plants. Monogr. No. 7. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Boulton, M. I., Pallaghy, C. K., Chatani, M., MacFarlane, S. y Davies, J. W. 1993. Replication of Maize Streak Virus mutants in maize protoplasts: evidence for a movement protein. *Virology* 192: 85-93.

- Briddon, R. W., Heydarmejad, J., Khosrowfar, F., Massumi, H., M. Darren, P. and Varsani, A. 2010. Turnip curly top virus, a highly divergent geminivirus infecting turnip in Iran. *Virus Research* 152:169-175.
- Briddon, R. W., Pinner, M. S., Stanley, J. and Markham, P. G. 1990. Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity. *Virology* 177: 85-94.
- Briddon, R. W., Stenger, D. C., Bedford, I. D., Stanley, J., Izadpanah, K. and Markham, P. G. 1998. Comparison of a *Beet curly top virus* isolate originating from the old world with those from the new world. *European Journal of Plant Pathology* 104:77-84.
- Brown, J. K. and Hine, R. B., 1984. Geminate particles associated with the leaf curl of "chino" disease of tomatoes in coastal areas of western Mexico. *Phytopathology* 74:844
- Brown, J. K., Frohlich, D. R. and Rosell, R. C. 1995. The sweetpotato or silverleaf whiteflies: biotypes of *Bemisia tabaci* or a species complex?. *Annual Review of Entomology* 40:511-534.
- Brown, J. K., Idris, A. M., Torres-Jeréz, I., Banks, G. K. and Wyatt, S. D. 2001. The core region of the coat protein gene is highly useful for establishing the provisional identification and classification of begomoviruses. *Archives of Virology* 146: 1581-1598.
- Cárdenas-Conejo Y., Arguello-Astorga G. R., Poghosyan, A., Hernandez- González, J., Lebsky V., Holguin-Peña, J., Medina-Hernández, D. y Vega-Peña, S. 2010. First report of Tomato yellow leaf curl virus co-infecting pepper with Tomato chino La Paz virus in Baja California Sur, Mexico. *Plant Disease* 94(10):1266.
- Creamer, R., Carpenter, J. and Rascon, J. 2003. Incidence of the beet leafhopper, *Circulifer tenellus* (Homoptera: Cicadellidae) in New Mexico. *Southwestern Entomologist* 28: 177-182.
- Czosnek, H., Navot, N. and Laterrot, H. 1990. Geographical distribution of tomato yellow leaf curl virus. A first survey using specific ADN probes. *Phytopathologia Mediterranea* 29:1-6

- Dennehy, T. J., Degain, B. A., Harpold, V. S., Zaborac, M., Morin, S., Fabrik, J. A., Nichols, R. L., Brown J. K., Byrne F. J. and Li X. 2010. Extraordinary resistance to insecticides reveals exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* in the New World. *Journal of Economic Entomology* 103:2174-86.
- Fauquet, C. M., Briddon, R. W., Brown, J. K., Moriones, E., Stanley, J., Zerbini, M. and Zhou, X. 2008. Geminivirus strain demarcation and nomenclature. *Archives of Virology* 153:783.
- García-Neria, M. A., Trejo-Saavedra, D. L., y Rivera-Bustamante, R. F. 2010. Veinte años de investigación con Geminivirus en vegetales en Guanajuato. *Acta Universitaria*, 20(3):84-92.
- Goodman, R. M. 1977. Single stranded-A genome in a whitefly-transmitted plant virus. *Virology* 83:171-199.
- Gorbalenya, A. E. and Koonin, E. V. 1993. Helicase: aminoacid sequence comparisons and structure-function relationships. *Current Opinion in Structural Biology* 3: 419-429.
- Gronenborn, B. 2002. Genus nanovirus. In the Springer Index of Viruses (Tidona, C.A. and Darai, G., eds). Springer 1272 -1279 pp.
- Gutiérrez, C. 2002. Strategies for geminivirus ADN replication and cell cycle interference. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 60:219-230.
- Hanley-Bowdoin, L., Settlage, S.B., Orozco, B.M., Nagar, S. and Robertson, D. 1999. Geminiviruses: models for plant ADN replication, transcription, and cell cycle regulation. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18: 71-106.
- Hehnl, S., Wege, C. and Jeske, H. 2004. Interaction of ADN with Movement Proteins of geminiviruses Revisited. *Journal of Virology* 7698-7706.
- Hernández-Zepeda C. and Brown J. K. 2010a. First report of a new curtovirus species, Spinach severe curly top virus, in commercial spinach plants (*Spinacia soleracea*) from South central Arizona. *Plant Disease* 94: 917.

- Hernández-Zepeda, C., Idris, A. M., Carnevali, G., Brown, J. K., Argüello-Astorga, G. R., Moreno-Valenzuela, O. A. and Rivera-Bustamante, R. 2010b. Characterization of Rhynchosia yellow mosaic Yucatan virus (RhYMYuV) a new recombinant begomovirus associated with two fabaceous weeds in Yucatan, Mexico. *Archives of Virology* 155: 1-7
- Heydarnejad, J., H. Abhari, E., B. Yazdi, H. R. and Hassumi H. 2007. Curly top of cultivated plants and weeds and reports of a unique Curtovirus from Iran. *Journal of Phytopathology* 155: 321-325.
- Holguín-Peña, R. J., Vázquez-Juárez, R., y Rivera-Bustamante, R. F. 2004. Pepper golden mosaic virus affecting tomato crops in the Baja California Peninsula, Mexico. *Plant Disease* 88: 221.
- Howarth, A. J. and Vandemark, G. J. 1989. Phylogeny of Geminiviruses. *Journal of General Virology* 70: 2717-2727.
- Hull, R. 2001. Mathew's Plant Virology. 3er. Ed. Academic Press, London.
- Hunter, W. B., Hiebert, E., Webb, E.S., Tsai, J. H. and Polston, J. E. 1998. Location of Geminiviruses in the Whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Plant Disease* 82:1147-1151.
- Ilyina, T. V. and Koonin, E. V. 1992. Conserved sequence motifs in the initiator protein for rolling circle ADN replication encoded y diverse replicons from Eubacteria, Eucaryotes y Archaeobacteria. *Nucleic Acids Research* 20: 3279-3285.
- Jeske, H. 2009. Geminiviruses. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 331: 185-226. Review.
- Kong, L. J., Orozco, B. M., Roe, J. L., Nagar, S., Ou, S., Feiler, H. S., Durfee, T., Miller, A. B., Gruissem, W., Robertson, D. and Hanley-Bowdoin, L. 2000. A geminivirus replication protein interacts with the retinoblastoma protein through a novel domain to determine symptoms and tissue specificity of infection in plants. *The EMBO Journal* 19: 3485-3495.
- Koonin, E. V. and Ilyina, T. V. 1992. Geminivirus replication proteins are related to prokaryotic plasmid rolling circle ADN initiation proteins. *Journal of General Virology* 73: 2763-2766.

- Krake, L. R., Rezaian, M. A. and Dry, I. B. 1998. Expression of the tomato leaf curl geminivirus C4 gene produces viruslike symptoms in transgenic plants. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11: 413-17.
- Kunik, T., Mizrachy, L., Citovsky, V. and Gafni, Y. 1999. Characterization of a tomato Karyopherin that interacts with *Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV)* coat protein. *Journal of Experimental Botany* 50: 731-732.
- Lam, N., Creamer, R., Rascon, J., Belfon, R. 2009. Characterization of a new curtovirus, Pepper yellow dwarf virus from Chile pepper and distribution in weed hosts in New Mexico. *Archives of Virology* 154: 429-436.
- Laufs, J., Jupin, I., David, C., Schumacher, S., Heyraud-Nitschke, F. and Gronenborn, B. 1995a. Geminivirus replication: genetic and biochemical characterization of Rep protein function, a review. *Biochimie* 77: 765-773.
- Laufs, J., Traut, W., Heyraud, F., Matzeit, V., Rogers, S. G., Schell, J. and Gronenborn, B. 1995b. In vitro cleavage and joining at the viral origin of replication by the replication initiator protein of tomato yellow leaf curl virus. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 3879-3883.
- Lavia, P. and P. Jansen-Durr. 1999. E2F target genes and cell-cycle checkpoint control. *Bioessays* 21: 221-230.
- Lazarowitz, S.G., Pinder, A. J., Damsteegt, V. D. and Rogers, S. G. 1989. Maize streak virus genes essential for systemic spread and symptom development. *The EMBO Journal* 8: 1023-1032.
- Matamoros, I. M. A. 2012. Diagnóstico molecular de geminivirus en plantaciones comerciales de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y malezas asociadas al cultivo, en la provincia Santa Elena., Escuela Superior Politécnica del Litoral.
- Mauricio-Castillo, J. A., Arguello-Astorga, G. R., Alpuche-Solis, A. G., Monreal-Vargas, C. T., Días-Gómez, O., Torre-Almaraz, R. 2006. First report of Tomato severe leaf curl virus in Mexico. *Plant Dis* 90:1116.
- Mauricio-Castillo, J. A. 2006. "Métodos moleculares que potencian el descubrimiento de nuevas especies de Begomovirus y la detección de infecciones mixtas." Tesis de Maestría en Ciencias en Biología Molecular. IPICYT.

- Mauricio-Castillo, J. A. 2011. "Caracterización de nuevas especies y cepas de geminivirus por un método molecular que optimiza la detección de infecciones mixtas" Tesis de Doctorado en Ciencias en Biología Molecular. IPICYT.
- Mauricio-Castillo, J. A., Arguello-Astorga, G. R., Ambriz-Granados, S. and Alpuche-Solis, A. G., 2007.- First report of Tomato golden mottle virus on *Lycopersicon esculentum* and *Solanum rostratum* in Mexico. Plant Disease, 99(11): 1513.
- Mauricio-Castillo, J. A., Argüello-Astorga, G. R., Bañuelos-Hernández, B., Ambriz-Granados, S., Velásquez-Valle, R. y Méndez-Lozano, J. 2014. Una nueva cepa del Virus del Chino del Tomate aislado de plantas de soya (*Glycine max* L.) en México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 8: 1441-1449
- Mauricio-Castillo, J. A., Torres-Herrera, S. I., Cárdenas-Conejo, Y., Pastor-Palacios, G., Méndez-Lozano, J. and Argüello-Astorga, G. R. 2014a. A novel Begomovirus isolated from *Sida* contains putative cis- and trans-acting replication specificity determinants that have evolved independently in several geographical lineages. Arch Virol. 2014 Apr 16. [Epub ahead of print]
- Méndez-Lozano, J., Torres-Pacheco, I., Fauquet, C. M., and Rivera-Bustamante, R. F. 2003. Interactions between geminiviruses in a naturally occurring mixture: Pepper huasteco virus and Pepper golden mosaic virus. Phytopathology 93(3): 270-277.
- Monreal-Vargas, C. 2005 Desarrollo de métodos de diagnóstico molecular de enfermedades virales, bacterianas y fúngicas en hortalizas. Tesis de Maestría en Ciencias en Biología Molecular. IPICYT.
- Morin, S., Ghanim, M., Sobol, I. and Czosnek, H. 2000. The GroEL protein of the whitefly *Bemisia tabaci* interacts with the coat protein of transmissible and nontransmissible begomoviruses in the yeast two-hybrid system. Virology 276: 404-416.
- Nakhla, M. K., Sorensen, A., Mejía, L., Ramírez, P., Karkashian, J. P. and Maxwell, D. P. 2005. Molecular Characterization of Tomato-Infecting Begomoviruses in Central America and Development of ADN - Based Detection Methods. ISH Acta Horticulturae 695: I International Symposium on Tomato Diseases. M.T. Momol, P. Ji, J. B. Jones, (eds). Orlando, FL, USA, 2005.

- Nault, L. R. 1997. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals of the Entomological Society of America* 90: 521-541.
- Navot, N., Pichersky, E., Zeidan, M., Zamir, D. and Czosnek, H. 1991. *Tomato yellow leaf curl virus*: a whitefly transmitted geminivirus with a single genomic component. *Virology* 185: 151-161.
- Orozco, B. M., and Hanley-Bowdoin, L. 1996. A ADN structure is required for geminivirus origin function. *Journal Virology* 270: 148-158.
- Orozco, B. M., and L. Hanley-Bowdoin. 1998. Conserved sequence and structural motifs contribute to the ADN binding and cleavage activities of a geminivirus replication protein. *Journal of Biological Chemistry* 273: 24448-24456.
- Padidam, M., Beachy, R. N., and Fauquet, C. M. 1995. Classification and identification of geminiviruses using sequence comparisons. *Journal of General Virology* 76:249 -263.
- Palmer, K. E. and Rybicki, E. P. 1998. The molecular biology of mastreviruses. *Advances in virus research*, 50, 183-234.
- Pant, V., D. Gupta, N. R. Choudhury, V. G. Malathi, A. Varma, and S. K. Mukherjee. 2001. Molecular characterization of the Rep protein of the blackgram isolate of Indian mungbean yellow mosaic virus. *Journal of General Virology* 82: 2559-2567
- Pascal, E., Sanderfoot, A. A., Ward, B. M., Medville, R., Urgeon, R. and Lazarowitz, S. G. 1994. The geminivirus BR1 movement protein binds single -stranded ADN and localizes to the cell nucleus. *Plant Cell* 6: 995-1006.
- Piroux, N., Saunders, K., Page, A. and Stanley, J. 2007. Geminivirus pathogenicity protein C4 interacts with *Arabidopsis thaliana* shaggy-related protein kinase AtSKeta, a component of the brassinosteroid signalling pathway. *Virology*. 362: 428-440.
- Polston, J. E., Dodds, J. A., and Perring, T. M. 1989. Nucleid acids probes for detection and strain discrimination of cucurbit geminiviruses. *Phytopathology* 79: 1123-1127.

- Pooma, W. and Petty, I. T. 1996. Tomato golden mosaic virus open reading frame AL4 is genetically distinct from its C4 analogue in monopartite Geminiviruses. *J. Gen. Virol* 77: 1947-51.
- Rigden, J. E., Dry, I. B., Mullineaux, P. M. and Rezaian, M. A. 1993. Mutagenesis of the virion-sense open reading frames of tomato leaf curl geminivirus. *Virology*. 193: 1001-1005.
- Roberts, I. M., Robinson, D. J. and Harrison, B. D. 1984. Serological relationships and genome homologies among geminiviruses. *Annals of Applied Biology* 105: 483-493.
- Robles-Hernandez, L., Gonzalez-Franco, A. C., Gill-Langarica, E. M., Sago, C., Nikolaeva, O. V. and Karasev, A. V. 2011. First Report of Beet severe curly top virus in Jalapeño Pepper in Chihuahua, Mexico. *Plant Disease*, 95(6): 778-778.
- Rojas, A., Kvarnheden, A. and Valkonen, J. P. T. 2000. Geminiviruses infecting tomato crops in Nicaragua. *Plant Disease* 84:843-846.
- Rojas, M. R., Gilbertson, R. L., Russell, D. R., and Maxwell, D. P. 1993. Use of degenerate primers in the polymerase chain reaction to detect whitefly-transmitted geminivirus. *Plant Disease* 77: 340-347.
- Rojas, M. R., Noueiry, A. O, Lucas, W. J. and Gilertson, R. L. 1998. Bean dwarf mosaic geminivirus movement proteins recognize ADN in a form - and size-specific manner. *Cell* 95: 105-113.
- Ruiz-Medrano, R., Guevara-González, G. R., Arguello-Astorga, G. R., Monsalve-Fonnegra, Z., Herrera-Estrella, L. R. and Rivera-Bustamante, R. F. 1999. Identification of a Sequence Element Involved in AC2-Mediated Transactivation of the Pepper Huasteco Virus Coat Protein Gene. *Virology* 253: 162-169.
- Saunders, K., Bedford, I. D., Tetsukazu, Y. and Stanley, J. 2003. Aetiology: The earliest recorded plant virus disease. *Nature* 422: 831.
- Saunders, K., Lucy, A. and Stanley, J. 1991. ADN forms of the geminivirus African cassava mosaic virus consistent with a rolling circle mechanism of replication. *Nucleic Acids Research* 19: 2325-2330.

- Selth, L. A., Randles, J. and Reaian, A. 2004. Host responses to transient expression of individual genes encoded by Tomato leaf curl virus. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 17: 27-33.
- Settlage, S. B., Miller A. B., Gruissem, W. and Hanley–Bowdoin, L. 2001. Dual interaction of a geminivirus replication accesoty factor with a viral replication protein and a plant cell cicle regulator. *Virology* 279: 570-576.
- Settlage, S. B., Miller, A. B. and Hanley–Bowdoin, L. 1996. Interactions between geminivirus replication proteins. *Journal of Virology* 70: 6790-6795.
- Settlage, S. B., See, R. G., Hanley-Bowdoin, L. 2005. Geminivirus C3 protein: Replication Enhancement and protein interaction. *Journal of Virology* 79: 9885-9895.
- Side, A., Palaty, C., Dirks, P., Wiggan, O., Kiess, M., Gill, R. M., Wong, A. K. and Hamel, P. A. 1996. Activity of the retinoblastoma family proteins, pRB, p107, and p130, during cellular proliferation and differentiation. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 31: 237-271.
- Soto, J. M. and Gilbertson, L. R. 2002. Distribution and rate of movement of the curtovirus Beet mild curly top virus (Family Geminiviridae) in the Beet leafhopper. *Phyto* 93: 478-484.
- Stenger, D. C., Revington, G. N., Stevenson, M. C. and Bisaro, D. M. 1991. Replicational release of geminivirus genomes from tandemly repeated copies: evidence for rolling -circle replication of a plant vial ADN. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 88: 8029-8033.
- Sunter, G. and Bisaro, D. M. 1991. Transactivation in a geminivirus: AL2 gene product is needed for coat protein expression. *Virology* 180: 416-419.
- Sunter, G. and Bisaro, D. M. 1992. Transactivation of geminivirus AR1 and BR1 gene expression by the viral AL2 gene product occurs at the level of transcription. *Plant Cell* 4: 1321-1331.
- Surendranath, B., Sunter, J. and Sunter, G. 2006 Transcriptional analysis of complementary sense genes in Spinach curly top virus and functional rol of C2 in pathogenesis. 20: 194-206

- Teng, K., Chen, H., Zhang, Z., Fang, Y., Xia, R., Zhou, X., Guo, H. and Xie, Q. 2010. Involvement of C4 protein of beet severe curly top virus (family Geminiviridae) in virus movement. PLoS One. 5(6): 11280
- Teuber, L. R., Rupert, M. E., Gis, L. K. and Taggard, K. L. 1996. Breeding resistant alfalfa holds promise for silverleaf whitefly management. California Agriculture 51: 25-29.
- Van Wezel, R., Dong, X., Blake, P., Stanley, J. and Hong, Y. 2002. Differential roles of geminivirus Rep and AC4 (C4) in the induction of necrosis in *Nicotiana benthamiana*. Molecular Plant Pathology 3: 461-471.
- Varsani, A., Martin, D. P., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Hernández-Zepeda, C., Idris, A., Murilo-Zerbini F. and Brown, J. K. 2014b. Revisiting the classification of curtoviruses based on genome-wide pairwise identity. Archives of Virology 159(7): 1873-82.
- Varsani, A., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Hernández-Zepeda, C., Idris, A., Brown, J. K., Murilo-Zerbini, F. and Martin D. P. 2014a. Establishment of three new genera in the family Geminiviridae: Becurtovirus, Eragrovirus and Turncurtovirus. Archives of Virology 159 (8): 2193-2203.
- Varsani, A., Shepherd, D., Dent, K., Monjane, A., Rybicki, E. and Martin, D. 2009. A highly divergent South African geminivirus species illuminates the ancient evolutionary history of this family. Virology Journal 6: 36.
- Velásquez-Valle, R., Medina-Aguilar, M. M. and Creamer, R. 2008. First report of beet mild curly top virus infection of Chile pepper in North-Central Mexico. Plant Disease 92: 650.
- Velásquez-Valle, R., Mena-Covarrubias, J., Reveles-Torres, L. R., Argüello-Astorga, G. R., Salas-Luevano, M. A. and Mauricio-Castillo, J. A. 2012. First report of Beet mild curly top virus in dry bean in Zacatecas, Mexico. Plant Disease 96 (5): 771-772.
- Voinnet, O., Pinto Y. M. and Baulcombe, D. C. 1999. Suppression of gene silencing: a general strategy used by diverse ADN and RNA viruses of plants. Proceedings of the National Academy of Sciences USA. 96: 14147-14152.

- Vonarnim, A., Frischmuth, T. and Stanley, J. 1993. Detection and possible functions of african cassava mosaic virus ADN B gene products. *Virology* 192: 264-272.
- Wartig, L., Kheyr-Pour, A., Noris, E., De Kouchkovsky, F. and Jouanneau, F. 1997. Genetic analysis of the monopartite tomato yellow leaf curl geminivirus: roles of V1, V2, and C2 ORFs in viral pathogenesis. *Virology* 228: 132-140.
- Wyatt, S. D. and Brown, J. K. 1996. Detection of subgroup III geminivirus isolates in leaf extracts by degenerate primers and polymerase chain reaction. *Phytopathology* 86: 1288-1293.
- Yazdi, H., Heydarnejad, J. and Massumi, H. 2008. Genome characterization and genetic diversity of beet curly top Iran virus: a geminivirus with a novel nonanucleotide. *Virus Genes*. 36: 539-545.
- Yedidya, G. and Bernard, L. P. 2002. The role of host and viral proteins in intra- and inter-cellular trafficking of geminiviruses. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 60: 231-241.

## **CAPITULO 4**

### **FITOPLASMAS COMO AGENTES PATOGENICOS Y SU DIAGNÓSTICO POR MEDIOS MOLECULARES**

Luis Roberto Reveles-Torres<sup>1</sup>  
Jorge Armando Mauricio-Castillo<sup>2</sup>  
Silvia Salas-Muñoz<sup>1</sup>

#### **Introducción**

Desde hace muchos años se habían observado enfermedades en diversas plantas, caracterizadas por la manifestación de un conjunto de síntomas entre los que se destacan el amarillamiento foliar, el reverdecimiento de las estructuras florales dando aspecto de hojas, la proliferación exagerada de brotes y el raquitismo o enanismo de la planta.

Sin evidencias concretas, en un principio se pensó que eran virus fitopatógenos los causantes de estos síntomas. La primera evidencia de la ocurrencia de este tipo de organismos en plantas fue obtenida en 1967 por un grupo de investigadores japoneses quienes observaron al microscopio electrónico cuerpos pleomórficos similares a los micoplasmas en el floema de plantas con síntomas de amarillamiento;

---

<sup>1</sup> Programa de Biología Molecular, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP;

<sup>2</sup> Unidad Académica de Agronomía – Universidad Autónoma de Zacatecas.

enfermedad que hasta ese momento se creía eran causados por virus (Doi *et al.*, 1967).

Por su semejanza con los micoplasmas, los fitoplasmas fueron llamados inicialmente “Organismos Tipo Micoplasma”. No fue hasta en 1994 que el Comité de Taxonomía de los Mollicutes de la “International Organization for Mycoplasmaology”, estableció oficialmente llamar fitoplasmas a estos microorganismos patogénicos de plantas. Recientemente se ha propuesto que los fitoplasmas ocupen el género “*Candidatus Phytoplasmas*”. El estatus de “*Candidatus*” se usa cuando una especie o género está bien caracterizado pero es incultivable. Por este hecho, a partir del 2004 el nombre científico para referirse a los fitoplasmas es establecido como *Candidatus Phytoplasma*. En la actualidad varias especies de fitoplasmas “*Candidatus*” han sido reportadas (Wang y Hiruki, 2001; Montano *et al.*, 2001; Jung *et al.*, 2002; Hiruki y Wang, 2004; Lee *et al.*, 2004; Seemuller y Schneider, 2004; Schneider *et al.*, 2005).

### **Características**

Los fitoplasmas son procariotes unicelulares pertenecientes a la Clase Mollicutes, desprovistos de pared celular, característica que les da gran plasticidad, pleomorfismo y resistencia a las sustancias

antibacterianas que degradan o inhiben la síntesis de péptidoglucano. Además, se ha reportado que son sensibles a las tetraciclinas (Lee *et al.*, 2000).

Hasta el momento no se ha logrado cultivar fitoplasmas en sustratos artificiales debido a que carecen de los genes necesarios para la síntesis de algunos aminoácidos, ácidos grasos y lípidos esenciales; factores que les impiden el desarrollo fuera del hospedero (Yu *et al.*, 1998), por lo que se consideran parásitos obligados.

Estos organismos tienen un tamaño celular muy pequeño que varía de 200-800 nm (Bertaccini, 2007). Su genoma es rico en adenina y timina (Razin, 1998) y su tamaño oscila de 530 a 1,350 kpb (Marccone *et al.*, 1999). Los fitoplasmas son capaces de reproducirse por fisión binaria transversal a partir de células filamentosas y cocoides (Lee *et al.*, 2000).

Estos organismos habitan en el floema de las plantas, a menudo alineados paralelamente a lo largo de las células cribosas (Whitcomb y Tully, 1989; Gundersen *et al.*, 1996b; Bertaccini *et al.*, 2000; Seemüller y Schneider, 2004;). Son parásitos obligados y se localizan en los espacios intracelulares de las plantas y dentro de sus insectos vectores (Murrall

*et al.*, 1996).

En las plantas se localizan en el floema donde tienen la capacidad de pasar lentamente a través de los poros de las células cribosas y colonizar lentamente toda la planta (Whitcomb y Tully, 1989). Los cuerpos de los fitoplasmas contienen un enrejado fibrilar de hebras, que se supone es el DNA, y áreas con gránulos semejantes a ribosomas (Doi *et al.*, 1967). Los fitoplasmas son los procariotes más pequeños capaces de replicación autónoma. Dado que los fitoplasmas no tienen la capacidad genética de sintetizar todos los nutrientes necesarios para su metabolismo, estos los adquieren de estas células vegetales los cuales, al obturarse, provocan diversos desarreglos en la planta infectada como son amarillamientos, clorosis, marchitez, enanismo, proliferación de yemas etc. (Weintraub y Jones, 2010). Los fitoplasmas son muy específicos y, normalmente afectan a una sola especie vegetal o a unas pocas, existiendo más de 100 tipos de estos reportados en todo el mundo (Hogenhout *et al.*, 2008).

La célula fitoplásmica está rodeada por una membrana trilaminar de aproximadamente 10 nm de grosor, compuesta por dos partes de proteínas y una parte de lípidos. El citoplasma solo contiene ribosomas útiles para la síntesis de proteínas y una molécula de DNA doble circular,

también se ha detectado la presencia de DNA extracromosómico (Nishigawa *et al.*, 2001; Sugio *et al.*, 2011).

Estudios filogenéticos mediante análisis de secuencias del gen 16S ribosomal indican que los fitoplasmas están relacionados con las formas de micoplasmas en animales, pero es aún más similar a los micoplasmas como *Achaloplasma* y *Anaeroplasma* (Deng y Hiruki, 1991; Lee *et al.*, 2000; Seemuller *et al.*, 1994).

## **Mecanismo de transmisión**

### **a. Transmisión por insectos vectores**

En la naturaleza los fitoplasmas son diseminados por insectos vectores que se alimentan del floema. Estos se encuentran en el orden Hemiptera que incluye tres taxas que han sido confirmadas como vectores de fitoplasmas. La superfamilia Membracoidea incluye el número mayor de especies, particularmente la familia Cicadellidae en la cual se agrupa la mayor parte de especies vectoras. Le sigue en importancia la súper familia Fulgoromorpha, dentro de la cual se encuentran cuatro familias de especies que son vectoras. El suborden con menos vectores es Sternorrhyncha, del cual solamente dos géneros de la familia Psyllidae se han confirmado como vectores (Lee *et al.*, 2000; Weintraub y Beanland, 2006).

Dentro de la familia Cicadelidae, la subfamilia Deltocephalinae incluye el 75 % de las especies vectoras de diferentes grupos de fitoplasmas. La sub familia Macropsidinae ocupa el segundo lugar debido al gran número de especies vectoras confirmadas, ambos grupos se alimentan principalmente de plantas leñosas y sus hábitos alimenticios pueden ser de tipo monófagos o polífagos. La superfamilia Aphrodoidea comprende alrededor del 10 % de las especies vectoras de fitoplasmas confirmadas. Aún queda en duda si la familia Membracidae sea importante en la trasmisión de fitoplasmas (Weintraub y Beanland, 2006).

Los fitoplasmas crecen y se multiplican en el canal alimenticio, hemolinfa, glándulas salivales y espacios intercelulares de sus insectos vectores. La transmisión del patógeno inicia con la adquisición, en el cual el insecto (ninfas y adultos) ingiere al patógeno al alimentarse del floema de una planta infectada; cuanto más largo sea el tiempo, mayores serán las posibilidades de que el insecto quede infectado y sea capaz de transmitirlo posteriormente (Purcell, 1982). En este período el vector debe adquirir una cantidad suficiente del fitoplasma y depende también de la concentración del fitoplasma en la planta. Existe un período de incubación, que puede durar desde unos cuantos

días hasta 80 días; en éste el patógeno se multiplica dentro del vector, la longitud de este periodo depende del vector y la temperatura, entre otros factores (Sugio *et al.*, 2011). Posterior a la multiplicación, el fitoplasma llega a las glándulas salivales y es a partir de ese momento cuando el insecto es capaz de transmitirlo, los vectores permanecen infectados durante toda su vida (Nault, 1997).

Por otro lado, la infección por fitoplasmas puede modificar la “aptitud” (medido como el rango de sobrevivencia y fecundidad) del insecto hospedero o vector, teniendo un efecto neutral, negativo, o en varios casos exhibir un efecto positivo (Ammar y Hogenhout, 2006; Beanland *et al.*, 2000; Hogenhout *et al.*, 2008) La probabilidad de una interacción positiva (que beneficie al insecto), frente a una interacción negativa (que deteriora la aptitud del insecto), frecuentemente refleja la evolución en el tiempo de la interacción dada entre insecto-microbio: cuanto más tiempo los dos organismos han coexistido y coevolucionado, más probable es que el insecto vector sea beneficiado con la interacción (Nault, 1990).

#### **b. Transmisión por plantas parásitas y reproducción vegetativa**

La cuscuta (*Cuscuta* spp.) es una enredadera parásita cuya fuente de nutrición son las plantas verdes con las que desarrolla una

conexión vascular. Se han observado fitoplasmas dentro del floema de plantas de cuscuta, que se hallan parasitando plantas infectadas por fitoplasmas del amarillamiento del áster (Pribylová y Špak, 2012).

Muchos de los fitoplasmas también son transmitidos mediante de rizomas, bulbos y tubérculos, como ocurre con la papa, que en muchos de los casos los tubérculos recién cosechados no presentan síntomas característicos de fitoplasmas e incluso después del período de almacenamiento (estado de latencia). Pero al momento de la brotación, el patógeno se reproduce gracias a la síntesis y movimiento de nutrientes al iniciarse la formación de los brotes en el tubérculo (Leyva-López *et al.*, 2002).

### **c. Transmisión por Injerto**

Como todas las enfermedades vasculares, los fitoplasmas también son transmitidos por medio de injertos. Su eficiencia de transmisión está condicionada por la distribución irregular de los fitoplasmas en las plantas (Sugio *et al.*, 2011). La transmisión se logra eficazmente cuando se realiza el injerto en plantas compatibles. El injerto permite la transmisión de una gran cantidad de inóculo. Las técnicas de injertos utilizadas incluyen implantes de tejidos, brotes, partes de corteza, diversas técnicas de asociación, adhesión y construcción de puentes entre el floema de plantas (Hodgetts *et al.*,

2012). Plantas dicotiledóneas, tanto herbáceas como leñosas, pueden ser injertadas, sin embargo, el injerto no es practicable en monocotiledóneas (Espinosa y Alonso, 2013).

Algunos fitoplasmas son muy virulentos, cuando se mantienen por medio de micropropagación vegetativa, y la longevidad de los brotes puede variar sustancialmente. En ocasiones, los organismos endófitos como otras bacterias o levaduras pueden contaminar los explantes, por lo que se deben usar antibióticos u otras sustancias químicas para combatirlos. Es importante evitar el uso de tetraciclina en cualquier paso para evitar la eliminación no deseada de los fitoplasmas de los brotes (Hodgetts *et al.*, 2012).

## **Hospedantes**

Los fitoplasmas atacan a una gran diversidad de plantas, son especialmente importantes en hortalizas y ornamentales. Con las técnicas moleculares se ha llegado incluso a determinar que hay varios grupos de fitoplasmas; algunos síntomas similares pueden ser inducidos por diferentes tipos de dichos microorganismos; mientras que diferentes tipos de síntomas pueden ser inducidos por fitoplasmas estrechamente relacionados (Davis y Sinclair, 1998). Los resultados recientes han revelado que son más diversos de lo que se pensaba y que no se

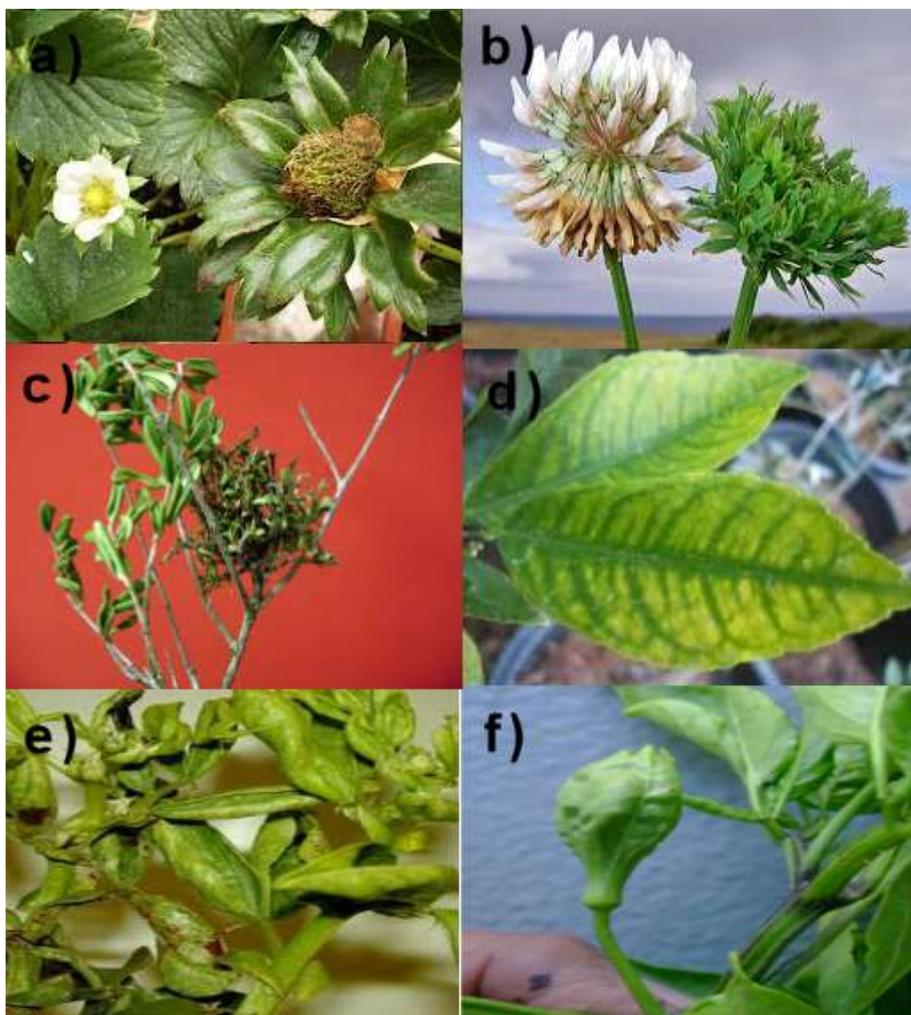
distribuyen de manera uniforme en todos los continentes (Seemüller *et al.*, 1998).

Los fitoplasmas se han asociado con enfermedades de varios cientos de especies de plantas pertenecientes a 98 familias, mismas que actualmente se encuentran registradas en 85 países incluyendo México, y con numerosos vectores de insectos ya mencionados anteriormente. Aunque estos vectores se distribuyen en ambientes tropicales y semitropicales, se puede afirmar que geográficamente, la presencia de fitoplasmas es a nivel mundial, pues se han reportado en al menos 85 países (Costanzo, 2012).

Dentro de las familias más susceptibles destacan: Solanaceae, Cucurbitaceae, Amaranthaceae, Asteraceae, Compositae, Brassicaceae, Convolvulaceae, Leguminosae, Liliaceae, Malvaceae, Palmaceae, Gramineae y Rosaceae principalmente (McCoy *et al.*, 1989).

## **Sintomatología**

Los síntomas generales que presentan las plantas infectadas con fitoplasmas son clorosis general, enrojecimiento precoz de las hojas, esterilidad de las flores, pétalos de color verde que parecen hojas (virescencia de flores) y producción de estructuras semejantes a hojas en lugar de flores (filodia), proliferación de yemas adventicias (escobas de brujas), faroles chinos, enanismo generalizado, enrollamiento de las hojas, necrosis del floema y decaimiento general (Bertaccini, 2007). En general, las enfermedades asociadas a estos patógenos se reconocen por un conjunto de síntomas que sugieren profundas alteraciones en el equilibrio hormonal de la planta, en la fotosíntesis y en las sustancias de reserva (Musetti, 2010; Musetti *et al.*, 1999). Algunos síntomas ocasionados por fitoplasmas se muestran en la Figura 1.



**Figura 1.** Síntomas ocasionados por fitoplasmas en plantas: a) virescencia, b) filodia, c) escoba de bruja, d) clorosis, e) enrollamiento de hojas, f) faroles chinos

## Clasificación de fitoplasmas

Los primeros intentos para diferenciar a los fitoplasmas se basaron en el conocimiento de sus propiedades biológicas como lo son la sintomatología, rango de hospedantes y la especificidad de la transmisión por los insectos vectores. En base a estas características se clasificaron en tres diferentes grupos: agentes de decaimiento, proliferación y virescencia (Cervantes-Díaz *et al.*, 2004). Técnicas moleculares como la serología, hibridación del DNA, análisis por PCR y secuenciación del gen 16S rRNA han permitido la clasificación e identificación de fitoplasmas. Mediante el análisis de restricción con diferentes enzimas de fragmentos del gen 16S rDNA amplificados por PCR (RFLP-PCR). Coeficientes de similitud para los fragmentos de restricción son calculados por fórmulas definidas (Nei y Li, 1979; Lee *et al.*, 1998a; Wei *et al.*, 2008) que reflejan el número de fragmentos, tanto compartidos como no compartidos entre cualquier cepa dada; basado en este sistema, ahora se tienen 30 grupos de fitoplasmas, dentro de los cuales hay a la vez subgrupos (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Clasificación de fitoplasmas con base en la comparación de secuencias de la región 16S del DNA ribosomal y RFLP-PCR.

Grupo 16Sr	Especies Candidatas	Tipo de cepa	Número de acceso del Banco de Genes	Distribución geográfica del grupo
I-A	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Aster yellows witches	NC_007716	Norte América, Europa
I-B	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Onion yellows	NC_005303	Todo el mundo
I-C	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Clover phyllody	AF222065	Norte América, Europa
I-D	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Patilowia witches broom	AY65206	Asia
I-E	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Blueberry stunt	AY265213	Norte América
I-F	<i>Ca. Phytoplasma asteris</i>	Apricot chlorotic leaf roll	AY265211	España
II-A		Peanut witches broom	L33765	
II-B	<i>Ca. Phytoplasma aurantifolia</i>	Lime	U15442	Península Arábiga
II-C		Cactus witches broom	AJ293216	Asia, África
II-D	<i>Ca. Phytoplasma</i>	Papaya yellow crinkle	Y10097	Australia
III-A	<i>Ca. Phytoplasma prumi</i>	Western Xdisease	L04682	Norte América
III-B		Clover yellow edge	AF189288	América, Asia, Europa
IV-A	<i>Ca. Phytoplasma palme</i>	Coconut lethal yellowing	AF498307	Florida, Caribe
IV-B	<i>Ca. Phytoplasma palme</i>	Phytoplasma sp.	AF500334	México
IV-D	<i>Ca. Phytoplasma palme</i>	Carludovica palmata leaf	AF237615	México
V-A	<i>Ca. Phytoplasma ulmi</i>	El yellows	AY197655	Norte América, Europa
V-B	<i>Ca. Phytoplasma ziziihi</i>	Jujube witches broom	AB052876	Asia
V-C	<i>Ca. Phytoplasma vitis</i>	Alder yellows	AY197642	Europa
V-G		Jujube witches broom	AB052879	Asia
VI-A	<i>Ca. Phytoplasma trifolii</i>	Clover proliferation	AY390261	Norte América, Asia
VII-A	<i>Ca. Phytoplasma fraxini</i>	Ash yellows	AF092209	Norte América
VIII-A	<i>Ca. Phytoplasma luffae</i>	Loofah witches broom	AF353090	Taiwán
IX-A		Pigeon-pea witches broom	AF248957	América
IX-D	<i>Ca. Phytoplasma phoenicium</i>	Almond witches broom	AF515636	Medio Oriente
X-A	<i>Ca. Phytoplasma maliu</i>	Apple proliferation	AJ542541	Europa
X-C	<i>Ca. Phytoplasma pyri</i>	Pear decline	AJ542543	Europa
X-D	<i>Ca. Phytoplasma spartii</i>	Spartium witches broom	X92869	Europa
X-F	<i>Ca. Phytoplasma prunorum</i>	European Stone fruit	AJ542544	Europa
XI-A	<i>Ca. Phytoplasma oryzae</i>	Rice yellows dwarf	AB052873	Asia, África, Europa

**Continuación Tabla 1**

Grupo 16Sr	Especies Candidatas	Tipo de cepa	Número de acceso del Banco de Genes	Distribución geográfica del grupo
XII-A	<i>Ca. Phytoplasma solani</i>	Stolbur	AJ964960	Europa
XII-B	<i>Ca. Phytoplasma australiense</i>	Australian grapevine yellows	L76865	Australasia
XII-C		Strawberry lethal yellows	AJ243045	Australia
XII-D	<i>Ca. Phytoplasma japonicum</i>	Japanese hydrangea phyllody	AB010425	Japón
XII-E	<i>Ca. Phytoplasma fragariac</i>	Strawberry yellows	DQ086423	Europa
XIII-A		Mexican periwinkle	AF248960	México, Florida
XIV-A	<i>Ca. Phytoplasma cynodontis</i>	Bermudagrass whittleleaf	AJ550984	Asia, África
XV-A	<i>Ca. Phytoplasma brasiliense</i>	Hibiscus witches broom	AF147708	Brasil
XVI-A	<i>Ca. Phytoplasma graminis</i>	Sugar cane yellows leaf	AY725228	Cuba
XVII-A	<i>Ca. Phytoplasma caricae</i>	Papaya bunchy top	AT725234	Cuba
XVIII-A	<i>Ca. Phytoplasma</i>	Potato purple top wilt	DQ174122	Norte América
XIX-A	<i>Ca. Phytoplasma castanae</i>	Chesnut witches broom	AB054986	Japón
XX-A	<i>Ca. Phytoplasma rhamni</i>	Buckthorn witches broom	X76431	Alemania
XXI-A	<i>Ca. Phytoplasma pini</i>	Pine shoor proliferation	AJ632155	España
XXII-A	<i>Ca. Phytoplasma cocosnigeriae</i>	Coconut lethal decline	Y14175	Oeste de África, Mozambique
XXIII-A		Buckland valley grapevine	AY083605	Australia
XXIV-A		Sorghum bunchy shoot	AF509322	Australia
XXV-A		Weeping tea witches broom	AF521672	Australia
XXVI-A		Sugar cane phytoplasma	AJ539179	Mauritania
XXVII-A		Sugar cane phytoplasma	AJ539180	Mauritania
XXVIII-A		Derbil phytoplasma	AT744945	Cuba
XXIX-A	<i>Ca. Phytoplasma allocasuarinae</i>	Allocasuarina mulleriana phytoplasma	AY135523	Australia
XXX-A	<i>Ca. Phytoplasma cocosnigeriae</i>	Tanzania lechal decline	X80117	Tanzania

## Técnicas para la detección de fitoplasmas

### a) Microscopía Electrónica

El establecimiento de técnicas basadas en microscopía electrónica (EM) ha representado un método alternativo para el procedimiento de diagnóstico tradicional para fitoplasmas. Se basó inicialmente en la transmisión del patógeno a plantas indicadoras sanas. Las observaciones por microscopía electrónica (Bertaccini y Marani, 1982) y con menor frecuencia microscopía electrónica de barrido (Haggis y Sinha, 1978) fueron las únicas técnicas de diagnóstico disponibles para fitoplasmas, hasta que protocolos como la tinción con tintes específicos de DNA tales como DAPI (4',6-diamino-2-fenilindol) fueron desarrollados (Seemüller, 1976) y perfeccionados para estos patógenos. Más tarde, fue la elaboración de técnicas para la producción de antígenos específicos enriquecidos para fitoplasmas, y su introducción de técnicas de detección basada en estudios serológicos para estos patógenos en plantas o vectores de insectos (Hobbs *et al.*, 1987).

### b) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

En la actualidad la técnica más versátil para la detección de fitoplasmas en la planta hospedera y en su vector, se basa principalmente en la reacción en cadena de la polimerasa anidada (PCRn) seguido de los análisis de polimorfismo de los fragmentos de

restricción de longitud (RFLPs) y electroforesis en gel. Estos métodos potencialmente pueden detectar y diferenciar todos los fitoplasmas incluyendo los no descritos. La sensibilidad de la detección precisa de estos microorganismos es un requisito previo para el manejo de las enfermedades asociadas a fitoplasmas.

El diagnóstico usando esta técnica se basa principalmente en secuencias específicas que tiene este grupo microbiano dentro del gene 16S rRNA (Lee *et al.*, 1993). Básicamente las secuencias del 16S rRNA y su análisis por RFLP son el fundamento del sistema taxonómico actual de los fitoplasmas.

Su detección es difícil debido a la distribución irregular y a la baja concentración presente en el tejido vegetal (Lee *et al.*, 2003; Lorenz *et al.*, 1995; Namba *et al.*, 1993). Debido a que no se ha logrado cultivar *in vitro* ninguna cepa de fitoplasmas se requiere el empleo de técnicas moleculares sensibles como lo son el inmunoensayo por dot blot, sondas moleculares e hibridación de DNA (Ahrens y Seemüller, 1992; Gundersen *et al.*, 1996a; Lee *et al.*, 1995).

El desarrollo de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (por sus siglas en inglés “Polymerase Chain Reaction”) ocurrió en

1985. Esta técnica sintetiza "*in vitro*" fragmentos específicos de DNA. Es una forma simple y muy rápida de multiplicar el DNA presente en diferentes muestras biológicas, obteniéndose millones de copias de una determinada secuencia de DNA. El inventor de esta interesante técnica fue Kary Mullis por la cual se le adjudicó el premio Nóbel de Química en 1993. Mullis se basó en la replicación del DNA en los organismos eucariotes realizada por la DNA polimerasa. Estas enzimas realizan la síntesis de una cadena complementaria de DNA en el sentido 5' a 3' usando un molde de cadena sencilla, pero a partir de una región de doble cadena. Para crear esta región de doble cadena se usan los denominados iniciadores, también llamados cebadores, oligonucleótidos o "*primers*" que son sintetizados en laboratorio de manera que sean complementarios a cada uno de los extremos 5' y 3' del fragmento de DNA que se desea amplificar (Sambrook *et al.*, 1989).

Esta técnica se basa en la repetición de un ciclo formado por tres etapas: 1) desnaturalización del DNA (90 a 95 °C); 2) alineamiento de los "*primers*" al DNA desnaturalizado (40 a 60 °C) y 3) extensión o polimerización (72°C) mediante la Taq polimerasa. Esta enzima incorpora nucleótidos en el extremo 3' del iniciador utilizando como molde la cadena de DNA previamente desnaturalizada. Estas tres etapas se repiten alrededor de 30 veces. Para la visualización del

fragmento del DNA amplificado es necesario teñirlo con bromuro de etidio y realizar una corrida electroforética del DNA amplificado.

Esta técnica posee la ventaja de ser versátil, de relativa simplicidad, con especificidad y alta sensibilidad; además, el patógeno no necesita ser purificado antes del análisis (Henson y French, 1993; Lorenz *et al.*, 1995). Con el conocimiento de la secuencia conservada del gen 16S rDNA en fitoplasmas (Kirkpatrick y Fraser, 1988; Lim y Sears, 1989) se logró el diseño de oligonucleótidos universales para amplificar este gen por PCR. El uso de “primers” universales permite amplificar secuencias comunes a todos los fitoplasmas; ejemplo de éstos se pueden mencionar a los primers R16F2/R16R2 y Fu5/rU3 (Lee *et al.*, 1998a; Lorenz *et al.*, 1995).

Igualmente se han diseñado “primers” universales que amplifican el gen 16S rDNA, la región intergénica y parte del gen 23S de fitoplasmas como los “primers” P1/P7 (Deng y Hiruki, 1991; Schneider *et al.*, 1995); y en este sentido, los “primers” P1/Tint inciden en todo el grupo filogenético de los fitoplasmas (Smart *et al.*, 1996), al igual que los “primers” R16F2n y R16R2 (Gundersen y Lee, 1996) para la reamplificación de la PCR anidada.

De la misma manera se han diseñado oligonucleótidos específicos que amplifican algunas regiones variables de determinados grupos de fitoplasmas; por ejemplo, los grupos del declinamiento del peral (PD, 16SrX-C) (Lorenz *et al.*, 1995), proliferación del manzano (AP, 16SrX-A) (Lee *et al.*, 1998b; Seemüller *et al.*, 1998), brote de hilo de la papa (HS, 16SrII), punta morada en papa (PT, 16SrI) (Leyva-López *et al.*, 2002), flavesencia dorada de la vid (FD, 16SrV-C) (Torres *et al.*, 2005) y recientemente para diferenciar a los subgrupos del grupo del amarillamiento del áster (AY) (Lee *et al.*, 2006).

La estrategia más utilizada para detectar fitoplasmas y que permite incrementar la sensibilidad de la técnica es una modificación al PCR tradicional, conocida como PCR anidado. Esta técnica consiste en realizar dos reacciones de PCR; en la primera reacción se emplea el DNA genómico total extraído de la planta enferma; en la segunda reacción se usa como molde el DNA producto de la primera reacción y utilizando oligonucleótidos diseñados en una región interna al fragmento amplificado en la primer reacción (Figura 2).



Figura 2. Procedimiento para identificación de fitoplasmas

La detección de los fitoplasmas se detectan mediante la amplificación del gen del ARNr 16S. Los oligonucleótidos utilizados para la PCR directa son:

P1 5'-AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATT-3

Tint 5'-TCAGGCGTGTGCTCTAACCAGC -3'

y para la PCR anidada son:

R16F2n 5'-GAAACGACTGCTAAGACTGG-3

'y 5'-R16R2 TGACGGGCGGTGTGTACAAACCCCG -3

La mezcla de reacción contiene: 2.5 µl de tampón de PCR (10X), 1,5 µl de MgCl<sub>2</sub> (50 mM), dNTP 2,5 µl (20 mM), 0,5 µl de cada uno de los oligonucleótidos (20 pM), 0,15 l de Taq polimerasa (5 U /µl), 2,5 µl de extracto de DNA (50 ng / µl) y H<sub>2</sub>O miliQ a 25 µl. En cuanto a la mezcla de reacción para la PCR anidada se utiliza 1 µl de la PCR directa y para un volumen final de 25 µl. La PCR se realiza usando un termociclador programable (Applied Biosystems) con 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 1 min (95 °C, 3 min para el primer ciclo), alineación a 56 °C durante 1 min y extensión a 72 °C durante 2 min (5 min para el ciclo final). Los productos de PCR obtenidos se reamplifican con 35 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 1 min (3 min para el primer ciclo), alineación a 55 °C durante 2 min y extensión a 72 °C durante 2 min, y

una etapa de extensión final de 72 °C durante 5 min. Los productos de PCR son separados por electroforesis en un gel de agarosa al 1% y se visualizan por tinción con bromuro de etidio e iluminación UV.

Esta técnica ha sido muy usada para la detección de fitoplasmas en papa (Leyva-López *et al.*, 2002), tomate (Jones *et al.*, 2005), maleza (Arocha *et al.*, 2005; Babaie *et al.*, 2007a; Marcone *et al.*, 2004) y plantas ornamentales (Babaie *et al.*, 2007b). Al respecto, (Gundersen y Lee, 1996) señalan que el PCR anidado disminuye el efecto de los inhibidores y aumenta el DNA específico, incrementando así la sensibilidad de la detección de fitoplasmas con títulos bajos en las plantas.

## Literatura Citada

- Ahrens, U. and Seemüller, E. 1992. Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasmalike organisms by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16 S rRNA gene. *Phytopathology* 82, 828-832.
- Ammar, E. and Hogenhout, S. 2006. Mollicutes associated with arthropods and plants, in: Miller, K.B.a.T.A. (Ed.), *Insect Symbiosis*, Volume 2. CRC Press, pp. 97-118.
- Arocha, Y.; Lopez, M.; Pinol, B.; Fernandez, M.; Picornell, B.; Almeida, R.; Palenzuela, I.; Wilson, M.R. and Jones, P. 2005. 'Candidatus *Phytoplasma graminis*' and 'Candidatus *Phytoplasma caricae*', two novel phytoplasmas associated with diseases of sugarcane, weeds and papaya in Cuba. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55, 2451-2463.
- Babaie, G., Khatabi, B., Bayat, H., Rastgou, M., Hosseini, A. and Salekdeh, G. 2007a. Detection and characterization of phytoplasmas infecting ornamental and weed

- plants in Iran. *Journal of phytopathology* 155, 368-372.
- Babaie, G., Khatabi, B., Bayat, H., Rastgou, M., Hosseini, A. and Salekdeh, G.H. 2007b. Detection and Characterization of Phytoplasmas Infecting Ornamental and Weed Plants in Iran. *Journal of Phytopathology* 155, 368-372.
- Beanland, L., Hoy, C., Miller, S. and Nault, L. 2000. Influence of aster yellows phytoplasma on the fitness of aster leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America* 93, 271-276.
- Bertaccini, A. and Marani, F. 1982. Electron microscopy of two viruses and mycoplasma-like organisms in lilies with deformed flowers. *Phytopathol Mediterran* 21, 18-14.
- Bertaccini, A., Botti, S., Martini, M. and Kaminska, M. 2000. Molecular evidence for mixed phytoplasma infection in lily plants, X International Symposium on Virus Diseases of Ornamental Plants 568, pp. 35-41.
- Bertaccini, A. 2007. Phytoplasmas: diversity, taxonomy, and epidemiology. *Frontiers in Bioscience* 12, 673-689.
- Cervantes-Díaz, L., Zavaleta-Mejía, E., Rojas-Martínez, R., Alanis-Martínez, I., Ochoa-Martínez, D. and Sánchez-García, P. 2004. First report of phytoplasma occurrence in *Alstroemeria* sp. plants in Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22, 134-139.
- Costanzo, S. 2012. New Pest Response Guidelines, in: R.E. Davis (Ed.), Selected 'Candidatus Phytoplasma spp.' of Apple, Grape and Peach The U.S. Department of Agriculture, pp. 1-210.
- Davis, R.E. and Sinclair, W.A. 1998. Phytoplasma identity and disease etiology. *Phytopathology* 88, 1372-1376.
- Deng, S. and Hiruki, C. 1991. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes. *Journal of Microbiological Methods* 14, 53-61.
- Doi, Y., Teranaka, M., Yora, K. and Asuyama, H. 1967. Mycoplasma-or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches' broom, aster yellows, or paulownia witches' broom. *Ann. Phytopathol. Soc. Jpn* 33, 259-266.

- Espinosa, D. y Alonso, J. 2013. Evaluación del comportamiento de injertos en rosas, de la variedad Freedom, realizadas con yemas ubicadas a diferentes alturas del tallo. Pedro Moncayo-Ecuador 2012.
- Gundersen, D. and Lee, I. 1996. Ultrasensitive detection of phytoplasmas by nested-PCR assays using two universal primer pairs. *Phytopathologia Mediterranea* 35, 144-151.
- Gundersen, D.E., Lee, I.M., Schaff, D.A., Harrison, N.A., Chang, C.J., Davis, R.E. and Kingsbury, D.T. 1996. Genomic diversity and differentiation among phytoplasma strains in 16S rRNA groups I (aster yellows and related phytoplasmas) and III (X-disease and related phytoplasmas). *International Journal of Systematic Bacteriology* 46, 64-75.
- Haggis, G. and Sinha, R. 1978. Scanning electron microscopy of mycoplasma-like organisms after freeze fracture of plant tissues affected with clover phyllody and aster yellows. *Phytopathology* 68, 677-680.
- Henson, J.M. and French, R.C. 1993. The polymerase chain reaction and plant disease diagnosis. *Papers in Plant Pathology*, 2.
- Hiruki, C. and Wang, K. 2004. Clover proliferation phytoplasma: 'Candidatus *Phytoplasma trifolii*'. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, 1349-1353.
- Hobbs, H., Rkddy, D. and Reddy, A. 1987. Detection of a mycoplasma-like organism in peanut plants with witches' broom using indirect enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Plant pathology* 36, 164-164.
- Hodgetts, J., Crossley, D. and Dickinson, M. 2012. Techniques for the Maintenance and Propagation of Phytoplasmas in Glasshouse Collections of *Catharanthus roseus*, in: Dickinson, M., Hodgetts, J. (Eds.), *Phytoplasma: Methods and Protocols*, Humana Press, pp. 15-32.
- Hogenhout, S.A., Oshima, K., Ammar, E.D., Kakizawa, S. and Namba, S. 2008. Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Molecular Plant Pathology* 9, 403-423.

- Jones, P., Arocha, Y., Antesana, O., Montellano, E. and Franco, P. 2005. 'Hoja de perejil' (parsley leaf) of tomato and morrenia little leaf, two new diseases associated with a phytoplasma in Bolivia. *Plant Pathology* 54, 235-235.
- Jung, H.Y., Sawayanagi, T., Kakizawa, S., Nishigawa, H., Miyata, S., Oshima, K., Ugaki, M., Lee, J.T., Hibi, T. and Namba, S. 2002. 'Candidatus Phytoplasma castaneae', a novel phytoplasma taxon associated with chestnut witches' broom disease. *International journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52, 1543-1549.
- Kirkpatrick, B.C., Fraser, J.D. 1988. Cloning and parcial sequence of 16S ribosomal RNA gene from the western X-disease micoplasma like organism. *Phytopathology* 1541.
- Lee, I.-M., Hammond, R., Davis, R., and Gundersen, D. 1993. Universal amplification and analysis of pathogen 16S rDNA for classification and identification of mycoplasma-like organisms. *Phytopathology* 83, 834-842.
- Lee, I., Bertaccini, A., Vibio, M. and Gundersen, D. 1995. Detection of multiple phytoplasmas in perennial fruit trees with decline symptoms in Italy. *Phytopathology* 85, 728-735.
- Lee, I.M., Gundersen-Rindal, D.E. and Bertaccini, A. 1998a. Phytoplasma: ecology and genomic diversity. *Phytopathology* 88, 1359-1366.
- Lee, M., Gundersen, D., Davis, R., Bartoszy, I., 1998b. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences. *International journal of Systematic Bacteriology* 48, 1153–1169.
- Lee, I.-M., Davis, R.E., and Gundersen-Rindal, D.E. 2000. Phytoplasma: Phytopathogenic Mollicutes. *Annual Reviews in Microbiology* 54, 221-255.
- Lee, I.-M., Martini, M., Bottner, K., Dane, R., Black, M. and Troxclair, N. 2003. Ecological implications from a molecular analysis of phytoplasmas involved in an aster yellows epidemic in various crops in Texas. *Phytopathology* 93, 1368-1377.
- Lee, I.M., Gundersen-Rindal, D.E., Davis, R.E., Bottner, K.D., Marcone, C. and Seemuller, E. 2004. 'Candidatus Phytoplasma asteris', a novel phytoplasma taxon associated with aster yellows and related diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, 1037-1048.

- Lee, I.M., Zhao, Y. and Bottner, K.D. 2006. SecY gene sequence analysis for finer differentiation of diverse strains in the aster yellows phytoplasma group. *Molecular and Cellular Probes* 20, 87-91.
- Leyva-López, N.E., Ochoa-Sánchez, J.C., Leal-Klevezas, D.S. and Martínez-Soriano, J.P. 2002. Multiple phytoplasmas associated with potato diseases in Mexico. *Canadian journal of microbiology* 48, 1062-1068.
- Lim, P.O. and Sears, B.B. 1989. 16S rRNA sequence indicates that plant pathogenic mycoplasma like organisms are evolutionary distinct from animal micoplasmas. *Journal of Bacteriology* 174, 260-261.
- Lorenz, K., Schneider, B., Ahrens, U. and Seemüller, E. 1995. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification of ribosomal and nonribosomal DNA. *Phytopathology* 85, 771-776.
- Marcone, C., Gibb, K.S., Streten, C. and Schneider, B. 2004. 'Candidatus Phytoplasma spartii', 'Candidatus Phytoplasma rhamni' and 'Candidatus Phytoplasma allocasuarinae', respectively associated with spartium witches'-broom, buckthorn witches'-broom and allocasuarina yellows diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, 1025-1029.
- Marcone, C., Neimark, H., Ragozzino, A., Lauer, U., Seemüller, E. 1999. Chromosome Sizes of Phytoplasmas Composing Major Phylogenetic Groups and Subgroups. *Bacteriology* 89, 805-810.
- McCoy, R., Caudwell, A., Chang, C., Chen, T., Chiykowski, L., Cousin, M., Dale, J., De Leeuw, G., Golino, D. and Hackett, K. 1989. *Plant diseases associated with mycoplasma-like organisms*. Academic Press.
- Montano, H.G., Davis, R.E., Dally, E.L., Hogenhout, S., Pimentel, J.P. and Brioso, P.S. 2001. 'Candidatus Phytoplasma brasiliense', a new phytoplasma taxon associated with hibiscus witches' broom disease. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51, 1109-1118.
- Murrall, D.J., Nault, L.R., C.W., H., Madden, L.V. and Miller, S.A. 1996. Effects of temperature and vector age on transmission of two Ohio strains of Aster Yellows phytoplasma by the aster leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). *Journal of Economic Entomology* 89, 1223-1232.

- Musetti, R. 2010. Biochemical Changes in Plants Infected by Phytoplasmas, in: Weintraub, P.G., Jones, P. (Eds.), *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors*. Wallingford, UK, pp. 132-146.
- Musetti, R., Favali, M. and Pressacco, L. 1999. Histopathology and polyphenol content in plants infected by phytoplasmas. *Cytobios* 102, 133-147.
- Namba, S., Oyaizu, H., Kato, S., Iwanami, S. and Tsuchizak, T. 1993. Phylogenetic Diversity of Phytopathogenic Mycoplasma-like Organisms. *Systematic Bacteriology* 43, 461-467.
- Nault, L. 1990. Evolution of an insect pest: maize and the corn leafhopper, a case study. *Maydica* 35, 165-175.
- Nault, L., 1997. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals of the Entomological Society of America* 90, 521-541.
- Nei, M. and Li, W.-H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76, 5269-5273.
- Nishigawa, H., Miyata, S.-i., Oshima, K., Sawayanagi, T., Komoto, A., Kuboyama, T., Matsuda, I., Tsuchizaki, T. and Namba, S. 2001. In planta expression of a protein encoded by the extrachromosomal DNA of a phytoplasma and related to geminivirus replication proteins. *Microbiology* 147, 507-513.
- Pribylová, J. and Špak, J. 2012. Dodder Transmission of Phytoplasmas, in: Dickinson, M., Hodgetts, J. (Eds.), *Phytoplasma: Methods and Protocols*. Humana Press, pp. 41-46.
- Purcell, A.H. 1982. Insect vector relationships with prokaryotic plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 20, 397-417.
- Razin, S. 1998. Molecular Biology and Pathogenicity of Mycoplasmas. *Microbiology and Molecular Biology* 62, 1094-1156 pp.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning*. Cold spring harbor laboratory press New York.

- Schneider, B., Seemüller, E., Smart, C.D. and Kirkpatrick, B.C. 1995. Phylogenetic classification of plant pathogenic mycoplasma-like organisms or phytoplasmas, in: Razin, S., Tully, J.G. (Eds.), *Molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasmaology*. Academic Press, New York. , pp. 369-380.
- Schneider, B., Torres, E., Martin, M.P., Schroder, M., Behnke, H.D. and Seemüller, E. 2005. 'Candidatus Phytoplasma pini', a novel taxon from *Pinus silvestris* and *Pinus halepensis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55, 303-307.
- Seemüller, E., 1976. Investigations to demonstrate mycoplasma-like organisms in diseased plants by fluorescence microscopy, X International Symposium on Fruit Tree Virus Diseases 67, pp. 109-112.
- Seemüller, E., Marcone, C., Lauer, U., Ragozzino, A. and Göschl, M. 1998. Current status of molecular classification of the phytoplasmas. *Plant Pathology* 80, 3-26.
- Seemüller, E. and Schneider, B. 2004. 'Candidatus Phytoplasma mali', 'Candidatus Phytoplasma pyri' and 'Candidatus Phytoplasma prunorum', the causal agents of apple proliferation, pear decline and European stone fruit yellows, respectively. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 54, 1217-1226.
- Seemüller, E., Schneider, B., Maurer, R., Ahrens, U., Daire, X., Kison, H., Lorenz, K., Firrao, G., Avineni, L., Sears, B.B. and Stackebrandt, E. 1994. Phylogenetic Classification of Phytopathogenic Mollicutes by Sequence Analysis of 16S Ribosomal DNA. *Systematic Bacteriology* 44, 440-446.
- Smart, C.D., Schneider, B., Blomquist, C.L., Guerra, L.J., Harrison, N.A., Ahrens, U., Lorenz, K.H., Seemüller, E. and Kirkpatrick B, C. 1996. Phytoplasma-Specific PCR Primers Based on Sequences of the 16S-23S rRNA Spacer Region. *Applied and Environmental Microbiology* 62, 2988–2993.
- Sugio, A., MacLean, A.M., Kingdom, H.N., Grieve, V.M., Manimekalai, R. and Hogenhout, S.A. 2011. Diverse targets of phytoplasma effectors: from plant development to defense against insects. *Annual Review of Phytopathology* 49, 175-195.

- Torres, E., Botti, S., Róala, J., Martín, M.P. and Bertaccini, A. 2005. Grapevine yellows diseases in Spain: eight year survey of disease spread and molecular characterization of phytoplasmas involved. *Anuales del Jardín Botánico de Madrid* 62, 127-133.
- Wang, K. and Hiruki, C. 2001. Molecular characterization and classification of phytoplasmas associated with canola yellows and a new phytoplasma strain associated with dandelions. *Plant Disease* 85, 76-79.
- Wei, W., Lee, I.M., Davis, R.E., Suo, X. and Zhao, Y. 2008. Automated RFLP pattern comparison and similarity coefficient calculation for rapid delineation of new and distinct phytoplasma 16Sr subgroup lineages. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 58, 2368-2377.
- Weintraub, P.G. and Beanland, L. 2006. Insect vectors of phytoplasmas. *Annual Review Entomology*. 51, 91-111.
- Weintraub, P.G. and Jones, P. 2010. *Phytoplasmas: Genomes, Plant Hosts and Vectors*. Wallingford, UK: CABI
- Whitcomb, R. and Tully, E. 1989. *The Mycoplasmas Vol. V*. San Diego: Academic Press, Inc.
- Yu, Y.L., Yeh, K.W. and Lin, C.P. 1998. An antigenic protein gene of a phytoplasma associated with sweet potato witches' broom. *Microbiology* 144, 1257-1262.

## **CAPITULO 5**

### **INSECTOS VECTORES DE VIRUS Y FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE CHILE EN MÉXICO**

Jaime Mena-Covarrubias<sup>1</sup>

#### **Introducción**

La sobrevivencia y dispersión de los propágulos reproductivos son de importancia primaria en la dispersión de una enfermedad. Las esporas de los hongos se dispersan comúnmente a través de las corrientes de aire, en tanto que las bacterias lo hacen en la salpicadura de las gotas de agua. Las prácticas agrícolas que se hacen de manera rutinaria, como el barbecho, pueden dispersar los patógenos del suelo. Los virus y fitoplasmas deben de tener uno o más medios de dispersión para moverse de una planta infectada a una sana si es que quieren persistir en la población de la planta hospedera y no estar en riesgo de extinguirse (Thresh, 1985), y este es un aspecto importante en la competencia epidemiológica de todos los patógenos. De ahí que la mayoría de los virus y todos los fitoplasmas tienen formas únicas de moverse de una planta a otra; ellos son transmitidos por vectores, que

---

<sup>1</sup> Programa de Entomología, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP.

son los organismos que transportan los patógenos a las plantas hospederas que pueden infectar.

Hay varios medios que pueden actuar como vectores de virus, entre los que destacan los insectos, el material vegetativo, la cuscuta, los ácaros, los nematodos, las semillas, el polen, y los hongos, mientras que para fitoplasmas solo los tres primeros pueden ser sus vectores (Ogle y Brown, 1997). Cuando los insectos son el vector que lleva a cabo la transmisión de virus y fitoplasmas, existe una relación muy específica entre ambos, y la dispersión del virus o fitoplasma depende en su totalidad, o al menos en una gran medida, de las actividades del insecto vector.

La estrategia para el manejo de las enfermedades causadas por virus y fitoplasmas se centra en el control del vector, debido a que se tienen opciones limitadas para contrarrestar las poblaciones de los virus y fitoplasmas una vez que se encuentran dentro de una planta infectada. Por lo tanto es de vital importancia conocer el papel que juegan los insectos como vectores en la epidemiología de los virus y fitoplasmas.

## **El proceso de transmisión de un virus**

La transmisión comienza cuando el vector obtiene el patógeno (virus o fitoplasma) de una planta infectada al alimentarse de ella (período de adquisición) y el proceso termina cuando el virus es colocado en una posición desde la cual puede re-infectar otra planta hospedera (período de inoculación). El vector puede ser capaz de transmitir el patógeno inmediatamente después de alimentarse o puede haber un tiempo de espera antes de que pueda ser transmitido. El período de tiempo después de que el vector ha adquirido el virus, pero no es capaz de transmitirlo, se le conoce como período latente (Nault, 1997).

Durante el período latente, el patógeno puede circular dentro del cuerpo del vector (transmisión circulativa), o no moverse del sitio donde está (transmisión no circulativa). Al mismo tiempo, el patógeno puede multiplicarse dentro del cuerpo del vector (transmisión propagativa) o no multiplicarse (transmisión no propagativa) (Andret-Link y Fuchs, 2005). Los patógenos que se reproducen tanto dentro de sus vectores como en sus plantas hospederas pueden ser considerados como parásitos de plantas y animales.

## **Modo de transmisión de los virus a través de sus insectos vectores**

Se han caracterizado tres diferentes modos de transmisión de virus en base al tiempo y sitio de retención y a la internalización de los virus: no persistentes, semi persistentes y persistentes. Los virus no persistentes son retenidos por sus vectores tan solo por minutos a unas cuantas horas, mientras que los semi persistentes son retenidos por días, semanas o incluso años. Los virus de estas dos categorías son adquiridos de plantas infectadas e inoculados a las plantas sanas en segundos o minutos, además de que no requieren de un período de latencia. A los virus no persistentes y semi persistentes colectivamente se les llama no circulativos no entran dentro de la cavidad del cuerpo del vector o cruzan alguna membrana celular (Gray y Banerjee, 1999). Los virus persistentes, una vez adquiridos de las plantas infectadas quedan asociados con el vector por el resto de su vida. Ellos requieren de períodos largos de adquisición (horas a días) y largos períodos de latencia (desde un día hasta varias semanas). Para que exista una transmisión exitosa de un virus persistente se requiere de la internalización de los virus ingeridos que son transportados activamente a través de varias membranas celulares y al final deben de

quedar asociados con las glándulas salivales del vector para que puedan ser transmitidos exitosamente. Este tipo de virus son conocidos como circulativos (Gray and Banerjee, 1999).

### **Tipos de virus más comunes que afectan el chile en México**

Hay varios agentes causales asociados al problema de virosis en el cultivo de chile en México, los cuales se pueden agrupar de acuerdo al tipo de virus involucrado en los siguientes grupos: curtovirus, fitoplasmas, begomovirus, *Candidatus liberibacter solanacearum*, tospovirus y virus de ARN. Por lo que respecta a los curtovirus, el más común es el virus de las puntas rizadas del betabel (BCTV), tanto en su variante de cepa moderada (BMCTV) (Velásquez *et al.*, 2008), como en la de cepa severa (BSCTV), y últimamente se ha encontrado una variante más de este virus para los chiles que se cultivan para secado en Zacatecas y que se denomina BMCTV-(MX:ZACA:P24:07), la cual podría incluso ser considerada como una especie nueva de curtovirus (Chen *et al.*, 2011).

También existen varios reportes sobre la presencia de: fitoplasmas asociados el cultivo de chile, tanto en Zacatecas, como

Guanajuato, Baja California, Aguascalientes y Sinaloa (Garzón, 2012, Lebsky y Poghosyan, 2007, Santos-Cervantes *et al.*, 2008, Velásquez-Valle *et al.*, 2013b). Uno de los fitoplasmas reportados es *Candidatus Phytoplasma asteris* dentro del grupo 16Srl (grupo de los amarillos del áster), el cual identificó de plantas de Chile que presentaban proliferación de brotes (escoba de bruja) y hoja pequeña (Santos-Cervantes *et al.*, 2008).

Otro agente causal reportado recientemente es *Candidatus Liberibacter solanacearum* el cual a pesar de haberse descubierto hace apenas seis años (Liefting *et al.*, 2008) está presente en muchas de las zonas productoras de Chile en el mundo ocasionando daños de importancia económica; en México se ha demostrado su importancia como causante del variegado del Chile (Camacho-Tapia *et al.*, 2011), y en 2014 fue la causa principal de las pérdidas de Chile en la zona productora del altiplano de Durango.

Existe otro grupo de agentes causales reportado para los Chiles y que son los begomovirus, entre los que destacan el virus huasteco de la vena amarilla del Chile, el virus del mosaico dorado del Chile, y el

rizado amarillo del Chile (Fraire, 2010; Fraire-Velázquez *et al.*, 2011, Holguín-Peña *et al.*, 2004, Reveles-Torres *et al.*, 2012, Torres-Pacheco *et al.*, 1996), los cuales en su gran mayoría están más asociados a zonas tropicales y semi tropicales de México donde se cultiva el Chile.

Por lo que respecta al grupo de los tospovirus, se tiene identificada la presencia en México del virus de la marchitez manchada del tomate en los estados de Aguascalientes, Sinaloa, Morelos, Michoacán, Zacatecas y la Región Lagunera, y su impacto en la producción de Chiles debido a la presencia de las manchas concéntricas de diferentes colores sobre los frutos en proceso de maduración ocasiona que un fruto de primera calidad quede degradado en su valor comercial al momento de la cosecha (Velásquez-Valle *et al.*, 2013b).

Finalmente, se tienen los virus de ARN o virus de estilete, donde el virus del mosaico del pepino, mosaico del tabaco, jaspeado del tabaco, moteado del Chile y mosaico de la alfalfa son los más comúnmente reportados para plantas de Chile (Fraire, 2010; Fraire-Velázquez *et al.*, 2011, Tun-Suarez *et al.*, 2007, Velásquez-Valle *et al.*, 2013a y 2013b), donde algunos de los cuales pueden infectar la semilla del Chile (Kobayashi, 2009, Tun-Suarez *et al.*, 2007) o las plántulas

cuando estas aún están creciendo en el almacigo (Velásquez-Valle *et al.*, 2013a).

## **Las especies de insectos vectores que transmiten virus y fitoplasmas en Chile**

### **1. Las chicharritas (Familia Cicadellidae)**

El único vector reportado para el curtovirus BCTV y sus variantes es la chicharrita del betabel, *Neoliturus (Circulifer) tenellus* (DeLong, 1971). Este insecto tiene tres fases de desarrollo: huevo, ninfa y adulto; el huevo y la ninfa requieren de uno a dos meses para completar su desarrollo, en tanto que los adultos viven de 40 a 90 días y en invierno de cuatro a cinco meses; los adultos de esta especie de chicharrita tienen tres formas: la de verano (tres a cuatro meses), la de invierno (constituida por las hembras invernantes) y la migratoria (las cuales vuelan en promedio 160 km) (Cook, 1967). El ciclo de huevo a adulto se completa en 361.1 unidades calor con temperatura mínima umbral de 14.4°C y máxima umbral de 35°C (Harries y Douglass, 1948)

Para transmitir un curtovirus (BCTV) eficientemente, *C. tenellus* requiere de un período de adquisición de 48 horas de alimentación

sobre una planta infectada, aunque períodos de alimentación más cortos resultan en frecuencias bajas de transmisión; el período de latencia es de tan solo cuatro horas después de la alimentación, y las chicharritas pueden inocular plantas sanas al alimentarse de períodos tan cortos como un minuto; este insecto puede retener la habilidad de transmitir BCTV por días a semanas y quizá por el resto de su vida (Bennett, 1971).

En la zona del altiplano zacatecano, es común encontrar los siguientes géneros de chicharritas volando sobre los cultivos de chile para secado: Los géneros *Neoliturus* (*Circulifer*), *Aceratagallia*, *Dalbulus*, *Macrosteles*, *Ollarianus* y *Graminella*, se colectaron en las trampas amarillas pegajosas, donde *Neoliturus* fue el más común y *Macrosteles* el más escaso de coleccionar (Mena-Covarrubias *et al.*, 2014). Las chicharritas están presentes todo el año y son tan comunes en el cultivo de chile, como en la maleza. Para identificar a especie esta chicharrita se necesita observar el aedeago del macho, ya que hay varias chicharritas de color y tamaño similar a esta especie. Se desarrolló una tecnología explícitamente para identificar correctamente, y poder diferenciar de otras especies, a la chicharrita

del betabel. Esta tecnología consiste en disectar y clarificar el aedeago del macho, para lo cual se cortan sus últimos dos a tres segmentos abdominales, los cuales se colocan en 30 a 40 ml de una solución de KOH al 10%, que se calienta a 300°C por 35 a 40 minutos; hay que agitar constantemente la solución y evitar que hierva; finalmente se lava con agua destilada y se observa al microscopio. El aedeago de *C. tenellus* es simétrico, con un eje grueso y afilado, en el ápice del cual hay un par de procesos curvos y delgados, los cuales descansan en un plano horizontal y juntos forman un círculo casi completo en vista dorsal. Se hizo una mejora a este procedimiento por medio de un alfiler que se usa para presionar ventralmente el abdomen de insectos (machos) recién muertos; el alfiler se va recorriendo hacia la punta del abdomen, y en el lapso de 1 a 2 minutos se logra que el aedeago salga al exterior del cuerpo de la chicharrita, debido a la presión de los líquidos movidos con el alfiler Mena y Velásquez (2009); en la Figura 1 se muestra un adulto y el detalle del aedeago del macho clarificado y cuando es expuesto del abdomen del mismo con la técnica del alfiler antes descrita.



**Figura 1.** Identificación de un macho adulto de la chicharrita del betabel, *Neoliturus (Circulifer) tenellus*.

Desde hace cuatro años se han estado muestreando de manera intensiva lotes de chile en Zacatecas, y hasta el momento no se ha encontrado una sola ninfa de chicharrita, lo que podría indicar que este cultivo solo sirve como hospedera de alimentación, pero no para

reproducción (Mena-Covarrubias *et al.*, 2014), lo cual es similar a lo reportado para el cultivo de frijol y tomate donde el 95 y 65% de las chicharritas murieron en el transcurso de una semana y no hubo reproducción en las mismas (Munyanza y Upton, 2005).

Hay varias especies de maleza de invierno donde es común encontrar a la chicharrita del betabel, las cuales además de ser aprovechadas como fuentes de alimentación, también sirven como sitios de reproducción, y son las siguientes: gualdrilla (*Reseda luteola* L.), mostacilla silvestre (F. Cruciferae), saramao (*Eruca sativa* L.), alfilerillo (*Erodium spp*), nabillo (*Sisimbrio irio* L.), entre otras. Durante el verano, el rodamundos (*Salsola spp*), algunas especies de chamizo (*Atriplex spp*) y de quelite cenizo (*Chenopodium spp*) son las principales hospederas donde la chicharrita del betabel se alimenta y reproduce (Mena-Covarrubias *et al.*, 2014). Es importante señalar que en la mayoría de las especies de maleza antes mencionadas se ha encontrado también el BCTV en alguna de sus variantes (Velásquez-Valle *et al.*, 2013a). Por lo tanto, la maleza es la parte central en el mantenimiento de sus poblaciones a través del tiempo, ya que ésta ha estado presente desde hace miles de años, y las chicharritas han

hecho las adaptaciones necesarias para alimentarse y reproducirse en ella a través del año (Mena-Covarrubias *et al.*, 2014), por otra parte, el cultivo de chile solo es una planta más que ha estado disponible para estos insectos en los últimos 80 a 100 años, que es cuando el chile se empezó a cultivar como parte de la agricultura de riego en la región del altiplano mexicano.

Por otra parte, la chicharrita del betabel también es vector de fitoplasmas, de hecho la mayor parte de los fitoplasmas son transmitidos por chicharritas, y es común encontrar plantas de chile infectadas tanto con BCTV como el fitoplasma de yema grande por ejemplo (Randall *et al.*, 2011).

Por lo que respecta al potencial de algunas especies de chicharritas como posibles vectores de fitoplasmas, se detectó que los géneros *Graminella* y *Dalbulus* son portadoras de dichos fitoplasmas, faltaría confirmar si son infectivos para el cultivo de chile (Mena-Covarrubias *et al.*, 2014), aunque para el caso de *Spiroplasma citri*, donde solo la chicharrita del betabel fue capaz de transmitirlo, otras especies de chicharritas como *Aceratagallia curvata* Oman, *Graminella*

*sonora* (Ball), *Ollarianus strictus* Ball y *Colladonus montanus* Van Duzee fueron capaces de retenerlo internamente por al menos 2 semanas pero ninguna de ellas fue capaz de transmitirlo (Oldfield *et al.*, 1984).

Al conjugar la información de maleza infestada con virus y fitoplasmas con la de las chicharritas portadoras de estos mismos fitopatógenos, es claro que la maleza presente dentro del agroecosistema donde se desarrolla el cultivo de chile, tanto en áreas cultivadas como no cultivadas, es parte central en la problemática y en la solución de los amarillamientos del cultivo, lo cual ya ha sido propuesto para el caso específico de las variantes del virus BCTV en otras partes del mundo (Wintermantel *et. al.*, 2003).

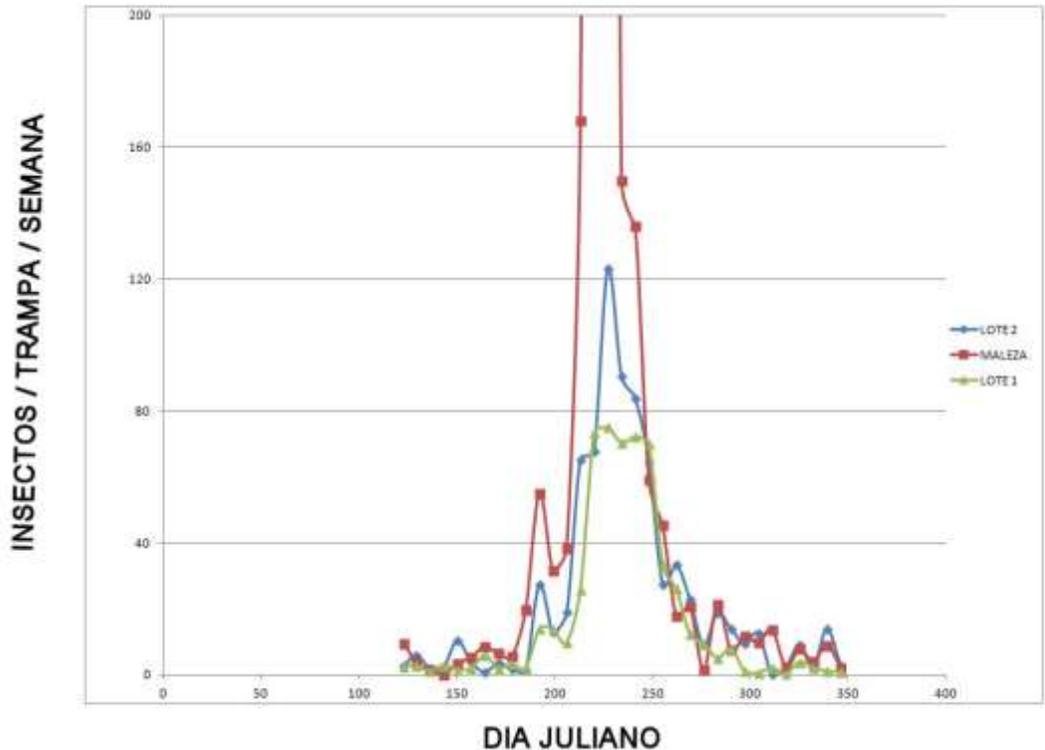
## **2. La paratrioza del chile (Familia Triozidae)**

A *Bactericera cockerelli* se le conoce comúnmente como pulgón saltador, salerillo, psilido del tomate o simplemente paratrioza, y es el insecto vector que transmite a *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso) en los cultivos de chile, tomate y papa. En la zona chilera del altiplano zacatecano se han encontrado al menos 20 especies de

*Bactericera*, aunque más del 98% de las capturas en lotes de chile corresponden a la especie de *B. cockerelli*. Es un insecto que se presenta año con año, y se considera una de las especies de vectores más abundantes en el cultivo de chile para secado en Zacatecas, de hecho el chile es una de las hospederas preferidas de la paratrioza y se estima que una hectárea de chile o tomatillo puede generar una población de adultos de paratrioza para infestar en su totalidad de 100 a 150 hectáreas de tomate o papa; sus poblaciones son comunes tanto en las áreas cultivadas como en los lotes con maleza (Figura 2).

Las especies de maleza sobre las que se alimenta son plantas de la familia Solanaceae tales como la hierba mora, *Solanum nigrum* L., el toloache, *Datura stramonium* L., la mala mujer o duraznillo, *S. rostratum* Dunal y el trompillo o buena mujer, *S. elaeagnifolium* Cav., algunas de las cuales también son hospederas de Lso, aunque la hospedera de la cual obtiene el inoculo para infestar las plantas cultivadas al inicio del ciclo aún es motivo de especulación (Lin y Gudmestad, 2013). Una de las cualidades propias que tiene la paratrioza del chile en la transmisión de Lso es que hay transmisión vertical, es decir, las hembras adultas transmiten la enfermedad a los

huevos que ponen (Lin y Gudmestad, 2013), además de que las paratriozas infestadas con Lso pagan el costo del mismo al tener menor fecundidad (Nachappa *et al.*, 2012).



**Figura 2.** Poblaciones de la paratrioza del Chile, *Bactericera cockerelli* en dos lotes de Chile mirasol y una parcela de maleza (gualdrilla, *Reseda luteola* principalmente) en Calera, Zacatecas durante el año 2011.

### 3. Las mosquitas blancas (Familia Aleyrodidae)

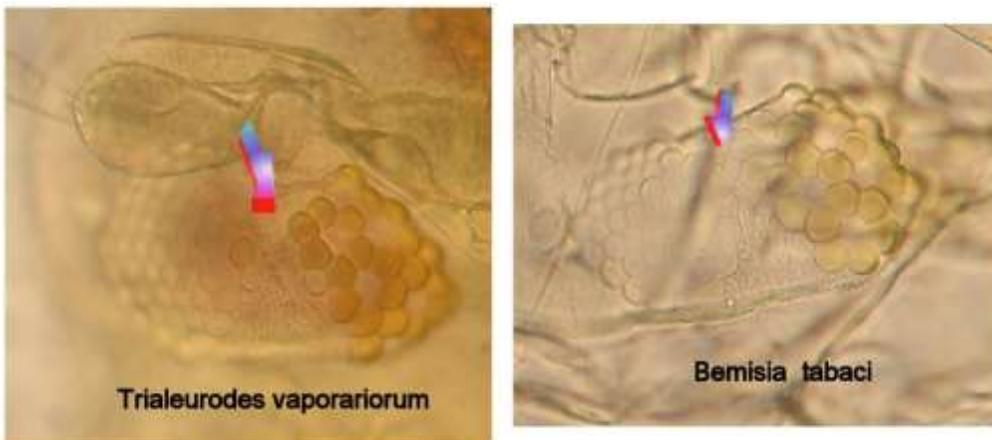
La mosquita blanca del camote, *B. tabaci* Sulc. fue descrita por primera vez hace mas de 100 años y desde entonces se ha convertido en una de las especies plaga más devastadoras de las zonas agrícolas de las regiones tropicales y subtropicales del mundo, donde se reporta en más de 600 plantas hospederas. *B. tabaci* es vector de 111 especies de virus en los géneros *Begomovirus* (Geminiviridae), *Crinivirus* (Closteroviridae), *Carlavirus* e *Ipomovirus* (Potyviridae). Existen más de 20 biotipos de esta especie de mosquita blanca, con dos de los más dañinos, los biotipos B y Q, presentes en el continente americano; desde que se introdujo el biotipo B, nuevas especies de begomovirus comenzaron a aparecer en esta parte del mundo.

La mosquita blanca del camote, *B. tabaci* es el vector principal de los dos begomovirus (virus del mosaico dorado del chile y el virus huasteco de la vena amarilla del chile) encontrados en los chiles para secado en el altiplano mexicano. Sin embargo, hasta el momento no se ha capturado un solo adulto de esta especie de mosquita blanca en la zona de producción de chile para secado, aunque si es común encontrarla en la zona más cálida del país. En contraparte, la mosquita

blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood es la que se encuentra en la zona chilera del altiplano mexicano, aunque esta especie de mosquita blanca no puede transmitir begomovirus (Czosnek *et al.*, 2002), pero si puede transmitir crinivirus (Navas-Castillo *et al.*, 2012), aunque estos no se han reportado en las plantas de Chile en esta región. Por lo tanto, está por demostrarse donde se encuentran o como emigran las mosquitas blancas (*B. tabaci*) que transmiten begomovirus a los chiles que se cultivan en el altiplano mexicano.

En base a lo anterior es claro que es de vital importancia poder separar estas dos especies de mosquita blanca, especialmente en la fase de adulto, que es como migran ambas, además de ser las que transmiten los virus a las plantas. Para separar ambas especies solo se necesita aclarar la cabeza de un adulto de mosquita blanca siguiendo el procedimiento mencionado en las páginas anteriores para la chicharrita del betabel. Cada ojo de una mosquita blanca tiene dos grupos de omatidios, los cuales pueden o no estar unidos; para el caso de la mosquita blanca de los invernaderos (*T. vaporariorum*), ambos grupos de omatidios están separados, mientras que para la mosquita

blanca del camote (*B. tabaci*) existe una omatidio que une a los dos grupos (Figura 3).



**Figura 3.** Comparación entre uno de los ojos de la mosquita blanca de los invernaderos, *Trialeurodes vaporariorum* (lado izquierdo) y uno de los ojos de la mosquita blanca del camote, *Bemisia tabaci* (lado derecho).

#### **4. Los pulgones (Familia Aphididae)**

El pulgón verde del Chile, *Myzus persicae* Sulc. es la especie principal que coloniza las plantas de Chile en el altiplano zacatecano. Este pulgón es el responsable de la transmisión del virus del mosaico del pepino (CMV) a los chiles para secado en esta región; está presente durante todo el ciclo de cultivo, y se mueve constantemente tanto en las zonas cultivadas como las áreas donde existe maleza. El pulgón del algodón, *Aphis gossypii* Glover es otra especie

comúnmente reportada como vector de virus en Chile. Una de los aspectos importantes de las infecciones por CMV es que se puede transmitir por semilla (Kobayashi, 2009), al igual que es el caso para Lso (Camacho-Tapia *et al.*, 2011).

El pulgón verde del Chile, *M. persicae* se puede identificar fácilmente, tanto las formas aladas como las ápteras, ya que solo se tienen que buscar las protuberancias que se encuentran en la base de las antenas, las cuales son características de esta especie (Figura 4).



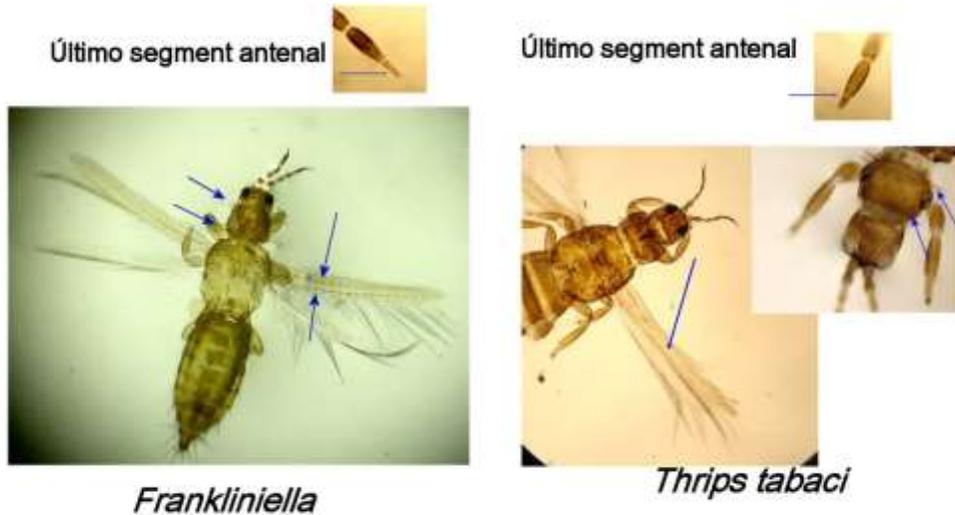
**Figura 4.** Identificación del pulgón verde del Chile, *Myzus persicae* en base a la protuberancia en la base de las antenas.

## 5. Los trips (Familia Thripidae)

El trips de las flores, *Frankliniella occidentalis* Pergande es el principal vector del virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV) en el cultivo del chile. El problema del virus TSWV es que durante los últimos años esta enfermedad ha incrementado su importancia en el mundo hasta convertirse en uno de los problemas más importantes, ya que sus pérdidas alcanzan los \$1000,000,000.00 de dólares cada año. Los trips adultos son los únicos que pueden dispersar el virus y solo pueden adquirirlo si en su fase de larva se alimentaron de una planta infectada con el virus. La fase larvaria del trips requiere un período mínimo de adquisición de 15 a 30 minutos, y debe pasar un período de latencia de 84 a 171 horas si la temperatura es de 20 o 27°C, respectivamente; los trips adultos pueden retener el virus de por vida, pero los transmiten irregularmente (Wijkamp and Peters, 1993).

Para separar al género *Frankliniella* de *Thrips tabaci* Lind., el primero tiene un par de setas tanto en la parte anterior como posterior del pronoto, el último segmento antenal está dividido en dos, y en el interior de sus alas se tiene dos hileras de setas que corren paralelas y de manera continua (Figura 5), mientras que *T. tabaci* solo tiene el par

de setas en la parte posterior del pronoto, su último segmento abdominal no está dividido, y en el interior de sus alas, las dos hileras de setas corren de manera discontinua (Figura 5).



**Figura 5.** Comparación entre el trips de las flores, *Frankliniella occidentalis* (lado izquierdo) y el trips de la cebolla, *Thrips tabaci* (lado derecho).

### Literatura Citada

Andret-Link, P. and Fuchs, M. 2005. Transmission specificity of plant viruses by vectors. *Journal of Plant Pathology* 87:153-165.

Bennett, C. W. 1971. The curly top disease of sugarbeet and other plants. *The American Phytopathol. Soc. Monogr. No.7.* 81p.

- Camacho-Tapia, M., Rojas-Martinez, R.I.; Zavaleta-Meija, E.; Hernandez-Deheza, M.G.; Carrillo-Salazar, J.A.; Rebollar-Alviter J.A. y Ochoa-Martínez, D.L. 2011. Aetiology of chili pepper variegation from Yurecuaro Mexico. *Journal of Plant Pathology* 93: 331-335
- Chen, L.F.; Vivoda, E. and Gilbertson, R.L. 2011. Genetic diversity in curtoviruses: a highly divergent strain of *Beet mild curly top virus* associated with an outbreak of curly top disease in pepper in Mexico. *Archives of Virology* 156:547-555.
- Cook, W. 1967. Life history, host plants, and migrations of the beet leafhopper in the western United States. *USDA Technical Bulletin* 1365. 122 p.
- Czosnek, H.; Ghanim, M. and Ghanim, M. 2002. The circulative pathway of begomoviruses in the whitefly vector *Bemisia tabaci* – insights from studies with Tomato yellow leaf curl virus. *Ann. App. Biol.* 140: 215–231.
- DeLong, D. M. 1971. The bionomics of leafhoppers. *Annu. Rev. Entomol.* 16: 179-210.
- Fraire, V.S. 2010. Agentes virales en enfermedades emergentes en el cultivo de chile en Zacatecas. Unidad Académica de Biología Experimental, Universidad Autónoma de Zacatecas, zacatecas, México. Folleto para Productores Agrícolas. 6 p.
- Fraire-Velázquez, S.; Recendez-Alvarado, M.; Carrillo-Tripp, J.; Rivera-Bustamante, R. and Alvarado-Rodríguez, M. 2011. Geminiviral (PHYVV and PepGMV) and cucumoviral (CMV) co-infection in chili pepper fields: The AC1 gene in PepGMV with a mutation with aminoacid change. *Phytopathology* 101:S54.
- Garzón, T.J.A. 2012. Virus que afectan el cultivo del chile en el sur de Sinaloa. *Revista Horticultivos*
- Gray, S.M. and Banerjee, N. 1999. Mechanisms of arthropod transmission of plant and animal viruses. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63: 128-148.
- Harries, F.H. and Douglass, J.R. 1948. Bionomic studies on the beet leafhopper. *Ecological Monographs* 18: 47-79

- Holguín-Peña, R.J.; Vázquez-Juárez, R. y Rivera-Bustamante, R.F. 2004. Rango de hospedantes, incidencia y filogenia del virus del mosaico dorado del Chile (PepGMV) en Baja California Sur, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:206-215.
- Kobayashi, M.A.A. 2009. Seed transmission of Cucumber mosaic virus in pepper. *Journal of Virology Methods* 163: 234-237.
- Lebsky, V. and Poghosyan, A. 2007. Phytoplasma associated diseases in tomato and pepper in the state of BCS, Mexico: a brief overview. *Bulletin of Insectology*, 60:131.
- Liefting, L.W.; Perez-Egusquiza, Z.C.; Clover, G.R.G. and Anderson, J.A.D. 2008. A new '*Candidatus Liberibacter*' species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Dis.* 92:1474.
- Lin, H., and Gudmestad, N.C. 2013. Aspects of pathogen genomics, diversity, epidemiology, vector dynamics, and disease management for a newly emerged disease of potato: Zebra chip. *Phytopathology* 103:524-537.
- Mena, C.J. y Velásquez, R. 2009. Identificación del vector del virus del amarillamiento de las puntas rizadas del betabel que causa amarillamientos en Chile. Reporte anual 2008 – Ciencia y tecnología para enfrentar la crisis alimentaria. Publicación especial # 2. Inifap, México. 131 p.
- Mena-Covarrubias, J.; Velásquez-Valle R. y Reveles-Torres, L.R. 2014. Bio-ecología y manejo de chicharritas (Homoptera: Cicadellidae) que son vectores de virus y fitoplasmas en Chile. 11ª Convención mundial del Chile, Morelia, Mich., del 2 al 4 de octubre del 2014. 248-255 pp.
- Munyaneza, J. E. and Upton, J. E. 2005. Beet leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) settling behavior, survival, and reproduction on selected host plants. *Journal of Economic Entomology*, 98, 6:1824-1830.

- Nachappa, P.; Shapiro, A.A. and Tamborindoguy, C. 2012. Effect of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' on fitness of its insect vector *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Trioziidae), on tomato. *Phytopathology* 102:41-46.
- Navas-Castillo, J.; Fiallo-Olivé, E. and Sánchez-Campos S. 2012. Emerging virus diseases transmitted by whiteflies. *Ann. Rev. Phytopathol.* 49: 219–248.
- Nault, LR. 1997. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. *Annals of Entomological Society of America* 90: 521-541.
- Oldfield, G.N.; Sullivan, D.A. and Calavan, E.C. 1984. Inoculativity of leafhopper vectors of stubborn disease in California, Proc. 9th Conf. IOCV. IOCV, Riverside, CA. 125-130 pp.
- Ogle, H.J. and Brown, J.F. 1997. Vector-borne inoculum. *In* JF Brown and HJ Ogle (eds.). *Plant pathogens and plant diseases*. Rockvale Publications, Armidale, Australia. 231-244 pp.
- Randall, J.J.; Bosland, P.W. and Hanson, S.F. 2011. Brote Grande, A New Phytoplasma Associated Disease of Chile Peppers in the Desert Southwest. Online. *Plant Health Progress* doi:10.1094/PHP-2011-0301-01-RS.
- Reveles-Torres, L.R. Velásquez-Valle, R.; Mauricio-Castillo, J.A. y Salas-Muñoz, S. 2012. Detección de infecciones mixtas causadas por begomovirus y curtovirus en plantas de Chile para secado en San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 30: 155-160.
- Santos-Cervantes, M.E.; Chávez-Medina, J.A.; Méndez-Lozano, J. and Leyva-López, N.E. 2008. Detection and molecular characterization of two little leaf phytoplasma strains associated with pepper and tomato diseases in Guanajuato and Sinaloa, Mexico. *Plant Disease* 92:1007-1011.
- Thresh, J.M. 1985. Plant virus dispersal. *In* DR MacKenzie, CS Barfield, GS Kennedy, and RD Berger (eds.). *The movement and dispersal of agriculturally important biotic agents*. Claitors Publishing, Baton Rouge, Louisiana. 51-106 pp.

- Torres-Pacheco, I.; Garzón-Tiznado, J.A.; Brown, J.K. Becerra, F.A. and Rivera-Bustamante, R.F. 1996. Detection and distribution of geminiviruses in México and the Southern United States. *Phytopathology* 86:1186-1192.
- Tun-Suarez, J.M.; Zavaleta-Mejía, E.; Ochoa-Martínez, D.L.; Sánchez-García, P.; Soto-Hernández, M. y Cristóbal-Alejo, J. 2007. Incidencia del virus mosaico de la alfalfa en semillas y plántulas de Chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Fitosanidad* 11: 11-14
- Velásquez-Valle, R.; Medina-Aguilar, M.M. and Creamer, R. 2008. First report of *Beet mild curly top virus* infection of Chile pepper in North-Central Mexico. *Plant Disease* 92:650.
- Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L.R. y Reveles-Hernández, M. 2013a. Presencia de virus no persistentes en almácigos de Chile y maleza invernal en Zacatecas, México. *Memorias. 10<sup>A</sup> Convención Mundial del Chile*. 104 – 109 pp.
- Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L.R.; Chew-Madinaveitia, Y.I. y Mauricio-Castillo, J.A. 2013b. Virus y fitoplasmas asociados con el cultivo de Chile para secado en el norte centro de México. Folleto Técnico. Núm 49. Campo Experimental Zacatecas. CIRNOC – INIFAP, 54 p.
- Wijkamp, I. and Peters, D. 1993. Determination of the median latent period of two tospoviruses in *Frankliniella occidentalis*, using a novel leaf disk assay. *Phytopathology* 83: 986-991
- Wintermantel, W.H.; Mosqueda, N.F.; Cortez, A.A. y Anchieta, A.G. 2003. Beet curly top virus revisited: factors contributing to re-emergence in California. 1<sup>st</sup> joint IIRB-ASSBT Congress, 26<sup>th</sup> Feb 1<sup>st</sup> March, San Antonio, TX (USA). 295-302 pp.

## **CAPITULO 6**

### **LOS VIRUS EN EL CULTIVO DE CHILE EN LA COMARCA LAGUNERA**

Yasmin Ileana Chew Madinaveitia<sup>1</sup>

#### **Introducción**

En la Comarca Lagunera, localizada en los estados de Coahuila y Durango, el cultivo de chile es la cuarta hortaliza de importancia en cuanto a superficie de siembra, la cual varía año con año. La mayor superficie establecida con este cultivo es para consumo en fresco, pero en algunas áreas es para secado.

Entre los problemas fitosanitarios que se han detectado en este cultivo se encuentran las enfermedades de origen viral, que han ocasionado pérdidas en rendimiento y disminución de las áreas de producción. El incremento de estas enfermedades y su diseminación se ha asociado a que no existe un control de la sanidad de la semilla y de las plántulas. Debido al alto costo de semilla de variedades o híbridos comerciales, y a la falta de variedades nacionales, los productores principalmente del sector social, utilizan semilla de segunda o tercera

---

<sup>1</sup> Programa de Sanidad Forestal y Vegetal - Campo Experimental La Laguna – INIFAP

generación, incrementando los riesgos de transmisión de enfermedades, entre las que se encuentran las de origen viral. Otro factor importante, es un manejo deficiente de los insectos vectores de virus.

### **Incidencia y severidad**

En la Comarca Lagunera, se han detectado sintomatología asociada con infecciones virales como mosaicos, entrenudos cortos, plantas con poco desarrollo, deformación del follaje y frutos, aborto de flores y necrosis en los diferentes tipos de Chile que se cultivan (Figura 1).

La incidencia y severidad de virosis en los municipios de la región es muy variable, dependiendo de las condiciones de clima, población de insectos vectores, maleza y cultivos presentes. En el Cuadro 1, se presentan valores promedio de éstas variables; aunque en algunas huertas se han registrado incidencias del 100% y daños considerables en follaje y fruto, resultando en una reducción en el rendimiento y en la calidad del producto.



**Figura 1.** Síntomas asociados a enfermedades virales en follaje y frutos en el cultivo de chile en la Comarca Lagunera.

**Cuadro 1.** Promedio de incidencia y severidad de sintomatología asociada con enfermedades virales en el cultivo de chile en municipios de la Comarca Lagunera.

MUNICIPIO	TIPO DE CHILE	INCIDENCIA (%)	SEVERIDAD†
Matamoros, Coah	Serrano	79.5	1.9
San Pedro, Coah	Chilaca	10.0	0.5
Tlahualilo, Dgo.	Jalapeño	1.0	0.5
Lerdo, Dgo.	Jalapeño	60.2	1.0
Lerdo, Dgo.	Chilaca	13.0	0.5
Nazas, Dgo.	Puya	92.5	1.1
Nazas, Dgo.	Ancho	98.0	1.1

† 0=planta sana; 1=1-25% del follaje dañado; 2=26-50% del follaje dañado; 3=51-75% del follaje dañado; 4=76-100% del follaje dañado.

### **Virus asociados al cultivo de chile**

En la Comarca Lagunera, de plantas con sintomatología característica de infección por virus, se han identificado por serología (DAS-ELISA-Inmunoensayo con enzimas conjugadas) los siguientes virus: virus mosaico del pepino (CMV: *Cucumber mosaic virus*), virus jaspeado del tabaco (TEV: *tobacco etch virus*), virus moteado del chile (PepMoV: *Pepper mottle virus*), virus mosaico de la alfalfa (AMV: *Alfalfa*

*mosaic virus*), virus mosaico del tabaco (TMV: *Tobacco mosaic virus*), y virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV: *Tomato spotted wilt virus*) (Cuadro 2).

Estos virus se han detectado individualmente o en diferentes asociaciones en los tipos de Chile cultivados en la región. De acuerdo con muestreos realizados en huertas de Chile, el virus detectado con mayor frecuencia tanto en follaje como en fruto y semilla, es el virus mosaico del pepino (CMV), seguido del virus moteado del Chile (PepMoV), después el virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV), el virus jaspeado del tabaco (TEV), el virus mosaico de la alfalfa (AMV) y en menor proporción el virus mosaico del tabaco (TMV) (Cuadro 2). El TSWV, se detectó por primera vez en la región en Chile Jalapeño y en tomate en el año 2005 en el municipio de San Pedro, Dgo. y en el 2006 en el Municipio de Nazas, Dgo. en Chile Puya (Chew *et al.*, 2005; Chew *et al.*, 2007a; Chew *et al.*, 2008; Chew *et al.*, 2009).

**Cuadro 2.** Virus detectados por serología (DAS-ELISA Inmunoensayo con enzimas conjugadas) en el cultivo de Chile en la Comarca Lagunera

CHILE	TOTAL MUESTRAS	CMV	PepMoV	TSWV	TEV	AMV	TMV†	TOTAL POSITIVOS
Chilaca	3	2	3	-	3	-	1	9
Puya	20	1	1	1	-	1	-	4
Serrano	3	3	-	-	-	-	-	3
Ancho	9	4	4	-	-	2	-	10
Jalapeño	38	13	7	1	6	3	1	31
Fruto	16	15	2	4	-	1	3	25
Semilla	12	12	4	3	-	-	-	19
<b>TOTAL</b>	<b>101</b>	<b>50</b>	<b>21</b>	<b>9</b>	<b>9</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>101</b>

† CMV=Virus mosaico del pepino; PepMoV=Virus moteado del Chile; TSWV=Virus de la marchitez manchada del tomate; TEV=Virus jaspeado del tabaco; AMV=Virus mosaico de la sandía; TMV=Virus mosaico del tabaco.

### Transmisión de virus por semilla

Debido a la importancia de la transmisión por semilla de algunos virus como el CMV y el TMV, y como se comentó anteriormente de que frecuentemente no existe un control de la sanidad y origen de la misma, se analizaron 16 muestras de semilla de Chile provenientes del municipio

de Nazas, Dgo. y nueve muestras del municipio de Delicias, Chih. De cada muestra de semilla, se obtuvieron tres submuestras: semilla completa, cáscara o testa y endospermo, para dar un total de 75 muestras.

Los resultados del análisis de la semillas mostraron que el Virus Mosaico del Pepino (CMV) se detectó en 11 muestras (14.6%), de las cuales seis fueron en semilla completa (8%), dos en cáscara o testa (2.6%) y tres en endospermo (4%).

El Virus Mosaico del Tabaco (TMV) se detectó en tres muestras (4%), una en semilla entera, una en cáscara y una en endospermo.

La semilla proveniente del municipio de Delicias, Chih., fue la más contaminada, con 12 muestras positivas (16.0 %). En la mayoría de los casos, la misma muestra (semilla entera, cáscara y endospermo) fue positiva para los virus TMV y CMV sin embargo, no se encontró a ambos virus en una misma muestra (Cuadro 3)(Chew *et al.*, 2007b).

**Cuadro 3.** Presencia del Virus Mosaico del Pepino (CMV) y del Virus Mosaico del Tabaco (TMV) en semilla de chile de Durango y Chihuahua, México.

PROCEDENCIA	TIPO DE CHILE	SEMILLA		
		ENTERA	CASCARA	ENDOSPERM O
Mpio. Nazas, Dgo.	Ancho	-	-	-
	Ancho	-	-	-
	Anaheim	-	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	CMV <sup>1</sup>	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	CMV	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	-	-	-
	Puya	-	-	-
Mpio. Delicias, Chih.	Chile sandía	CMV	-	-
	Cayenne	-	-	-
	Jalapeño	CMV	-	CMV
	Chilaca	-	-	-
	Chilaca	TMV	TMV	TMV
	Chilaca	-	-	-
	Jalapeño	-	-	-
	Jalapeño	CMV	CMV	CMV
	Jalapeño	CMV	CMV	CMV

## **Dorado del Fruto**

En los años 2004-2005 en varias parcelas del municipio de Lerdo, Dgo., se detectaron plantas aisladas con frutos con una apariencia de tostado, quemado o dorado de los frutos, y con el follaje prácticamente sin síntomas asociados con virosis. Los síntomas eran más evidente cuando los frutos estaban por madurar (Figura 1).

En 2006, esa sintomatología se generalizó en la mayoría de las huertas productoras de Chile de ese municipio, principalmente del tipo jalapeño. Los daños que se estimaron en las huertas en base al porcentaje de frutos dañados oscilaban entre el 5 y 60%. El dorado del fruto también se observó en Chile serrano, pero en menor escala.

En las plantas enfermas, se identificó un complejo de seis virus, principalmente en los frutos, razón por la que probablemente en ellos eran más severos los síntomas. En todas las muestras de follaje, fruto y semilla, se detectó al virus mosaico del pepino (CMV), ya sea solo o asociado con otros virus. En el follaje, además del CMV, se detectó al Virus Jaspeado del Tabaco (TEV), el Virus Moteado del Chile (PepMoV), y el Virus Mosaico de la Alfalfa (AMV). En frutos se detectó al CMV, TMV, AMV, PepMoV y Virus de la Marchitez Manchada del Tomate (TSWV). En semilla se encontró al CMV, TSWV y al PepMoV (Chew *et*

al., 2005; Chew *et al.*, 2006). Los dos primeros virus si se reportan que se transmiten por semilla, pero no así el PepMoV.



**Figura 1.** Dorado del fruto, sintomatología asociada a un complejo viral en Chile jalapeño.

### **Maleza como reservorio de virus**

En la Comarca Lagunera se ha detectado al virus del mosaico del pepino (CMV) en las siguientes especies de maleza: virginio (*Nicotiana glauca* Graham), trompillo (*Solanum elaeagnifolium* Cav.), hierba amargosa (*Ambrosia psilostachya* DC), jara (*Baccharis neglecta* Britton). Se ha identificado al virus mosaico del tabaco (TMV) en trompillo y al virus jaspeado del tabaco (TEV) en quelite (Chew *et al.*, 2006; Jiménez, 1994a; Jiménez, 1994b; Jiménez, 1996; Morales, 2004). Esto confirma

la importancia de la maleza en la diseminación de los virus y sus vectores, en los cultivos de relevancia agrícola.

### **Descripción de los virus detectados en la Comarca Lagunera**

A continuación se describe el agente causal, la sintomatología y epidemiología de los virus que se han detectado en la Comarca Lagunera.

#### **Virus Mosaico del Pepino (CMV)**

**Agente casual.** El virus pertenece al grupo de los cucumovirus. Ataca más de 40 familias de plantas en todo el mundo. Las razas del CMV difieren en el rango de hospedantes, y métodos de transmisión (Conti *et al.*, 2000; Murphy, 2003).

El CMV se detectó por primera vez en 1974 en plantaciones de Chile en la región sur de Tamaulipas, en el Bajío y en Culiacán, Sin. En 1985, en Veracruz y Sinaloa se reportó hasta un 100% de daño por el CMV (Pérez y Rico, 2004).

**Síntomas.** Achaparramiento severo. Follaje amarillento con apariencia correosa. Las hojas son más angostas que las hojas sanas. Los frutos presentan malformaciones.

La enfermedad es más severa cuando los chiles son trasplantados cerca de plantaciones de cucurbitáceas como pepino y calabaza.

**Epidemiología.** El Virus Mosaico del Pepino infecta más de 800 especies de plantas, incluyendo varias especies de maleza, las cuales actúan como reservorios de los virus e invernan en ellas. El Virus Mosaico del Pepino se dispersa y transmite por más de 60 especies de áfidos, pero los más eficientes son *Aphis gossypii* Glover, *A. fabae* Scopoli, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) y *Myzus persicae* (Sulzer). La transmisión se efectúa de una manera no persistente. Los pulgones necesitan alimentarse de plantas infectadas solo por unos segundos para adquirir al virus y posteriormente transmitirlo a otras partes de la planta o a plantas cercanas; la habilidad para transmitirlo se pierde en poco tiempo (aproximadamente 2 horas). La eficiencia de transmisión depende de varios factores como tipo de vector, razas del virus, condiciones ambientales y época del año. El Virus Mosaico del Pepino se transmite mecánicamente, y por semilla. En la Región Lagunera se detectó serológicamente en semilla de melón y en la semilla de la maleza conocida comúnmente como “tabaco silvestre” o “virginio” (*N. glauca*) (Jiménez, 1994a; Jiménez, 1994b; Jiménez, 1996). La maleza juega un papel importante en la transmisión por semilla de este virus, ya

que puede llegar al 75% (Conti *et al.*, 2000).

### **Virus Moteado del Chile (PepMoV)**

**Agente causal.** El PepMoV posee partículas filamentosas, flexuosas con una longitud entre 729 – 745 nm y una clase modal de 737 nm (Purcifull *et al.*, 1975), aunque se reporta en Corea la presencia de inclusiones cilíndricas de este virus en hojas de Chile infectadas con ese virus (Han *et al.*, 2006). El punto de inactivación térmica del PepMoV es de 45 a 75 °C y su punto final de dilución es de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  (Han *et al.*, 2006).

**Sintomatología.** En plantas de Chile el síntoma clave es el moteado sistémico de las hojas aunque algunas cepas del virus pueden causar una malformación severa de los frutos. Algunos aislamientos del patógeno pueden causar necrosis sistémica y muerte apical de los frutos. En algunas plantas se presentan rebrotes de tejido infectado bajo los brotes muertos. Las plantas infectadas en etapas tempranas pueden mostrar enanismo severo y hojas deformes y de menor tamaño, sin embargo, si la infección ocurre en plantas cercanas a la madurez se podría manifestar una clorosis sistémica acompañada de deformación foliar (ampollado) y enanismo ligeros, especialmente si la infección ocurrió en etapas tardías de desarrollo (Rodríguez-Alvarado *et al.*, 2002;

Murphy y Zitter, 2003; Cerkauskas, 2004).

**Epidemiología** El PepMoV es transmitido de manera no persistente por ninfas y adultos de *M. persicae*, considerada como la especie más eficiente, aunque también puede ser transmitido por la savia que facilita su diseminación durante el manejo de la plántula y posteriormente del cultivo (Sutic *et al.*, 1999); los áfidos *A. gossypii* y *A. craccivora* Koch también transmiten al PepMoV (Cerkauskas, 2004).

Murphy y Zitter (2003) señalan que en un limitado número de variedades del género *Capsicum* no se ha reportado la transmisión por semilla de este patógeno, aunque Cerkauskas (2004) indica que el PepMoV no se transmite por semilla. No se dispone de información acerca de la transmisión por semilla en maleza (Murphy y Zitter, 2003). Este virus puede ser transmitido mecánicamente por medio de la savia o por injerto pero no por simple contacto entre plantas (Cerkauskas, 2004).

La maleza conocidas como mala mujer (*S. elaeagnifolium* Cav.) y (*Convolvulus arvensis* L.) son reservorios del PepMoV (Rodríguez-Alvarado *et al.*, 2002).

## Virus de la Marchitez Manchada del Tomate (TSWV)

**Agente causal.** El TSWV es el miembro tipo del género *Tospovirus*, que se caracteriza por ser patógeno de vegetales dentro de la familia *Bunyaviridae*, un grupo de virus de ARN, predominantemente patógeno de insectos y vertebrados. Este virus forma partículas pleomorficas de 80 – 120 nm de diámetro. El genoma del TSWV consiste de tres cordones de ARN: un cordón negativo y dos cordones ambivalentes (Adkins, 2003). En 2006, Mandal *et al.* (2006) reportaron que los tres segmentos de ARN [denominados L (Large), M (Medium) y S (Small)] en el genoma del TSWV permitían el intercambio de información genética a través de rearrreglos del genoma viral. De acuerdo a Contreras *et al.* (2007) inicialmente se diferenciaron seis razas denominadas A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, D y E por los síntomas expresados en un grupo de plantas diferenciales; posteriormente, mediante serología se determinaron tres grupos denominados I, II y III. Con la técnica de PCR se han reconocido patotipos con diferente comportamiento biológico y químico que no se distinguen por medios serológicos. En México se detectó un patotipo de TSWV en plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) causante de lesiones locales y considerado como el menos patogénico, ya que únicamente provoca lesiones necróticas locales y defoliación de hojas inoculadas sin movimiento sistémico (De la Torre-

Almaráz *et al.*, 2002)

**Sintomatología.** De acuerdo con Adkins (2003), las plantas de Chile infectadas al inicio del ciclo de cultivo generalmente mostrarán enanismo y frecuentemente no producirán frutos; las plantas infectadas más tarde durante el ciclo de cultivo exhibirán manchas cloróticas o necróticas así como manchas anilladas necróticas en hojas y tallos. En algunas variedades se puede registrar caída de flores y defoliación. Durante la etapa de madurez, los frutos de las plantas infectadas se desarrollan manchas cloróticas o necróticas con patrones anillados o mosaicos que le confieren un aspecto indeseable.

En plantas de Chile infectadas por TSWV los frutos verdes pueden mostrar daños en forma de pequeñas manchas decoloradas. Los frutos rojos exhiben manchas amarillas que nunca toman el color rojo característico de un fruto maduro y frecuentemente desarrollan manchas cloróticas o necróticas acompañadas de deformación de los frutos (Zitter *et al.*, 1989; Goldberg, 1995).

**Epidemiología.** Aunque bajo condiciones de laboratorio este virus puede ser transmitido mecánicamente, en forma natural es transmitido de planta a planta casi exclusivamente por algunas especies de trips (Adkins, 2003). Se ha reportado que el TSWV puede ser

transmitido en la testa de la semilla de jitomate pero no en el embrión (APS, 1993); Chew *et al* (2007a) indicaron la presencia de TSWV y otros virus, en frutos de Chile Jalapeño procedentes de la Comarca Lagunera, aunque no se concluyó definitivamente sobre su presencia en alguna de las partes de la semilla.

En condiciones de campo el virus es transmitido casi exclusivamente por trips, pero es posible lograr su transmisión mediante inoculación mecánica y por injerto. Entre las especies de trips pertenecientes al género *Frankliniella* capaces de transmitir el TSWV se encuentran *F. occidentalis* (Pergande), *F. fusca* (Hind), *F. schultzei* (Trybom), *F. intonsa* (Trybom) y *F. bispinoza* (Morgan) mientras que en el género *Thrips* las especies *T. tabaci* (Lindeman) y *T. setosus* (Moulton) son también vectores de este virus (Sepúlveda *et al.*, 2005; Nagata *et al.*, 2007). En Zacatecas, México se ha logrado confirmar la presencia en plantas de Chile de *F. occidentalis* y *T. tabaci* (Beltrán *et al.*, 2011).

### **Virus Jaspeado del Tabaco (TEV)**

**Agente causal:** El virus jaspeado del tabaco pertenece al grupo de los potyvirus e infecta principalmente a las solanáceas en Norte y Sur América. El TEV es uno de los virus más destructivos en el cultivo de

chile en los Estados Unidos de América. Alcanza incidencias hasta del 100% y ocasiona pérdidas hasta del 70%. El chile, tomate y tabaco, son los cultivos de mayor importancia económica que son afectados por el TEV; sin embargo, aproximadamente 120 especies de plantas pertenecientes a 19 familias de dicotiledóneas son susceptibles al virus (Reddick, 2003)

**Síntomas.** Las raíces de las plantas infectadas adquieren una coloración negra y la planta se marchita, se achaparra y toma el aspecto de un arbusto.

Las hojas presentan un mosaico ligero y las venas tienen una coloración más oscura que el resto de la hoja. Causa deformación de hojas y frutos. Las yemas y las hojas pueden desprenderse (Conti *et al.*, 2000).

**Epidemiología.** Este virus inverna en maleza y en plantas de la familia solanácea como el tomate y la papa y es dispersada por los pulgones *M. persicae*, *M. euphorbiae* y *A. fabae*. No existen evidencias de transmisión por semilla del TEV (Reddick, 2003).

## Virus Mosaico de la Alfalfa (AMV)

**Agente causal.** El virus mosaico de la alfalfa pertenece a la familia Bromoviridae y al género *Alfamovirus*. El AMV infecta a especies de 21 familias. Este virus puede ser de consideración solamente en plantaciones de Chile cercanas a alfalfares en donde las pérdidas pueden ser hasta del 65% (Creamer, 2003).

**Síntomas.** Los primeros síntomas son un mosaico ligero que después se acentúa. Las plantas infectadas tienen poco desarrollo, malformación de las hojas apicales, con ampollamiento y mosaicos acentuados, a veces con necrosis.

Los frutos son deformes, con lesiones necróticas y maduran irregularmente (Figura 8).

**Epidemiología.** Se transmite de forma no persistente por más de 20 especies de áfidos, principalmente por *M. persicae*. Además de plantas cultivadas (forrajeras, hortícolas, ornamentales y medicinales), principalmente alfalfa, trébol, papa, Chile, tomate, frijol y chicharos, también infecta varias especies de maleza. La transmisión también puede ser mecánicamente y por injerto.

El virus puede transmitirse por semilla, en el cultivo de Chile el porcentaje varía de 1-5% hasta más del 69% (Creamer, 2003).

### **Virus Mosaico del Tabaco (TMV)**

**Agente causal.** El virus mosaico del tabaco pertenece al género *Tobamovirus*. El TMV con frecuencia se encuentra asociado con el Virus Mosaico del Tomate (ToMV). Las pérdidas por ambos virus varían de 30 a 70% en los Estados Unidos de América (Himmel, 2003).

**Síntomas.** Aclaración pronunciada de las venas en hojas jóvenes, algunas hojas presentan abultamientos parecidos a ampollas. Acaparamiento, clorosis y mosaicos. Caída prematura de las hojas más viejas. Aborto de flores y frutos. Necrosis de las yemas y deformación de los frutos, los cuales son más pequeños que los de las plantas sanas. Los frutos maduran irregularmente (Arcos *et al.*, 1998).

**Epidemiología.** Las principales fuentes de inóculo son residuos de plantas infectadas, aunque se puede transmitir mecánicamente, puede ser acarreado por cualquier objeto que se ponga en contacto con las plantas o residuos infectados como maquinaria, los trabajadores especialmente si fuman, herramienta. Una vez que el virus se establece

en una región es difícil eliminarlo, ya que persiste en residuos de plantas infectadas por más de 50 años (Arcos *et al.*, 1998).

## **Literatura Citada**

- Adkins, S., 2003. *Tomato spotted wilt virus*. Pp. 39 – 40. *In*: Compendium of pepper diseases. (Ed. by K. Pernezny, P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg). St Paul, MN, USA. 63 p.
- Beltrán, B.M., Velásquez, V.R., Reveles, H.M., 2011. Avances de investigación en la bioecología de trips en Chile (*Capsicum annuum* L.) en Zacatecas. *Agrofaz* 11, 7-12.
- Cerkauskas, R., 2004. Pepper mottle virus. Pepper Diseases. Fact Sheet. Asian Vegetable Research and Development Center. AVRDC Publication 04-591. 2 p.
- Conti, M., Gallitelli, D., Lisa, V., Lovisolò, O., Martelli, G.P., Ragozzino, A., Rana, G.L., Vovlas, C. 2000. Principales virus de las plantas hortícolas. Bayer. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. Pp. 93-103.
- Chew, M.Y.I., Jiménez D. F., 2002. Enfermedades del melón. pp. 161-195. *In*: El melón: Tecnología de producción y comercialización. SAGARPA-INIFAP-CELALA. Matamoros, Coah.
- Chew, M.Y.I., Vega P. A., Jiménez D.F., 2005. Dorado del fruto. Nueva sintomatología en el cultivo del Chile en la Región Lagunera. XVII Semana Internacional de Agronomía. FAZ-UJED. Gómez Palacio, Dgo. pp. 691-695.
- Chew, M.Y.I., Vega P.A., Nava C.U., Cano R.P., Jiménez D.F., 2006. Virus Fitopatógenos en los cultivos hortícolas de la Región Lagunera. Informe de Investigación. INIFAP-CIRNOC-CELALA. Matamoros, Coah. 12 p.
- Chew, M.I.Y., Vega, P.A., Palomo, R.M., Díaz, J.F., 2007a. Principales enfermedades del cultivo de Chile (*Capsicum annuum* L.) en la Región Lagunera, México. Memorias. XIX Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED. 182 – 187.

- Chew, M.I.Y., Vega, P.A., Carrillo, A.J.S., 2007b. Detección del virus mosaico del pepino (CMV) y virus mosaico del tabaco (TMV) en semilla de Chile (*Capsicum annuum* L.) por la técnica ELISA. Memorias. XIX Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED. 188 – 191.
- Chew, M.I.Y., Vega, P.A., Palomo, R.M., Jiménez, D.F., 2008. Principales enfermedades del Chile (*Capsicum annuum* L.). Folleto Técnico Núm. 15. Campo Experimental La Laguna – INIFAP. Matamoros, Coahuila, México. 32 p.
- Chew, M.Y.I., Gaytán, M.A., Isidro, R.L.M., 2009. Determinación de virus en el cultivo de Chile (*Capsicum annuum* L.) en la Comarca Lagunera L. Pp. 192. *In: IV Reunión Nacional de Innovación Agrícola y Forestal*. Saltillo, Coah.
- Creamer, R., 2003. Alfalfa Mosaic Virus. Pp. 24-26. *In: Compendium of pepper diseases*. (Ed. by K. Pernezny, P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg). The American Phytopathological Society Press. St Paul, MN, USA. 63 p.
- De la Torre-Almaráz, R., Cervantes-Díaz, L., Houston, A.H., Valverde, R., 2002. Variación fenotípica de algunos aislamientos mexicanos del virus de la marchitez manchada del tomate (TSWV). *Agrociencia* 36, 211-221.
- Goldberg, N.P., 1995. Chile pepper diseases. Agricultural Experiment Station. College of Agriculture and Home Economics. New Mexico State University. Circular 549. Las Cruces, NM, USA. 20 p.
- Han, J.-H., Choi, H.-S., Kim, D.H., Lee, H.-R., Kim, B.-D., 2006. Biological, physical and cytological properties of *Pepper mottle virus* – SNU1 and its RT-PCR detection. *Plant Pathology Journal* 22, 155-160.
- Himmel, P.T., 2003. Tobacco mosaic virus and tomato mosaic virus. Pp. 38-39. *In: Compendium of pepper diseases*. (Ed. by K. Pernezny, P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg). The American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN, USA 63 p.
- Jiménez, D.F., 1994a. Epidemiología de los virus del melón en la Comarca Lagunera. Memorias XXI Congreso Nacional de Fitopatología. 20-22 julio, Cuernavaca, Mor. México. p. 87.

- Jiménez, D.F., 1994b. Manejo integrado de los virus en hortalizas. *In*: 1<sup>er</sup> Día del horticultor. 4<sup>o</sup> Día del melonero. SARH-INIFAP-CIRNE-Campo Experimental La Laguna. Matamoros, Coah. México. Publicación Especial N° 47:12-17.
- Jiménez, D.F., 1996. Maleza hospedera de virus, fluctuación poblacional de vectores y su relación con enfermedades virales del melón (*Cucumis melo* L.) en la Comarca Lagunera, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 14, 31-37.
- Jiménez, D.F., 1996. Maleza hospedera de virus, fluctuación poblacional de vectores y su relación con enfermedades virales del melón (*Cucumis melo* L.) en la Comarca Lagunera, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 14, 31-37.
- Mandal, B., Pappu, H.R., Csinos, A.S., Culbreath, A.K., 2006. Response of peanut, pepper, tobacco, and tomato cultivars to two biologically distinct isolates of *Tomato spotted wilt virus*. *Plant Disease* 90, 1150-1155.
- Murphy, J.F., Zitter, T.A., 2003. *Pepper mottle virus*. Pp. 33 - 34. *In*: Compendium of pepper diseases. (Ed. by K. Pernezny, P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg). The American Phytopathological Society Press. St Paul, MN, USA. 63 p.
- Murphy, J.F., 2003. Cucumber mosaic virus. Pp. 29-31 *In*: Compendium of pepper diseases. (Ed. by K. Pernezny, P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg). The American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN, USA. 63 p.
- Nagata, T., Resende, R.O., Inoue-Nagata, A.K., De Ávila, A.C., 2007. The fluctuation of transmission specificity and efficiency of *Tomato spotted wilt virus* by *Frankliniella schultzeri*. *Fitopatología Brasileira* 32, 439
- Nuez, F., Gil, O.R., Costa, J., 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajies. Ediciones Mundi-Prensa. Reimpresión. España. 607 p.
- Purcifull, D.E., Zitter, T.A., Hiebert, E., 1975. Morphology, host range, and serological relationships of pepper mottle virus. *Phytopathology* 65, 559-562.
- Reddick, B.B., 2003. Tobacco etch virus. Pp. 38. *In*: Compendium of pepper diseases. (Ed. by K. Pernezny, P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg). The American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN, USA. 63 p.

- Rodríguez-Alvarado, G., Fernández-Pavía, S., Creamer, R., Liddell, C., 2002. *Pepper mottle virus* causing disease in Chile peppers in southern New Mexico. *Plant Disease* 86, 603-605.
- Sepúlveda, R.P., Larraín, S.P., Quiroz, E.C., Rebufel, A.P., Graña, S.F., 2005. Identificación e incidencia de virus en pimiento en la zona centro norte de Chile y su asociación con vectores. *Agricultura Técnica (Chile)* 65, 235-245.
- Urias, M.C., Alejandre, A.T., 1999. Los virus y su impacto en la producción agrícola. *In: S. Anaya R. y J. Romero N. et al. (eds.). Hortalizas. Plagas y enfermedades. Editorial Trillas. México. Pp. 92-109.*
- Velásquez, V.R., Mena, C.J., Amador, R.M.D., Reveles, H.M., 2009. El virus de la marchitez manchada del jitomate afectando Chile y jitomate en Zacatecas. Folleto Técnico No. 20. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP. Aguascalientes, Aguascalientes, México. 24 p.
- Zitter, A.T., Daughtrey, L.M., Sanderson, P.J., 1989. Tomato spotted wilt virus. *Vegetable/Horticultural Crops. Cornell Cooperative Extension. Cornell University. Fact Sheet 735.90. 6 p.*

## **CAPITULO 7**

### **EPIDEMIOLOGÍA DE VIRUS Y FITOPLASMAS DE CHILE PARA SECADO**

Rodolfo Velásquez-Valle<sup>1</sup>  
Mario Domingo Amador-Ramírez<sup>2</sup>

#### **Introducción**

A nivel global, México es uno de los países más importantes en la producción de los diferentes tipos de chile, de los cuales se cosechan anualmente más de dos millones de toneladas (Robles *et al.*, 2010); en la región norte centro de México, que comprende los estados de Aguascalientes, Durango, San Luis Potosí y Zacatecas el cultivo de chile (*Capsicum annum* L.) para secado es una de las principales actividades agropecuarias tanto por la superficie que ocupa como por la generación de empleos a lo largo del año.

La epidemiología viral y de fitoplasmas es compleja; existen múltiples factores agroclimáticos que inciden sobre la expansión de estos patógenos como la temperatura, humedad, forma de cultivo,

---

<sup>1</sup> Programa de Fitopatología, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP;

<sup>2</sup> Investigador Invitado, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP.

entre otros, que de una forma u otra afectan al cultivo y al patógeno y modulan la interacción entre ambos. Esta interacción se vuelve más complicada aún cuando existe un vector y es necesario considerar la acción de todos los factores agroclimáticos sobre este organismo y la relación que pueda establecer con el cultivo y sus patógenos virales (Nuez *et al.*, 2003).

Uno de los primeros reportes (Delgado, 1974) acerca de la presencia de agentes virales afectando al cultivo de Chile en México mencionaba la existencia del virus del jaspeado del tabaco (TEV) y del mosaico del tabaco (TMV) en la región mexicana conocida como el Bajío; la incidencia del primero fue mayor a la del mosaico del tabaco. En el norte centro de México donde se trasplanta la mayor superficie de Chile para secado se ha reportado la presencia de algunos virus de ARN como el TEV, TMV, PVY, CMV, PepMoV y TSWV (Velásquez *et al.*, 2009; Velásquez-Valle *et al.*, 2012a), begomovirus como el huasteco de la vena amarilla del Chile y el del mosaico dorado del Chile (Recendez *et al.*, 2011), curtovirus como el de la punta rizada del betabel (Velasquez-Valle *et al.*, 2008) y fitoplasmas (Santos-Cervantes *et al.*, 2008); recientemente se detectó la presencia de *Candidatus*

*Liberibacter solanacearum* en plantas de chile que mostraban una severa deformación foliar acompañada de otros síntomas como mosaico y deformación de frutos.

Los fitoplasmas constituyen uno de los patógenos más recientemente detectados en plantas de chile para secado en el norte centro de México por lo que es necesario reafirmar sus principales características: los fitoplasmas son bacterias gram positivas, carentes de pared celular, parásitos intracelulares obligados, restringidos al sistema vascular de las plantas, que pertenecen a la clase *Mollicutes*; su tamaño celular (diámetro menor a un micrómetro) y el de su genoma (680 – 1600 kb) se encuentra entre los más pequeños entre las bacterias; no pueden ser cultivados *in vitro*, son transmitidos principalmente por insectos, técnicas de micropropagación, injerto y corte; sin embargo no se excluye la transmisión por semilla (Liefiting *et al.*, 2004; Bertaccini y Duduk, 2009; Mehle *et al.*, 2011). La sintomatología causada por estos patógenos apunta hacia la perturbación del balance hormonal, desordenes en las funciones del floema (deposición de calosa, necrosis y colapso) y alteración en la savia contenida en el floema (Christensen *et al.*, 2005).

La sintomatología causada en las plantas de Chile por la infección de estos patógenos es variable y compleja por la acción de otros organismos patógenos como hongos y bacterias que también afectan las plantas de Chile y que pueden alterar la expresión de síntomas de infección viral o por fitoplasmas. Entre los síntomas más frecuentemente observados se encuentran las deformaciones foliares y de fruto, enanismo, cambios en el color del follaje; manchado concéntrico de frutos, pérdida de estructuras reproductivas, cambios en la arquitectura de la planta, presencia de filodios y yema grande. Es común observar más de uno de estos síntomas en una sola planta por lo que es difícil emplear la sintomatología observada para determinar la identidad del o los patógenos presentes en una planta (Figura 1).



**Figura 1.** Planta de chile infectada por *Candidatus Liberibacter solanacearum* mostrando síntomas de deformación y cambio de color en el follaje así como enanismo.

### **Presencia de virus en almácigos**

La mayor parte de la plántula de chile trasplantada en Zacatecas proviene de almácigos tradicionales, a cielo abierto, cuyas plantas permanecen expuestas a vectores por cerca de dos meses; además, el manejo de malas hierbas es deficiente (Figura 2). Los virus jaspeado del tabaco, mosaico del tabaco, mosaico del pepino y moteado del chile fueron detectados en muestras compuestas de plántulas de chile colectadas en almácigos tradicionales del estado de Zacatecas, sin

embargo, la presencia de dos o más virus en cada almácigo resultó frecuente; las asociaciones virales más comunes fueron TEV+TMV+PepMoV (48.6%), TEV+TMV+CMV+PepMoV (29.7%) y TEV+TMV (10.8%) (Velásquez-Valle *et al.*, 2013). Se ha mencionado que el virus del moteado del Chile utiliza este medio para diseminarse en otras partes del mundo (Cerkauskas, 2004c).



**Figura 2.** Almácigo tradicional de Chile a cielo abierto mostrando un deficiente manejo de maleza alrededor de las camas de siembra.

### Infecciones mixtas

De acuerdo con Méndez-Lozano *et al.* (2003) las infecciones mixtas con dos o más geminivirus infectando la misma planta son frecuentes en áreas tropicales y subtropicales y podrían conducir al desarrollo de enfermedades complejas. Un estudio realizado por Reveles *et al.* (2012) en parcelas comerciales de Chile tipo Mirasol la presencia de tres especies de geminivirus pertenecientes a dos géneros de esa familia en plantas que mostraban síntomas de amarillamientos: un curtovirus (BMCTV) y los begomovirus *Pepper huasteco yellow vein virus* (PHYVV) y *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV). El BMCTV se detectó en todas las muestras analizadas mientras que el PHYVV y el PepGMV se encontraron en el 80 y 100% de las muestras colectadas (Cuadro 1).

El fenómeno de infecciones mixtas de dos más virus de ARN es también conocido a nivel global (Abdalla *et al.*, 1991); los trabajos llevados a cabo en parcelas de Chile de los estados de Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas indicaron la presencia de los virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*: TMV), jaspeado del tabaco (*Tobacco etch virus*: TEV), mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*:

**Cuadro 1.** Detección de diferentes virus en plantas de chile tipo Mirasol con síntomas de amarillamiento colectadas en el altiplano de San Luis Potosí, México (Reveles *et al.*, 2012).

Muestra	Curtovirus	Begomovirus	
		PHYVV <sup>y</sup>	PepGMV <sup>z</sup>
	BMCTV <sup>x</sup>		
1	Positivo	Negativo	Positivo
2	Positivo	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo	Negativo	Positivo
5	Positivo	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo	Positivo

<sup>x</sup> *Beet mild curly top virus*; <sup>y</sup> *Pepper huasteco yellow vein virus*; <sup>z</sup> *Pepper golden mosaic virus*

CMV), Y de la papa (*Potato virus Y: PVY*) y moteado del chile (*Pepper mottle virus: PepMoV*) en plantas de diferentes tipos de chile que mostraban síntomas como enanismo, clorosis, deformación foliar y de-

**Cuadro 2.** Asociaciones entre dos o más virus en muestras de follaje de Chile para secado colectadas en Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas, México. (Velásquez-Valle *et al.*, 2012a)

Localidad	Fecha de muestreo	Asociaciones más comunes/Frecuencia de detección
Aguascalientes	17 de mayo	TMV-PVY-PepMoV-TEV (21%); PVY-PepMoV-TEV (21%)
	28 de junio	PVY-TEV (16.7%)
	15 de Julio	TMV-TEV (15.8%)
San Luis Potosí	28 de mayo	TMV-PVY-PepMoV-TEV (37.5%); TMV-PVY-PepMoV (31.2%); TMV-CMV-PVY-PepMoV-TEV (25%)
	21 de julio	TMV-PVY (30%); TMV-CMV (20%); TMV-CMV-PVY (15%)
	01 de octubre	TMV-CMV-PVY-PepMov-TEV (33.3%)
Zacatecas	08 de junio	TMV-CMV-PepMoV-TEV (63.1%); TMV-CMV-PepMoV-PVY-TEV (21%); CMV-PepMoV (15.8%)
	30 de junio	TMV-TEV (35%); TMV-CMV-TEV (15%)
	20 de julio	TMV-PVY (30%); TMV-CMV (20%)
	28 de septiembre	TMV-CMV-PVY-PepMoV-TEV (66%); TMV-CMV-PepMoV 20%

foliación, entre otros; la detección de esos virus mediante DAS-ELISA permitió establecer algunas de las asociaciones entre diferentes agentes virales a través de un ciclo de cultivo; es importante señalar que fue relativamente frecuente encontrar hasta los cinco virus mencionados infectando hasta el 66% de las plantas muestreadas, especialmente al final del ciclo de cultivo (Cuadro 2) (Velásquez-Valle *et al.*, 2012a).

### **El papel de la maleza**

Las malezas afectan la cantidad y calidad de los cultivos no solo de manera directa al competir con las plantas cultivadas por agua, luz, nutrientes y espacio, sino que además indirectamente actuando como hospederos alternativos de organismos dañinos, entre ellos los virus. Estas plantas sirven de alimento para los vectores de virus, mientras que las semillas y órganos vegetativos mantienen a los virus entre temporadas de cultivos y permiten una rápida dispersión de la enfermedad como inóculo primario (Ormeño y Sepúlveda, 2005).

Estudios realizados a nivel mundial han revelado la relación específica entre virus y maleza; en Chile se menciona (Ormeño y

Sepúlveda, 2005) se mencionan casos como el de *Sonchus* spp. infectadas por AMV y TSWV y *Chenopodium* spp. afectado por AMV, CMV, TSWV, PVY e INSV. Otras malas hierbas como *Solanum eleagnifolium* Cav. (trompillo) y *Convolvulus arvensis* L. (correhuela) como hospederas de PepMoV y CMV en el estado de Nuevo Mexico, EUA (Rodriguez-Alvarado *et al.*, 2002). En el noreste de España (Laviña *et al.*, 1996) consignan la infección de plantas de quelite (*Amaranthus retroflexus* L.), cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) y verdolaga (*Portulaca oleracea* L.), entre otras por TSWV y CMV.

Se ha registrado la presencia del *Beet mild curly top virus* en maleza con capacidad para sobrevivir al invierno en algunos municipios de Aguascalientes y Zacatecas; entre las malas hierbas que resultaron positivas a ese patógeno se encuentran *Chenopodium* spp., *Solanum rostratum* L., *Reseda* spp. y *Eruca sativa* Mill. (Velásquez-Valle *et al.*, 2012b). La infección de maleza por virus de ARN, BMCTV y fitoplasmas en Aguascalientes y Zacatecas, México se reporta en el cuadro 3.

**Cuadro 3.** Maleza infectada por diferentes virus de ARN, BMCTV y fitoplasmas en Zacatecas, México (Velásquez-Valle *et al.*, 2012b; Velásquez-Valle *et al.*, 2013; Aguirre-Marquez *et al.*, 2014).

<b>Maleza</b>	<b>Familia botánica</b>	<b>Virus de ARN</b>	<b>BMCTV</b>	<b>Fitoplasmas</b>
<i>Amaranthus</i> spp	Amaranthaceae	TEV, TMV, PVY, PepMoV, CMV	Negativa	Negativa
<i>Reseda</i> spp.	Resedaceae	TEV, TMV	Positiva	Positiva
<i>Sonchus oleracea</i> L.	Borraginaceae	TEV, TMV, CMV, PepMoV	Negativa	Negativa
<i>Sisimbrio irio</i> L.	Brassicaceae	TEV, TMV, CMV	Negativa	Positiva
<i>Solanum rostratum</i> L.	Solanaceae	CMV	Positiva	Negativa
<i>Malva parviflora</i> L.	Malvaceae	TEV, TMV, CMV, PepMoV	Negativa	Negativa
<i>Chenopodium álbum</i> L.	Chenopodiaceae	TEV, TMV	Negativa	Positiva
<i>Salsola</i> spp.	Chenopodiaceae	TEV, PVY	Negativa	Negativa
<i>Eruca sativa</i> Mill.	Brassicaceae	TEV, PVY, PepMoV, CMV	Positiva	Positiva

Es importante señalar la importancia epidemiológica de algunas de las malas hierbas como el caso de *S. rostratum* que previamente había sido mencionada (Garzón-Tiznado *et al.*, 2002) como hospedera del virus huasteco del chile y del texano del chile variante Tamaulipas en forma individual o mezclada, en los estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. Por otro lado, Safarova *et al.* (2011) han mencionado la presencia de fitoplasmas del grupo 16SrIII en plantas de *C. album* que habían sido colectadas dentro de parcelas de chile; esta mala hierba mostraba síntomas como amarillamiento foliar, deformación de la inflorescencia y desarrollo de hojas pequeñas.

### **Vectores de virus y fitoplasmas**

Una de las principales formas de diseminación de virus y fitoplasmas la constituyen los vectores, principalmente los pertenecientes a la clase Insecta. Dentro de ella destacan los áfidos o pulgones (Familia Aphididae) así como las chicharritas (Familia Cicadellidae), aunque también los trips (familia Thripidae), vectores del TSWV han sido detectados en diferentes tipos de chile en Zacatecas (Velásquez-Valle *et al.*, 2009; Beltran *et al.*, 2011); en el norte centro de México se ha reportado la presencia de vectores de virus y fitoplasmas

como el pulgón verde del durazno (*Myzus persicae* Sulc.), la mosquita blanca (*Bemisia tabaci* Sulc.), el pulgón saltador (*Bactericera (Paratrioza) cockerelli* (Sulc.) y la chicharrita del betabel (*Circulifer tenellus* Baker) (Bujanos y Marín, 2012; Velásquez-Valle *et al.*, 2008; Beltrán *et al.*, 2011). A nivel mundial se han reportado numerosas especies de áfidos como vectores de diferentes virus de ARN o no persistentes en el cultivo de Chile (Cuadro 4).

La epidemiología de las enfermedades inducidas por fitoplasmas es significativamente influenciada por la interacción entre el patógeno y el vector; la infección con el fitoplasma puede incrementar o reducir su adaptación o cambiar el comportamiento del vector (Johannesen *et al.*, 2011). Los fitoplasmas son diseminados principalmente por insectos pertenecientes a las familias Cicadellidae (chicharritas), Fulgoridae (periquitos) y Psyllidae (pulgón saltador), los cuales se alimentan en el floema de las plantas infectadas, consecuentemente el rango de hospederos de los fitoplasmas depende en gran medida de los insectos vectores (Bertaccini y Duduk, 2009). La presencia de la chicharrita *C. tenellus* ha sido reportada en el norte de México desde mediados del siglo pasado (Young y Frazier, 1954), actualmente, este cicadelido es

**Cuadro 4.** Áfidos asociados con la transmisión de diferentes virus de Chile.

<b>Áfido</b>	<b>Virus</b>	<b>Áfido</b>	<b>Virus</b>
<i>Aphis craccivora</i> Koch	TEV; PVY; PepMoV	<i>Aphis gossypii</i> Glover	TEV; PVY; CMV; PepMoV
<i>Aphis spiraeicola</i> Patch	TEV	<i>Myzus persicae</i> (Sulzer)	TEV; CMV; PVY; AMV; PepMoV
<i>Lipaphis pseudobrassicae</i> Davis	TEV	<i>Acyrtosiphon pisum</i> Harris	PVY
<i>Aphis fabae</i> Scopoli	PVY, TEV	<i>Macrosiphum euphorbiae</i> (Thomas)	CMV, PVY, AMV, TEV
<i>Aphis citricola</i> van der Goot	CMV	<i>Acyrtosiphon kondoi</i> Shinji	AMV
<i>Diuraphis noxia</i> (Mordvilko)	PVY		

McDonald, 2001; Cerkauskas, 20004a; Cerkauskas, 2004b; Cerkauskas, 2004c; Fereres et al., 1993; Sepúlveda *et al.*, 2005; Perez *et al.*, 1995; Raccah *et al.*, 2008; Prakash y Singh, 2006; Reddick, 2003.

mencionado (Liefting *et al.*, 2004) como vector de fitoplasmas en diversos cultivos como papa, rabano y jitomate. En Zacatecas, el análisis molecular de individuos pertenecientes a *Aceratagallia* spp. reveló la presencia de fitoplasmas en el cuerpo del insecto (Mercado-Arteaga *et al.*, 2013).

El psilido o pulgón saltador (*Bactericera cockerelli* Sulc) ha sido mencionado como vector de *Candidatus Liberibacter solanacearum* en cultivos como jitomate, chile, papa (Munyaneza *et al.*, 2007; Liefting *et al.*, 2009; Camacho-Tapia *et al.*, 2011; Levy *et al.*, 2011); sin embargo, Almeyda-León *et al.* (2008) reportaron la presencia de esta bacteria en especímenes de otras chicharritas como *Aceratagallia* spp., *Empoasca* spp. y *Heteropsylla texana* Crawford (Klein & Campos, 1978) colectadas en parcelas de papa en los estados de Coahuila y Nuevo León, México.

### **Transmisión por semilla**

De acuerdo con Ali y Kobayashi (2010), la presencia de CMV en semillas obtenidas de plantas inoculadas con ese virus osciló entre 95 y 100%; el patógeno fue detectado en la testa y embrión en rangos que

iban de 23 a 83 y de 10 a 46% respectivamente; sin embargo, el porcentaje de transmisión por semilla fue de alrededor 10 a 14%.

Otro virus que infecta a las plantas de Chile y que es transmitido por semilla es el TMV; Demsky (1981) encontró que el virus se asociaba más frecuentemente con la testa que con el endospermo o embrión y que el porcentaje de plántulas de Chile infectadas era mayor cuando se empleaba semilla recién producida que cuando se utilizaba semilla almacenada por nueve meses (Himmel, 2003).

Por otro lado, Genda *et al.* (2005) reportan que al utilizar técnicas de microscopía fluorescente fueron capaces de localizar al *Pepper mild mottle virus* en la superficie de la epidermis pero no en el endospermo o embrión de la semilla. La presencia de este virus en la semilla de Chile fue también observada en semilla producida en la República Checa (Svoboda *et al.*, 2006). Chew (2008) ha mencionado la presencia del CMV en semilla de Chile jalapeño que provenían de frutos con apariencia de tostado o quemado colectados en Durango, México.

## Influencia de factores ambientales

Existe poca información acerca de la influencia de factores ambientales como temperatura y humedad relativa en el desarrollo de una epidemia viral en plantas de Chile; solamente ha sido mencionado el efecto de la temperatura sobre el comportamiento de algunos áfidos vectores de virus; *M. persicae* parece ser un vector más eficiente de CMV en climas fríos mientras que *A. gossypii* es el vector principal en climas cálidos (Prakash y Singh, 2006). Un estudio realizado en Chile (Quiroz *et al.*, 2005) mostró que *M. persicae* puede alcanzar su máxima población al inicio de la primavera austral mientras que *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas) apareció más tarde, lo que indicaría un mayor requerimiento térmico de esta especie. Por otro lado, Black *et al.* (1991) señalan que aunque el PVY se encuentra globalmente distribuido es prevalente en climas más cálidos mientras que la severidad del CMV es mayor cuando las parcelas de Chile se encuentran cercanas a campos de otros cultivos susceptibles como calabaza o pepino. Es importante notar que el virus del mosaico del tabaco puede permanecer viable por algunos años en tejido vegetal infectado que permanece en suelo seco, sin embargo, cuando los

restos vegetales permanecen en suelo húmedo, las partículas virales pierden su infectividad rápidamente (Himmel, 2003).

Muñoz-Valencia *et al.* (2013) estudiaron el impacto de altas temperaturas sobre la adaptabilidad de *B. tabaci* encontrando que la supervivencia del insecto pasó de 82.5 a 2.7% cuando la temperatura se elevó 41 y 45 °C respectivamente; la fecundidad (no oviposición) se vio afectada a 45 °C; además, la viabilidad disminuyó significativamente (67%) a 44 °C, sin embargo, al someter a la mosquita blanca a un periodo de acondicionamiento térmico (40 °C/1 hora; 25 °C/1 hora y 45 °C/1 hora) aumentó la supervivencia desde 2.7% hasta 10 y 33% en machos y hembras respectivamente aunque dicho incremento solo fue significativo en hembras.

Por otro lado, los fitoplasmas sobreviven al invierno dentro de los vectores o en las plantas perennes; recientemente se ha investigado la posibilidad de que estos patógenos sean transmitidos por semilla (Bertaccini y Duduk, 2009).

De acuerdo con un estudio realizado en los estados de Washington y Oregon, EUA, por Murphy *et al.* (2012) las poblaciones

de *C. tenellus*, vector del fitoplasma que causa la punta morada de la papa, se verían influenciadas por la temperatura del otoño e invierno precedentes así como por la precipitación y elevación. Creamer *et al.* (2003) indican que las poblaciones de *C. tenellus* en parcelas de chile en Nuevo Mexico, EUA, se incrementan durante abril y mayo, alcanzan su máximo en junio – julio y decaen desde fines de octubre a mediados de diciembre.

Munyaneza *et al.* (2012) señalan que la temperatura menor a 17°C retrasa el desarrollo de ‘*Ca. L. solanacearum*’ y sus síntomas en los tubérculos de papa mientras que la temperatura por encima de 32 °C es dañina para esta bacteria.

### **Comentarios finales**

El cultivo de chile se desarrolla bajo el ataque combinado de patógenos de origen viral y bacteriano con diferentes capacidades para diseminarse y sobrevivir entre ciclos de cultivo. Aunque se ha obtenido información valiosa acerca de la epidemiología de estas enfermedades, sin embargo, las condiciones locales que disparan o retrasan las epidemias de esos patógenos son aún objeto de estudio o validación.

## **Literatura Citada**

- Abdalla, O.A., Desjardins, P.R., Dodds, J.A., 1991. Identification, disease incidence, and distribution of virus infecting peppers in California. *Plant Disease* 75, 1019-1023.
- Aguirre-Marquez, G., Reveles-Torres, L.R., Velásquez-Valle, R., Amador-Ramírez, M. D. 2014. Presencia de fitoplasmas en maleza de Aguascalientes y Zacatecas. 26ª. Semana Internacional de Agronomía. FAZ Universidad Juárez del Estado de Durango. Pp. 838 -842.
- Ali, A., Kobayashi, M., 2010. Seed transmission of *Cucumber mosaic virus* in pepper. *Journal of Virological Methods* 163, 234-237.
- Almeyda-León, I., Sánchez-Salas, J., Garzón-Tiznado, J., 2008. Vectores causantes de la punta morada de la papa en Coahuila y Nuevo León, México. *Agricultura Técnica en México* 34, 141-150.
- Beltrán, B.M., Velásquez, V.R., Reveles, H.M., 2011. Avances de investigación en la bioecología de trips en Chile (*Capsicum annuum* L.) en Zacatecas. *Agrofaz* 11, 7-12.
- Bertaccini, A., Duduk, B., 2009. Phytoplasma and phytoplasma diseases: a review of recent research. *Phytopathologia Mediterranea* 48, 355-378.
- Black, L.L., Green, S.K., Hartman, G.L., Poulos, J.M., 1991. Pepper diseases. A field guide. Asian Vegetable Research and Development Center. AVRDC Publication No. 91-347. 98 p.
- Bujanos, M.R., Marín, J.A., 2012. Manejo integrado de plagas que atacan al cultivo del Chile en México. p. 151 – 183. *In: Cultivo del Chile en México.* (J. A. Zegbe D., R. D. Valdez D., A. Lara H.). México, D. F. 183 p.
- Camacho-Tapia, M., Rojas-Martínez, R.I., Zavaleta-Mejía, E., Hernández-Deheza, M. G., Carrillo-Salazar, J.A.; Rebollar-Alviter, A., Ochoa-Martínez, D.I., 2011. Etiology of chili pepper variegation from Yurecuaro, Mexico. *Journal of Plant Pathology* 93, 331-335.

- Cerkauskas, R., 2004a. Alfalfa Mosaic Virus. Fact Sheet. Asian Vegetable Research and Development Center. AVRDC Publication 04-590. 2p.
- Cerkauskas, R., 2004b. Cucumber Mosaic Virus. Fact Sheet. Asian Vegetable Research and Development Center. AVRDC Publication 04-593. 2p.
- Cerkauskas, R., 2004c. Pepper Mottle Virus. Fact Sheet. Asian Vegetable Research and Development Center. AVRDC Publication 04-591. 2p.
- Christensen, N.M., Axelsen, K.B., Nicolaisen, M., Schulz, A., 2005. Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Trends in Plant Science* 10, 526-535.
- Chew, M.I.Y., Vega, P.A., Palomo, R.M., Jiménez, D.F., 2008. Principales enfermedades del Chile (*Capsicum annuum* L.). Folleto Técnico Núm. 15. Campo Experimental La Laguna – INIFAP. Torreón, Coahuila, México. 32 p.
- Creamer, R., Carpenter, J., Rascon, J., 2003. Incidence of the beet leafhopper, *Circulifer tenellus* (Homoptera:Cicadellidae) in New Mexico Chile. *Southwestern Entomologist* 28, 177-182.
- Delgado, S.S., 1974. Los virus que atacan al cultivo del Chile en México; sus implicaciones, identificación, transmisión y medidas de combate. *Agricultura Técnica en México* III, 317-325.
- Demski, J.W., 1981. Tobacco mosaic virus is seedborne in pimiento peppers. *Plant Disease* 65, 723-724.
- Fereres, A., Pérez, P., Gemeno, C., Ponz, F., 1993. Transmission of Spanish pepper and potato-PVY isolates by aphid (Homoptera:Aphididae) vectors: Epidemiological implications. *Environmental Entomology* 22, 1260-1265.
- Garzón-Tiznado, J. A., Acosta-García, G., Torres-Pacheco, I., González-Chavira, M., Rivera-Bustamante, R.F., Maya-Hernández, V., Guevara-González, R.G., 2002. Presencia de los geminivirus, huasteco del Chile (PHV), texano del Chile variante Tamaulipas (TPV-T), y chino del tomate (VCdT), en los estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20, 45-52.

- Genda, Y., Sato, K., Nunomura, O., Hirabayashi, T., Ohnishi, J., Tsuda, S., 2005. Immunolocalization of *Pepper mild mottle virus* in *Capsicum annuum* seeds. *Journal of General Plant Pathology* 71, 238-242.
- Himmel, P.T., 2003. *Tobacco mosaic virus* and *Tomato mosaic virus*. P. 38-39. In: *Compendium of pepper diseases*. Ed. by K. Pernezny, P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg. The American Society of Phytopathology. St. Paul, MN, USA. 63 p.
- Johannesen, J., Albert, A., Imo, M., Maixner, M., 2011. Stolbur phytoplasma interaction with vector longevity in alternative plants. *Bulletin of Insectology* 64, S147-S148.
- Laviña, A., Aramburu, J., Moriones, E., 1996. Occurrence of tomato spotted wilt and cucumber mosaic viruses in field-grown tomato crops and associated weeds in northeastern Spain. *Plant Pathology* 45, 837-842.
- Levy, J., Ravindran, A., Gross, D., Tamborindeguy, C., Pierson, E., 2011. Translocation of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*', the Zebra chip pathogen, in potato and tomato. *Phytopathology* 101, 1285-1291.
- Liefting, L.W., Shaw, M.E., Kirkpatrick, B.C., 2004. Sequence analysis of two plasmids from the phytoplasma beet leafhopper-transmitted virescence agent. *Microbiology* 150, 1809-1817.
- Liefting, L.W., Sutherland, P.W., Ward, L.I., Paice, K.L., Weir, B.S., Clover, G.R.G., 2009. A new '*Candidatus Liberibacter*' species associated with diseases of solanaceous crops. *Plant Disease* 93, 208-214.
- Mcdonald, S.A., 2001. Epidemiology, aphid vectors, impact and management of tobacco etch virus in hot peppers in Jamaica. Ph. D. Thesis Dissertation. Virginia Polytechnic Institute and State University. 118 p.
- Mehle, N., Ravnkar, M., Seljak, G., Knapić, D., Dermastia, M., 2011. The most widespread phytoplasmas, vectors and measures for disease control in Slovenia. *Phytopathogenic Mollicutes* 1, 65-76.

- Méndez-Lozano, J., Torres-Pacheco, I., Fauquet, C.M., Rivera-Bustamante, R., 2003. Interaction between geminiviruses in a naturally occurring mixture: *Pepper huasteco virus* and *Pepper golden mosaic virus*. *Phytopathology* 93, 270-277.
- Mercado-Arteaga, V., Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., 2013. Presencia de fitoplasmas en adultos de *Aceratagallia* spp. y plantas de *Chenopodium* spp. en Zacatecas y Chihuahua, México. *Agrofaz* 13, 125-128.
- Munyaneza, J.E., Crosslin, J.M., Upton, J.E., 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera:Psyllidae) with “zebra chip”, a new potato disease in southwestern United States and Mexico. *Journal of Economic Entomology* 100, 656-663.
- Munyaneza, J.E., Sengoda, V.G., Buchman, J.L., Fisher, T.W., 2012. Effects of temperature on ‘*Candidatus Liberibacter solanacearum*’ and zebra chip potato disease symptom development. *Plant Disease* 96, 18-23.
- Muñoz-Valencia, V., Díaz-González, F., Manzano-Martínez, M.R., Toro-Perea, N., Cárdenas-Henao, H., 2013. Basal and induced thermotolerance to heat shocks in *Bemisia tabaci* biotype B (Hemiptera:Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomología* 39, 18-25.
- Murphy, A.F., Rondón, S.I., Jensen, A.S., 2012. Population dynamics of the beet leafhopper (Hemiptera:Cicadellidae) in the Columbia basin as influenced by abiotic variables. *Environmental Entomology* 41, 768-775.
- Nuez, F., Ortega, O.R., Costa, J., 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Reimpresión. Ed. Grupo Mundi-Prensa. Madrid, España. 607 p.
- Ormeño, J.N., Sepúlveda, P.R., 2005. Presencia de diferentes virus de pimiento (*Capsicum annuum* L.) en especies de malezas asociadas al cultivo. *Agricultura Técnica (Chile)* 65, 343-355.
- Perez, P., Collar, J.L., Avilla, C., Duque, M., Fereres, A., 1995. Estimation of vector propensity of Potato Virus Y (PVY) in open-field pepper crops of Central Spain. *Journal of Economic Entomology* 88, 986-991.
- Prakash, S., Singh, S.J., 2006. Insect transmitted viruses of peppers: a review. *Vegetable Science* 33, 109-116.

- Quiroz, E.C., Larraín, S.P., Sepúlveda, R.P., 2005. Abundancia estacional de insectos vectores de virosis en dos ecosistemas de pimiento en la región de Coquimbo, Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* 65, 3-19.
- Raccah, B., Gal-On, A., Eastop, V.F., 1985. The role of flying aphid vectors in the transmission of cucumber mosaic virus and potato virus Y to peppers in Israel. *Annals of Applied Biology* 106, 451-460.
- Recendez, A.M.M., Carrillo, T.J., Sánchez, V.S., Rivera, B.R., Alvarado, R.M., Fraire, V.S., 2011. Geminivirus, cucumovirus e infecciones mixtas en *Capsicum annuum* L. en Zacatecas. Memorias de resúmenes del XIV Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas, A. C. p. 167.
- Reddick, B.B., 2003. *Tobacco etch virus*. P. 38. *In: Compendium of pepper diseases*. Ed. by K. Pernezny, P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg. The American Society of Phytopathology. St. Paul, MN, USA. 63 p.
- Revels-Torres, L.R., Velásquez-Valle, R., Mauricio-Castillo, J.A., Salas-Muñoz, S., 2012. Detección de infecciones mixtas causadas por begomovirus y curtovirus en plantas de Chile para secado en San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 30, 155-160.
- Robles, H.L., González, F.A.C., Gill, L.E., Pérez, M.L., López, D.J.C., 2010. Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de Chile en México y análisis de las técnicas de detección. *Tecnociencia Chihuahua IV*, 72-86.
- Rodriguez-Alvarado, G., Fernandez-Pavia, S., Creamer, R., Liddell, C., 2002. *Pepper mottle virus* causing disease in Chile peppers in southern New Mexico. *Plant Disease* 86, 603-605.
- Safarova, D., Valova, P., Flidr, P., Navratil, M., 2011. Molecular identification of 16SrIII and 16SrXII phytoplasma groups in *Chenopodium album* in Czech Republic. *Bulletin of Insectology* 64, S85-S86.
- Santos-Cervantes, M., Chávez-Medina, J., Méndez-Lozano, J., Leyva-López, N., 2008. Detection and molecular characterization of two little leaf phytoplasma strains associated with pepper and tomato diseases in Guanajuato and Sinaloa. *Plant Disease* 92, 1007-1011.

- Svoboda, J., Cervena, G., Rodová, J., Jokes, M., 2006. First report of *Pepper mild mottle virus* in pepper seeds produced in the Czech Republic. *Plant Protection Science* 42, 34-37.
- Sepúlveda, R.P., Larraín, S.P., Quiroz, E.C., Rebufel, A.P., Graña, S.F., 2005. Identificación e incidencia de virus en pimiento en la zona centro norte de Chile y su asociación con vectores. *Agricultura Técnica (Chile)* 65, 235-245.
- Velásquez-Valle, R., Medina-Aguilar, M.M., Creamer, R., 2008. First report of *Beet mild curly top virus* infecting Chile pepper in north central Mexico. *Plant Disease* 92, 650.
- Velásquez, V.R., Mena, C.J., Amador, R.M.D., Reveles, H.M., 2009. El virus de la marchitez manchada del jitomate afectando Chile y jitomate en Zacatecas. Folleto Técnico No. 20. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP. Calera de V. R., Zacatecas, México. 24 p.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., Mena-Covarrubias, J., 2012a. Incidencia y sintomatología de cinco virus en parcelas comerciales de Chile seco en Aguascalientes, San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3, 381-390.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., Amador-Ramírez, M.D., Medina-Aguilar, M.M., Medina-García, G., 2012b. Presencia de *Circulifer tenellus* Baker y *Beet mild curly top virus* en maleza durante el invierno en el centro norte de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3, 813-819.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., Reveles-Hernández, M., 2013. Presencia de virus no persistentes en almácigos de Chile y maleza invernal en Zacatecas, México. *Memorias. 10<sup>A</sup> Convención Mundial del Chile*. p. 104-109.
- Young, D.A., Frazier, N.W., 1954. A study of the leafhopper genus *Circulifer* Zakhvatkin (Homoptera:Cicadellidae). *Hilgardia* 23, 25-52.

## CAPITULO 8

### LOS GEMINIVIRUS Y EL CULTIVO DE CHILE

Ángela María Chapa-Oliver<sup>1</sup>

Laura Mejía-Teniente

Mario M. González-Chavira<sup>2</sup>

#### Introducción

México es el primer exportador de chile verde a nivel mundial y el sexto de chile seco, en el 2013 se sembraron más de 136 mil hectáreas en el país con un valor de la producción de 14.6 miles de millones de pesos, es uno de los cultivos de mayor importancia económica y generador de 200 a 350 jornales por hectárea y de 30 a 50 millones de empleos en el territorio (SIAP, 2014).

El cultivo del chile se ve seriamente afectado por patógenos como bacterias (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*), hongos (*Fusarium* spp, oomycetos (*Phytophthora capsici* Leo.) y virus (geminivirus); reduciendo la producción y por ende las ganancias de este cultivo. Siendo las enfermedades de etiología viral las que han causado daños de hasta el 10% en la producción nacional (Barrera-

---

<sup>1</sup> Investigadora Invitada Universidad Autónoma de Querétaro;

<sup>2</sup> Investigador del Programa de Chile, Campo Experimental Bajío - INIFAP.

Pacheco *et al.*, 2008). Estas pérdidas son variables año con año, y han estado en función de las condiciones climáticas, manejo del cultivo, control químico y cultural de insectos y malezas llegando en algunos casos a alcanzar pérdidas del 100% (Pérez-Moreno *et al.*, 2004). Cabe destacar, que los Geminivirus representan un factor limitante en la producción mundial de varios cultivos incluyendo maíz, yuca, frijol, calabaza, cucurbitáceas y tomate, producidos en las zonas tropicales y subtropicales del mundo (Lugo-Melchor *et al.* 2011). La distribución global de geminivirus está directamente relacionada con el vector polífago, *Bemisia tabaci* Genn., se estima que esta especie de mosca blanca es capaz de tomar alrededor de 500 plantas como hospederas alrededor del mundo (Morales y Anderson, 2001) y se ha encontrado con una invasividad de hasta 200 km de radio (Deying *et al.*, 2006).

Los geminivirus y *B. tabaci* previamente coexistieron durante muchas décadas en América Latina sin afectar a especies de plantas cultivables. Sin embargo, esta coexistencia con el principal vector transmisor ha generado hoy en día que América Latina sea la región más afectada en cuanto a número total de geminivirus aparecidos, número de cultivos afectados, pérdidas en el rendimiento y áreas agrícolas devastadas por este patógeno (Morales y Anderson, 2001). En la actualidad cinco millones de hectáreas de tierras destinadas a la

agricultura primaria en 20 países están bajo el ataque de 30 geminivirus diferentes. En México, a los geminivirus se les ha asociado con numerosas enfermedades en cultivos de importancia económica como frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.), chile (*Capsicum annuum* L.), calabaza (*Cucurbita* spp.), entre otros, y son transmitidos a través de la mosca blanca. Los daños por virus se pueden incrementar rápidamente en los cultivos cuando no se cuenta con un diagnóstico certero, oportuno y confiable, razón por la cual los productores en muchos casos no manejan de manera adecuada las estrategias de control para estas enfermedades (Lugo-Melchor et al. 2011).

De acuerdo al contexto descrito, en el presente capítulo se abordará la descripción general de los virus fitopatógenos, así como la descripción de las principales familias de virus asociadas con enfermedades del cultivo de Chile como la familia **Bromoviridae**, **Comoviridae**, **Potyviridae**, **Virgaviridae** y finalizando con la familia **Geminiviridae** que es la causante de las principales enfermedades virales que afectan a esta solanácea.

## **Virus Fitopatógenos**

Los virus son entidades biológicas capaces de autorreplicarse haciendo uso del mecanismo celular del hospedero y produciendo copias del virus original. Se consideran agentes potencialmente patógenos, el material genético del cual se constituyen puede ser ADN o ARN y con base al número de cadenas que lo componen, se clasifican en monocatenarios (cadena sencilla) o bicatenarios (de doble cadena). Tienen una cubierta proteica denominada cápside y en algunos casos también se puede encontrar una bicapa lipídica que los rodea cuando se encuentran fuera de la célula denominada envoltura vírica (Vega-Arreguin y Rivera-Bustamante, 2001).

Los virus fitopatógenos se pueden transmitir por diferentes vías. Sin embargo, la transmisión por insectos vectores es la que tiene mayor incidencia y eficacia. Poseen genomas relativamente pequeños. El 90% de los virus de plantas tienen genomas de ARN mientras que el 10% restante posee genomas de ADN. En general, los virus de ARN tienen su ciclo en el citoplasma mientras que los virus de ADN pueden tener su replicación asociada al núcleo. De esta manera, los virus de ADN presentan mecanismos de regulación similares a los de la planta hospedera, mientras que los virus de ARN tienen mecanismos de regulación generalmente diferentes (Vega-Arreguin y Rivera-

Bustamante, 2001). Su replicación depende de los procesos metabólicos y reguladores de las plantas y de forma generalizada, los ciclos de infección de este tipo de virus tienen dos fases (William *et al.*, 1992):

- 1) Replicación del virus dentro de las células y la expansión de la infección a través de la planta y,
- 2) La fase del virón donde el virus es transmitido de una planta a otra por medio de vectores.

El rango hospedero de los virus fitopatógenos es específico y limitado. Entendiéndose como hospedero, una planta a la que el virus puede infectar y dentro de la cual puede replicarse. Los “Hospederos Naturales”, son especies de plantas silvestres o cultivadas que pueden encontrarse infectadas (Holmes, 1996). La mayoría de estos virus se mueven de planta a planta utilizando insectos vectores, otros son acarreados con la semilla y otros pocos son transmitidos mediante daño mecánico. En plantas han sido descritos más de 1000 virus diferentes, aunque son pocos los que de forma cíclica causan pérdidas económicas en Chile (Golbach y Peters, 1994). Algunos ejemplos son: el virus jaspeado del tabaco (TEV), virus mosaico del pepino (CMV), virus mosaico del tabaco (TMV), virus huasteco del Chile (geminivirus) y la presencia de un nuevo virus, el del mosaico clorótico del Chile

dulce, detectado en Sinaloa y Sonora y que ha causado fuertes daños en los chiles tipo bell y ancho (Garzón-Tiznado, 2010).

Aunado a lo anterior, las enfermedades ocasionadas por virus son difíciles de diagnosticar únicamente observando la sintomatología, debido a que existe mucho traslape en los síntomas presentados. La expresión de síntomas se puede ver alterada por muchos factores entre los que se encuentran el cultivar, la edad de la planta hospedera, las condiciones ambientales, la nutrición de la planta, las diferencias entre cepas y la presencia de mezclas de virus. Dentro de los virus que infectan al cultivo de Chile se encuentran miembros de las familias Bromoviridae (Virus del mosaico de la Alfalfa, Virus del mosaico del pepino), Comoviridae (Virus de la mancha anular del tabaco), Potyviridae (Virus del moteado de la vena del Chile; Virus del moteado del Chile; Virus de la papa Y; Virus del jaspeado del tabaco), Virgaviridae (Virus del moteado atenuado del Chile; Virus del mosaico del tabaco) y Geminiviridae (Virus del género *Begomovirus* principalmente).

## **Familias de virus fitopatógenos con incidencia en el cultivo de Chile**

### **Familia Bromoviridae**

#### **Virus del mosaico de la alfalfa (*Alfalfa Mosaic Virus, AMV*)**

Pertenece al género *Alfavirus* y afecta a una amplia gama de cultivos y malezas. Es transmitido principalmente por áfidos, los cuales adquieren el virus pocos minutos después de alimentarse de las plantas infectadas. En las plantas de Chile, éste virus causa mosaicos en las hojas de un color amarillo brillante y ocasiona deformidad en los frutos cuando la planta se infecta en una edad temprana (Asteir *et al.*, 2006).

#### **Virus del mosaico del pepino (*Cucumber Mosaic Virus, CMV*)**

El CMV pertenece al género *Cucumovirus*. Es un virus cuya morfología consiste en tres partículas esféricas de aproximadamente 28 nm de diámetro cada una y cuyo genoma está compuesto de tres moléculas de ARN de cadena sencilla. Se tiene reportado que más de 80 especies de áfidos son capaces de transmitir el virus de manera no persistente siendo la proteína de la cápside el único determinante para la transmisión del virus por estos vectores. Este virus se encuentra distribuido mundialmente y posee un rango extremadamente amplio de

hospederos tanto en cultivos como en malezas. Siendo estas últimas posibles reservorios del virus (Hooks y Fereres, 2006)

Se han reportado brotes severos de la enfermedad en plantas de Chile sembradas cerca de cultivos susceptibles como la calabaza. Los síntomas foliares varían dependiendo de la etapa de la infección. Dentro de los síntomas iniciales se incluye una clorosis de las hojas jóvenes, la cual se puede presentar en la base de la hoja o sobre toda la hoja, existiendo además una distorsión de la misma. Las hojas que se desarrollan después de las que han mostrado clorosis, pueden presentar diversos grados de deformación incluyendo hundimiento de la lámina intervenal con venas primarias sobresalientes. Estas hojas poseen una apariencia opaca, de color verde claro, en contraposición con las hojas sanas que presentan un color verde más oscuro y brillante. En algunos casos puede causar defoliación, necrosis en puntos de crecimiento e incluso aborto de flor, disminuyendo el número de frutos en la planta. En plantas en floración causa necrosis de tejidos nuevos, provocando la caída de hojas jóvenes. Este patrón de síntomas varía en severidad dependiendo de la edad de la planta al momento de la infección siendo los más graves cuando la infección se da en plantas jóvenes (Pérez y Rico, 2004; Murphy, 2003).

### **Familia Comoviridae**

#### **Virus de la mancha anular del tabaco (*Tomato Ringspot Virus*, ToRSV)**

Pertenece al género *Nepovirus* e infecta plantas de Chile y tomate. Se encuentra distribuido en Norteamérica. Este virus se transmite por el nematodo *Xiphinema americanum* aunque en algunos hospederos se transmite por inoculación mecánica, semilla y polen de semilla. Las plantas de Chile infectadas presentan mosaicos, manchas anulares y en ocasiones se presentan necrosis sistémicas (Hull, 2002; Pérez y Rico, 2004)

### **Familia Potyviridae**

#### **Virus del moteado de la vena del Chile (*Pepper Veinal Mottle Virus* (ChiVMV))**

Este virus pertenece al género *Potyvirus*. Fue identificado en 1971 en un cultivo de Chile en Ghana. Su distribución en África incluye Ghana, Nigeria, la costa de Marfil, Kenia y Sudáfrica. Es transmitido por varias especies de áfidos. Este virus también infecta plantas de tomate. En el caso de las plantas de Chile, las hojas de las plantas infectadas presentan clorosis a lo largo de las venas principales, son pequeñas y se encuentran severamente distorsionadas (Robles-Hernández *et al.*, 2010).

### **Virus del moteado del Chile (*Pepper Mottle virus, PepMoV*)**

El PepMoV pertenece al género *Potyvirus* e infecta plantas de Chile y otras especies de la familia de las Solanáceas. Es transmitido por varias especies de áfidos y se ha encontrado al Sur de los Estados Unidos, California, México y parte de Centroamérica. Es uno de los virus más dañinos en los cultivos de Chile en esa región. Los cultivares susceptibles desarrollan un moteado severo en las hojas y generalmente es acompañado por la presencia de bandas verdes en las venas. Las hojas jóvenes inoculadas desarrollan un moteado que va desde moderado a pronunciado, ocasionando que estas hojas tiendan a ser pequeñas y frágiles en comparación con las hojas sanas (Murphy y Zitter, 2003).

### **Virus de la papa Y (*Potato virus Y, PVY*)**

Pertenece al género *Potyvirus*, se caracteriza porque es un virus filamentosamente flexible. Se transmite a través de tubérculos infectados de papa para semilla y a través de áfidos. Se ha reportado al PVY en Puebla, Toluca, Coahuila y Nuevo León y es considerado uno de los virus más dañinos en el cultivo de papa, aunque también infecta plantas de tomate y Chile. Los síntomas varían desde un moteado, que va de moderado a severo, hasta un rayado de la hoja el cual es el resultado

de las lesiones necróticas que se producen a lo largo de la nervadura (Pérez y Rico, 2004).

### **Virus del jaspeado del tabaco (*Tobacco Etch Virus*, TEV)**

Pertenece al género *Potyvirus*. Infecta plantas de chile, tabaco y tomate. Su insecto vector son varias especies de áfidos, sin embargo, es capaz de transmitirse mecánicamente y por semilla. Se encuentra diseminado en Norte y Centroamérica. En las plantas de chile ocasiona necrosis y enchinamiento de las hojas. Reduce el crecimiento de la planta y genera un mosaico intenso en tonos verde y amarillo. Los frutos se deforman y se tornan amarillentos reduciendo así la calidad (Reddick, 2003).

### **Familia *Virgaviridae***

#### **Virus del moteado atenuado del chile (*Pepper mild mottle virus*, PMMoV)**

Pertenece al género *Tobamovirus*. Su forma de transmisión es mediante desechos en el suelo, hojas y tallos, y semillas contaminadas. No se conoce aún un vector biológico. Este virus puede permanecer en el suelo en hojas infectadas, tallos y raíces durante meses. Se encuentra distribuido en todo el mundo. Las plantas de chile infectadas desarrollan síntomas leves, entre los que se encuentran el desarrollo

de moteados y mosaicos en las hojas que van del verde al amarillo. Los frutos de las plantas infectadas son pequeños y deformes (Robles-Hernández *et al.*, 2010).

### **Virus del mosaico del tabaco (*Tobacco Mosaic Virus*, TMV)**

Pertenece al género *Tobamovirus*. Infecta plantas de Chile, tomate y tabaco (*Nicotiana tabacum* L.). El TMV se transmite por contacto mecánico (operaciones de trasplante o roce entre plantas sanas y enfermas), por varias especies de áfidos y se ha reportado algunos casos de transmisión por semilla. En este caso el virus contamina la cubierta de la semilla y las plantas generadas a partir de estas semillas presentan la enfermedad. Los síntomas que presentan las plantas infectadas con este virus son la presencia de parches amarillos o verdes en las hojas. Las plantas infectadas producen poco y sus frutos presentan un mosaico amarillo y se encuentran distorsionados. En México este virus se ha localizado en Sinaloa en el valle de Culiacán y en Michoacán en Yurécuaro y Tanoato (Robles-Hernández *et al.*, 2010).

### **Familia *Geminiviridae***

Los geminivirus son virus de ADN de cadena sencilla y circular. Infechan una gran variedad de plantas, ocasionando pérdidas considerables en los cultivos alrededor del mundo. El genoma de estos virus es pequeño, con un tamaño que va desde los 2.5 a los  $3 \times 10^3$  nucleótidos y consiste en una (monopartita) o dos (bipartita) moléculas de ADN. Se caracterizan porque su genoma se encuentra empaquetado dentro de partículas gemelas las cuales están formadas por dos poliedros idénticos unidos lateralmente por una de sus caras (Torres-Pacheco *et al.*, 1996; Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013).

Los geminivirus se replican originando un gran número de copias y todos utilizan las mismas estrategias generales para replicarse y expresar su material genético (Yadava *et al.*, 2010; Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013). El caso de los geminivirus es diferente a la mayoría de los virus fitopatógenos, cuyo genoma es comúnmente ARN. A diferencia de estos virus, los cuales se multiplican en el citoplasma y codifican para su propia replicasa, los geminivirus se replican en el núcleo y los procesos de replicación y transcripción de su material genético dependen exclusivamente de la maquinaria de replicación (ADN y ARN polimerasas, factores transcripcionales, etc.) de la célula que infectan (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2004). El proceso de replicación se lleva a cabo

mediante el mecanismo de círculo rodante (RCR) el cual se realiza en dos etapas distintas. La primera etapa consiste en la conversión del ADN genómico de cadena sencilla en un intermediario de doble cadena. Este paso se lleva a cabo por la acción de enzimas celulares como la ADN primasa, y las  $\alpha$  y  $\delta$  ADN polimerasas (factores celulares del hospedero). La proteína Rep del geminivirus cataliza la iniciación y terminación de la replicación, al romper y ligar en sitios específicos el ADN viral. En la segunda etapa se generan nuevos intermediarios de ADN de doble cadena y ADN de cadena sencilla por el mecanismo de círculo rodante (Orozco y Hanley-Bowdoin, 1996; Castellano *et al.*, 1999; Gutierrez, 2002; Krupovic *et al.*, 2009).

## **Clasificación**

El Comité Internacional de Taxonomía de Virus clasifica a los geminivirus en 7 géneros. Esto con base en la organización de su genoma (mono ó bipartita), el insecto vector que los transmite y el hospedero al que infectan (mono ó dicotiledóneas). Así los geminivirus se clasifican en: *Mastrevirus* (29 especies), *Curtovirus* (3 especies), *Topocuvirus* (1 especie), *Begomovirus* (288 especies), *Becurtovirus* (2 especies) *Eragrovirus* (1 especie) y *Turncurtovirus* (1 especie) estos últimos 3 géneros son de reciente creación (Brown, 2008; Yadava *et al.*, 2010; Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013). Los nombres de cada uno de

estos géneros se derivan de la abreviación del nombre en inglés del organismo tipo *Maize streak virus* (MSV), *Beet curly top virus* (BCTV), *Tomato pseudo curly top virus* (TPCTV), *Bean golden mosaic virus* (BGMV), *Beet curly top Iran virus* (BCTIV), *Eragrostis curvula streak virus* (ECSV) y *Turnip curly top virus* (TCTV) respectivamente (Jeske, 2009; Varsani *et al.*, 2009; Briddon *et al.*, 2010a; Heydarnejad *et al.*, 2013; Varsani *et al.*, 2014). El primero de los géneros, los *Mastrevirus*, se caracterizan por poseer un genoma monopartita, infectar plantas monocotiledoneas y ser transmitidos por varias especies de chicharritas (*Cicadullina* spp). El virus del estriado del Maíz (MSV) es la especie tipo de este género. Los miembros de los géneros *Curtovirus* y *Topocuvirus* poseen todos sus genes organizados en una única molécula de ADN (monopartitas) e infectan plantas dicotiledóneas. La diferencia entre estos dos géneros reside en el insecto vector, los *Curtovirus* son transmitidos por varias especies de chicharritas mientras que los *Topocuvirus* son transmitidos por mosquita blanca (*B. tabaci*).

El último género, los *Begomovirus*, incluye a la mayoría de las especies en la familia y es el conjunto más numeroso e importante por su patogenicidad en México y el mundo. Poseen genomas bipartitas y sus genes se encuentran distribuidos en dos moléculas separadas de

ADN denominadas componente A y B respectivamente. Estas moléculas son de cadena sencilla y circular y se necesita de ambas para que se produzca la infección. Los *Begomovirus* son transmitidos exclusivamente por la mosquita blanca (*B. tabaci*) e infectan plantas dicotiledóneas, y dentro de esta familia son el género que ocasiona mayores daños a los cultivos y por lo tanto mayores pérdidas económicas, como a continuación se describe (Torres-Pacheco *et al.*, 1996a; Brown, 2008; Krupovic *et al.*, 2009; Briddon *et al.*, 2010b).

### **Impacto económico de los begomovirus**

Los begomovirus, son considerados uno de los grupos más grandes y eficientes de virus de plantas, dado que infectan un amplio rango de cultivos económicamente importantes, como la cassava, el algodón, el frijol, el chile, el jitomate, el melón, entre otros (Simone *et al.*, 1990; Brown y Bird, 1992; Polston y Anderson, 1997; Moriones y Navas-Castillo, 2000). Estos virus se han incrementado en número, distribución e importancia en las últimas décadas. En Latinoamérica los begomovirus están presentes en más de 22 países, desde la frontera entre México y EEUU hasta el sur de Brasil y el norte de Argentina y en ecosistemas que van desde desiertos hasta bosques tropicales (Morales, 2006). En el contexto global, América Latina ha sido la región más afectada en términos de números totales de

geminivirus transmitidos por la mosquita blanca, el número de cultivos afectados, las pérdidas en la producción y el área devastada por estos patógenos. Morales y Anderson (2001) reportaron que alrededor de cinco millones de hectáreas de plantas cultivables se vieron afectadas por la infección de 30 begomovirus en 20 países.

En México a los geminivirus se les ha asociado con numerosas enfermedades en cultivos de importancia económica como, frijol, tomate, chile y calabaza. Su distribución en nuestro país es muy amplia, debido a que el insecto vector que los transmite (*B. tabaci*), es de rápida proliferación (Torres-Pacheco *et al.*, 1996). Así mismo, en México como en diversos países tropicales y subtropicales, los problemas geminivirales se deben más a un complejo provocado por la presencia de varios geminivirus que a un solo agente.

Durante el periodo 1991-92 en Mexicali y Sonora fueron afectadas 1400 ha de algodón y 1500 ha de melón respectivamente reflejando una pérdida económica de US\$ 10,000,000; mientras que en 1995 la superficie hortícola sembrada en Jalisco, Guanajuato y San Luis Potosí, se vio seriamente afectada con 30 a 40 % de pérdidas en la producción (López, 1996). En los estados de México, Puebla, Morelos y Sinaloa el cultivo de tomatillo se vio afectado por la

sintomatología causada por geminivirus con una incidencia del 60 a 100 % en el cultivo y pérdidas en el rendimiento de frutos del 30 a 100 % (Torres-Almaráz *et al.*, 2002). En el mismo año una epidemia viral en Sinaloa afectó los cultivos de chile dulce con una incidencia entre un 20 a un 70 %, generando pérdidas totales de \$65 millones de pesos (Inoue *et al.*, 2002). En el mismo estado durante el periodo 2005-2006 el cultivo de jitomate presentó pérdidas por la destrucción de más de 1000 hectáreas ocasionadas por enfermedades de etiología viral y transmitidas por mosquita blanca (SAGARPA, 2014).

En el cultivo chile se identificaron al virus del mosaico dorado del chile (*Pepper Golden Mosaic Virus*, PepGMV) previamente llamado virus texano del chile (TPV) y el virus vena amarilla del chile (*Pepper Huasteco Yellow Vein Virus*, PHYVV) previamente llamado virus huasteco del chile (PHV) (Garzón-Tiznado *et al.*, 1993; Urias y Alejandro, 1999). Ambos geminivirus se localizan en el norte, sur y centro de nuestro país y afectan diversas variedades de chile de interés comercial, generando pérdidas que giran entre un 20 y 100 % de la producción total (Torres-Pacheco *et al.*, 1996). En el centro de México, específicamente en los estados de Guanajuato, San Luis Potosí y Jalisco se determinó por métodos moleculares (Southern y PCR) la presencia, distribución y hospederos alternos de los

geminivirus PHYVV y PepGMV. El PHYVV fue el geminivirus con mayor frecuencia con una incidencia del 70 % de reacciones positivas de las muestras analizadas, mientras que el PepGMV y la mezcla de ambos tuvieron una incidencia del 19 y 11 % de reacciones positivas respectivamente (Garzón-Tiznado *et al.*, 2002).

### **Enfermedad del rizado amarillo del chile (PHYVV y PepGMV)**

En México, la primera enfermedad asociada a geminivirus fue el "rizado amarillo del chile" detectada en el Sur de Tamaulipas en 1989 en el cultivo de chile, enfermedad causada por los virus PHYVV y PepGMV. Ambos virus son begomovirus bipartitas, que se encuentran ampliamente distribuidos en áreas hortícolas de México y Sur de los Estados Unidos. En México, se les ha encontrado provocando infección en chile, tomate, tomatillo y tabaco (Torres-Pacheco *et al.*, 1996; Ascencio-Ibáñez *et al.*, 2002). El geminivirus PHYVV fue aislado por primera vez al sur de Tamaulipas por Garzón-Tiznado (1993) y caracterizado molecularmente por Torres-Pacheco (1993). Ha sido identificado mediante técnicas moleculares en Sinaloa, Tamaulipas, Quintana Roo, Guanajuato, San Luis Potosí y Jalisco (Torres-Pacheco *et al.*, 1993; Garzón-Tiznado *et al.*, 2002). Mientras que el PepGMV fue reportado por primera vez en *C. annuum*, en Texas, Estados Unidos por Stenger (1990). Los síntomas generalmente asociados al PHYVV

son distorsión foliar (patrones de mosaico), amarillamiento, enchinamiento y arrugamiento de las hojas, enanismo de las plantas y una fuerte disminución en la producción del fruto (Torres-Pacheco, 1996).

Por otro lado, la sintomatología provocada por el PepGMV suele ser más severa que la causada por el PHYVV cuando infectan de manera individual, sin embargo, se ha observado que durante infecciones que involucran la mezcla de ambos begomovirus la severidad del PepGMV se ve reducida por el PHYVV (Ascencio-Ibáñez *et al.*, 2000). En trabajos previos se ha demostrado un sinergismo a nivel de síntomas en infecciones mixtas con estos virus en plantas de chile y tabaco exponiendo daños más severos (Méndez Lozano *et al.*, 2003), como los síntomas de la enfermedad del rizado amarillo del chile, que se caracteriza por presentar rizado en las hojas, amarillamiento intervenal, rugosidad, modelos de mosaicos, distorsión foliar y en una severidad mayor puede generar disminución en el crecimiento de la planta, provocando un bajo rendimiento en la producción (Garzón-Tiznado *et al.*, 1993; Torres-Pacheco *et al.*, 1996).

**Virus de la hoja enrollada del tomate (*Tomato Leaf Curl Virus*, TLCV)**

El virus de la hoja enrollada del tomate (*Tomato Leaf Curl Virus*, TLCV) es un begomovirus transmitido principalmente por mosquita blanca en el modo persistente o circulante. También es transmitido por otras especies de la misma familia que la mosquita blanca (Aleyrodidae) tales como *Aleurotrachelus socialis* Bondar, *Trialeurodes natalensis* Corbett y *Bemisia tuberculata* Bondar. La sintomatología que presenta es enrollamiento de los folíolos clorosis marcada del limbo que toma un aspecto arrugado y deformado. En las plantas viejas, las hojas son a veces quebradizas. El crecimiento de las plantas jóvenes infectadas tiene amplia reducción (OEIDRUS-SAGARPA, 2014). Las plantas con este virus a los 40 días presentan una atrofia o enanismo. Las hojas suelen doblarse hacia abajo y estar rígidas, de aspecto más grueso de lo normal, tienen una textura coreosa y con frecuencia tienen un tinte púrpura a las venas en la parte inferior. Las hojas jóvenes son ligeramente cloróticas (amarillentas), mientras que las flores aparecen de forma normal y los frutos que se llegan a producir, son pequeños, secos y no pueden venderse. Las plantas afectadas tienden distribuirse al azar.

### **Virus chino del tomate (CdTV)**

Es un begomovirus que infecta tanto al cultivo de chile como del tomate, a través del insecto vector *B. tabacci* o la *B. argentifoli*. La sintomatología característica es enrollamiento y enchinamiento de las hojas, amarillamiento intervenal de la hojas recién infectadas y color púrpura de las hojas viejas. Las plantas pueden ser severamente atrofiadas y deformadas si se infectan en una etapa temprana, y como resultado se reduce drásticamente la producción de frutos (Laufs et al., 1995).

### **Estrategias de control para geminivirus**

Las infecciones virales producen pérdidas económicamente significativas de manera directa, a través de una disminución del rendimiento por efecto de la enfermedad e indirectamente, a través de un incremento en los costos debido a la utilización de semilla libre de virus. En la actualidad casi ninguna variedad comercial de hortalizas presenta resistencia contra geminivirus transmitidos por la mosquita blanca (Guigón-López *et al.*, 2007) cuyos factores determinantes para su ciclo de vida incluyen condiciones climáticas como temperatura, lluvia y humedad relativa siendo entre 15 y 25 °C la temperatura a la cual se desarrolla de manera óptima, provocando así una mayor incidencia de mosquita durante los meses más calurosos, sobre todo si

hay presencia de cultivos susceptibles y eliminación de enemigos naturales por el abuso de plaguicidas. Por lo tanto, la probabilidad de adquirir y transmitir begomovirus de plantas silvestres o cultivadas, aumenta proporcionalmente a la magnitud de los factores anteriores, esto de acuerdo con el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT, 2006).

Por lo tanto, las estrategias de control para geminivirus están dirigidas básicamente al control del insecto vector a través del control físico, químico, biológico y cultural. Sin embargo una de las estrategias más factibles para el control de geminivirus es sin duda el control genético, el cual implica el uso de variedades de cultivos tolerantes o resistentes a los virus transmitidos por la mosquita blanca. Este método de control puede usarse sin afectar la producción bajo la incidencia de la enfermedad sin tener pérdidas en el rendimiento (Aranda-Rocha, 2000; CIAT, 2006; SAGARPA, 2014).

El control físico se refiere al uso de trampas amarillas pegajosas, al uso de barreras en el cultivo por medio de invernaderos protegidos y cubiertas flotantes de telas sintéticas contra insectos (Morales *et al.*, 2006; SAGARPA, 2014). Por otra parte, el control químico se basa en la aplicación de insecticidas, los cuales reducen

las poblaciones adultas de mosquita blanca pero no afectan los huevos o estados inmaduros que se encuentran en el envés de la hoja que les sirve de protección. El control biológico por su parte, se refiere al uso de insectos depredadores y organismos entomopatógenos. Los depredadores más empleados son parasitoides del orden Hymenoptera, como las avispas del género *Amitus*, *Encarsia*, *Eretmocerus*; entre los hongos entomopatógenos más empleados se encuentran *Verticillium lecanii* Zimm., *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin , *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith y *Aschersonia* spp; sin embargo uno de los principales problemas de los agentes de control biológico es que no actúan con la suficiente rapidez para reducir las poblaciones de mosquita blanca, aunado a que el uso intensivo de plaguicidas para el control de este vector hace que los organismos benéficos no sean efectivos, así que mientras no se minimice el uso de plaguicidas y se restablezca el equilibrio ecológico, la acción de los enemigos naturales será muy limitada (Morales *et al.*, 2006). Finalmente, el control cultural se basa en la rotación de cultivos, cambio de la fecha de siembra, eliminación de residuos de cosecha y plantas silvestres, así como el uso de cultivos que actúen como barreras (p. ej. maíz y sorgo), al empleo de cultivos trampa y cultivos asociados que actúan como repelentes; y al uso de materiales reflectivos para cobertura del suelo (Morales *et al.*, 2006).

En general, estas prácticas de control dirigidas al insecto vector se consideran poco efectivas, de alto costo e incluso algunas de ellas pueden resultar perjudiciales para el control biológico. Por lo que el control genético basado en la búsqueda de resistencia genética, sigue siendo una de las mejores alternativas para el control de geminivirus, debido a que es una estrategia fácil de adoptar y de bajo costo (Morales *et al.*, 2006). Sin embargo, aun cuando es una estrategia prometedora, uno de los inconvenientes resulta del hecho de la alta frecuencia de recombinación que poseen los begomovirus en donde se han descrito ejemplos en los que eventos de recombinación entre y dentro de una especie han dado lugar a la aparición de variantes más virulentas como es el caso del complejo de virus de la enfermedad TYLCD cuyas poblaciones presentan rápidas dinámicas debidas a efectos de recombinación por lo que la búsqueda de resistencia genética se vuelve complicada (Moriones y Navas-Castillo, 2008).

### **Estrategias de ingeniería genética para conferir resistencia a virus en plantas**

La ingeniería genética permite incorporar en las plantas nuevos caracteres de interés agrícola en forma horizontal, evitando así el traspaso de caracteres indeseables. De esta forma, la variedad

transgénica adquiere un carácter nuevo al tiempo que mantiene intactos el fondo genético y el potencial productivo original, lo que permite encarar el mejoramiento rápido de cultivares ya utilizados por el agricultor (del Vas *et al.*, 2004). En un sentido más amplio existen dos formas generales para conferir la resistencia a virus en plantas, una puede ser la técnica de protección cruzada que consiste en la prevención del desarrollo de enfermedades virales utilizando genes derivados del patógeno, esto mediante el desencadenamiento de resistencia por la expresión de secuencias genómicas derivadas del propio virus al que se desea combatir (llamada también resistencia derivada del patógeno) o bien, desencadenando resistencia mediante la expresión de genes no-virales que poseen actividad antiviral, conocida también como resistencia derivada del hospedero (del Vas *et al.*, 2004; Guevara-Olvera *et al.*, 2013).

## Literatura Citada

- Aranda-Rocha, L.L., 2000. Uso de marcadores moleculares SCAR para el mejoramiento de la resistencia al virus del mosaico dorado amarillo en frijol común. Tesis de Licenciatura. Ciencia y producción agrícola. Zamorano. Tegucigalpa, Honduras. Enlace: [http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis\\_infolib/2000/T1163.pdf](http://zamo-oti-02.zamorano.edu/tesis_infolib/2000/T1163.pdf)
- Ascencio-Ibáñez, J.T., Monsalve-Fonnegra, Z.I., Pruna-Camacho, M.B., Díaz-Plaza, R., Rivera-Bustamante, R.F., 2000. Los Geminivirus. Revista Mexicana de Fitopatología 17, 113-127.
- Asencio-Ibáñez, J.T., Arguello-Acosta G.R., Méndez-Lozano J., Rivera-Bustamante R.F., 2002. First report of *Rhynchosia* golden mosaic virus (RhGMV) infecting tobacco in Chiapas, Mexico. Plant Disease 86, 692.
- Astier, S., Albouy, J., Maury, Y., Robaglia, C., Lecoq, H., 2006. Principles of plant virology; genome pathogenicity, virus ecology. First edition. Science Publishers 472 p.
- Barrera-Pacheco, A., Joaquín-Ramos, A.J., Torres-Pacheco, I., González-Chavira, M.M., Pérez-Pérez, M., Guevara-Olvera, L., R. Guevara-González, R.G., 2008. Análisis de la expresión transcripcional inducida bajo condiciones de estrés biótico y abiótico en *Capsicum chinense* BG-3821. Agrociencia 42, 95-106.
- Bridson, R.W., Heydarnejad, J., Khosrowfar, F., Massumi, H., Martin D.P., Varsani A., 2010a. Turnip curly top virus, a highly divergent geminivirus infecting turnip in Iran. Virus Research 152, 169-175.
- Bridson, R.W., Patil B.L., Bagewadi B., Nawaz-ul-rehman M.S., Fauquet C.M., 2010b. Distinct evolutionary histories of the DNA-A and DNA-B components of bipartite begomoviruses. BMC Evol. Biol. 10, 97-114.
- Bridson, R.W., Pinner, M.S., Stanley, J., Markham, P.G., 1990. Geminivirus coat protein gene replacement alters insect specificity. Virology 177, 85-94.
- Brown J. K., 2008. Plant resistance to viruses: Geminiviruses. In Desk Encyclopedia of Plant and Fungal Virology. Academic Press 2010. pp 52-58.

- Brown, J.K., Bird, J., 1992. Whitefly transmitted geminiviruses and associated disorders in the Americas and Caribbean basin. *Plant Disease* 76, 220-225.
- Castellano M.M., Sanz-Burgos, A.P., Gutiérrez, C. 1999. Initiation of DNA replication in a eukaryotic rolling-circle replicon: identification of multiple DNA-protein complexes at the geminivirus origin. *J. Mol. Biol.* 290, 639-652.
- del Vas, M., Distéfano, A.J., Vazquez-Rovere, C., Hopp, H.E., 2004. *Biología y Mejoramiento Vegetal. Parte VII, Capítulo 4: Técnicas de Ingeniería Genética para Conferir Resistencia a Virus en Plantas.* Editado por Echenique V., Rubinstein C. y Mroginski L. Ediciones INTA, pag. 293-303, 2004. ISBN 987-521-138-9. Enlace: <http://www.inta.gov.ar/ediciones/2004/biotec/biotec.htm>
- Deying, M., Gorman, K., Devine, G., Luo, W., Denholm, I., 2006. The biotype and insecticide-resistance status of whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera:LEYRODIDAE), invading cropping systems in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Northwestern China. *Crop Protection* 26, 612-617.
- Fondong, V.N., 2013. Geminivirus protein structure and function. *Mol. Plant Pathol.* 14, 635-649.
- Fontes, E.P., Gladfelter, H.J., Schaffer, R.L., Petty, I.T., Hanley-Bowdoin, L., 1994. Geminivirus replication origins have a modular organization. *Plant Cell* 6, 405-416.
- Garzón-Tiznado, J.A., Torres-Pacheco, I., Ascencio-Ibáñez, J.T., Herrera-Estrella, L., Rivera-Bustamante, R., 1993. Infection of peppers with infectious clones of a new geminivirus by a biolistic procedure. *Molecular Plant Pathology*. 83, 514-521.
- Garzón-Tiznado, J.A., 2010. Enfermedades (Por virus y organismos tipo bacteria) del Chile y tomate en México. *Manual Técnico*, p. 49. Bayer de México, S.A. de C.V.
- Garzón-Tiznado, J.A., Acosta-García G., Torres-Pacheco I., González-Chavira M., Rivera-Bustamante R.F., Maya-Hernández V., Guevara-González, R.G., 2002. Presencia de los Geminivirus, Huasteco del Chile (PHV), Texano del Chile variante Tamaulipas (TPV-T), y Chino del tomate (VCdT), en los estados de Guanajuato, Jalisco y San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 20, 45-52.

- Goldbach, R.W., Peters, D., 1994. Possible causes of the emergence of Tosspovirus diseases. *Seminars in Virology* 5, 113-120.
- Green, S.K., 2003. Pepper mild mottle virus. *Compendium of pepper diseases*. APS PRESS. pp 32-33.
- Guevara-Olvera, L., Ruíz-Nito, M.L., Rangel-Cano, R.M., Torres-Pacheco, I., Rivera-Bustamante, R.F., Muñoz-Sánchez, C.I., González-Chavira, M.M., Cruz-Hernandez, A., Guevara-González, R.G., 2012. Expression of a germin-like protein gene (CchGLP) from a geminivirus-resistant pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) enhances tolerance to geminivirus infection in transgenic tobacco. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 78, 45–50.
- Guigón-López, C., González-González P.A., 2007. Manejo de plagas en el cultivo de Chile y su impacto ambiental en la zona agrícola de Jiménez-Villa López, Chihuahua, México. *Medio ambiente y desarrollo sustentable. Tecnociencia Chihuahua.* 1, 36-47.
- Gutierrez, C., 2002. Strategies for geminivirus DNA replication and cell cycle interference. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 60, 219-230.
- Hanley-Bowdoin, L., Bejarano, E.R., Robertson D., Mansoon, S., 2013. Geminiviruses: master at redirecting and reprogramming plant processes. *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 777-789.
- Hanley-Bowdoin, L., Settlage, S.B., Robertson, D., 2004. Reprogramming plant gene expression: a prerequisite to geminivirus DNA replication. *Mol. Plant Pathol.* 5, 149-156.
- Heydarnejad, J., Keyvani, N., Razavinejad, S., Massumi, H., Varsani, A., 2013. Fulfilling Koch's postulates for beet curly top virus and proposal for consideration of new genus in the family Geminiviridae. *Archives of Virology* 158, 435-443.
- Holmes, F.O., 1996. A comparison of the experimental host range of tobacco etch and tobacco mosaic viruses. *Phytopathology* 36, 643-659.

- Hooks, C.R.R., Fereres, A., 2006. Protecting crops from non-persistently aphid-transmitted viruses: a review on the use of barrier plants as a management tool. *Virus Research* 120, 1-16.
- Hull, R., 2002. *Plant virology*. Fourth edition. Academic Press. San Diego, California. 1001 p.
- Inoue-Nagata, A.K., Fonseca, M.E.N., Resende, R.O., Boiteux, L.S., Monte, D.C., Dusi, A.N., Avila, A.C., van del Vlug, R.A.A., 2002. *Pepper yellow mosaic*, a new potyvirus in sweetpepper, *Capsicum annuum*. *Archives of Virology*. 147, 849-855.
- Jeske, H., 2009. Geminiviruses. In: E.M Villiers and H. zur Hausen (Ed.). *TT Viruses: The Still Elusive Human Pathogens*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* Springer Verlag Berlin Heidelberg. p185.
- Krupovic, M., Ravantti, J.J., Bamford, D.H., 2009. Geminiviruses: a tale of a plasmid becoming a virus. *BMC Evol. Biol.* 9, 112-122.
- Laufs, J., Jupin, I., David, C., Schumacher, S., Heyraud-Nitschke, F., Gronenborn, B., 1995. Geminivirus replication: genetic and biochemical characterization of Rep protein function, a review. *Biochimie* 77, 765-773.
- López, R., 1996. Experiencia sobre el control integral de la mosca blanca *Bemisia tabaci* en el distrito de desarrollo rural 002, Río Colorado, Sonora. In: *Resumen, Taller de Moscas Blancas*, Acapulco, MX. p. 162.
- Lugo-Melchor, O.F., Guzmán-Urriarte, R., García Estrada, R.S., León Félix, J., 2011. Geminivirus Transmitidos por Mosca Blanca (*Bemisia tabaci*) en Tomate, en el Valle Agrícola de Culiacán, Sinaloa. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 29, 109-118.
- Méndez-Lozano, J., Torres-Pacheco, I., Fauquet, C. M., Rivera-Bustamante, R. F., 2003. Interactions Between Geminiviruses in a Naturally Occurring Mixture: *Pepper huasteco virus* and *Pepper golden mosaic virus*. *Phytopathology*. 93, 270-277.
- Morales, F.J., 2006. History and current distribution of megomoviruses in Latin America. *Advances in Virus Research* 67, 127-162.

- Morales, F.J., Anderson, P.K., 2001. The emergence and dissemination of whitefly transmitted geminiviruses in Latin America. *Archives of Virology*. 146, 415-441.
- Morales, F.J., Cardona M.C., Bueno, J.M., Rodríguez T.I.V., 2006. Manejo integrado de enfermedades de plantas causadas por virus transmitidos por moscas blancas. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Publicación CIAT No. 351. Cali, Colombia.
- Moriones, E., Navas-Castillo, J., 2008. Rapid evolution of the population of begomoviruses associated with the tomato yellow leaf curl disease after invasion of a new ecological niche. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 6, 147-159.
- Moriones., E., Navas Castillo, J., 2000. Tomato yellow leaf curl virus, an emerging virus complex causing epidemics worldwide. *Virus Research* 71, 123- 134.
- Murphy, J.F., Zitter, T. A., 2003. Pepper mottle virus. *Compendium of pepper diseases*. APS PRESS. Pp 33-34.
- Murphy, J.F., 2003. Cucumber mosaic virus. *Compendium of pepper diseases*. APS PRESS. 29-31 pp.
- Pérez, M.L., Rico, J.E., 2004. Virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato. Primera edición. Universidad de Guanajuato.
- Pérez-Moreno, L., Rico-Jaramillo, E., Sánchez-Palé, J.R., Ascencio-Ibáñez, J.T., Díaz-Plaza, R., Rivera-Bustamante, R.F. 2004. Identificación de Virus Fitopatógenos en Cultivos Hortícolas de Importancia Económica en el Estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22, 187-197.
- Poltson, J.E., Anderson P.K., 1997. The emergence of whitefly transmitted geminiviruses in tomato in the western hemisphere. *Plant Disease* 81, 1358-1369.
- Redidik, B.B., 2003. Tobacco etch virus. *Compendium of pepper diseases*. APS PRESS. p 38.

- Rico, J.E., 2002. Identificación de Virus Fitopatógenos en Cultivos Hortícolas de Importancia Económica en el Estado de Guanajuato. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Guanajuato. Irapuato, Guanajuato, México. 267 p.
- Robles-Hernández, L., González-Franco, A.C., Gill-Langarica, M., Pérez-Moreno, L., López-Díaz, J.C. 2010. Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de Chile en México y análisis de las técnicas de detección. *TECNOCENCIA Chihuahua* 4, 72:86.
- Simone, G.W., Brown, J.K., Hiebert, Cullen, R.E. 1990. New geminivirus epidemics in Florida tomatoes and peppers. *Phytopathology* 80, 1063.
- Stenger, D.C., Duffus, J.E., Villalon, B., 1990. Biological and genomic properties of a geminivirus isolated from pepper. *Phytopathology* 80, 704-709.
- Torres-Almaráz, R., Valverde R., Méndez-Lozano J., Ascencio-Ibañez J.T., Rivera-Bustamante, R.F., 2002. Caracterización preliminar de un geminivirus en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* B.) en la región centro de México. *Agrociencia*. 36, 471-481.
- Torres-Pacheco, I., Guevara-González, R.G., Ruíz-Medrano, R., Rivera-Bustamante R.F., 1996a. "Los Geminivirus como Modelos de Estudio del Ciclo Celular y de la Apoptosis en Plantas". *Revista Mexicana de Fitopatología* 2, 88-96.
- Torres-Pacheco, I., Garzón-Tiznado, J.A., Herrera-Estrella, L., Rivera-Bustamante, R.F., 1993. Complete nucleotide sequence of Pepper huasteco virus: analysis and comparison with bipartite geminiviruses. *Journal of General Virology* 74, 2225-2231.
- Torres-Pacheco, I., Garzón-Tiznado, J.A., Brown J.K., Becerra-Flora, A., Rivera-Bustamante, R. F., 1996b. Detection and distribution of geminiviruses in Mexico and Southern United States. *Phytopathology* 86, 1186-1192.
- Urias, M.C., Alexandre, A.T., 1999. Los virus y su impacto en la producción agrícola en hortalizas. *Plagas y enfermedades*. Anaya, R.S. y Romero N.J., Edit. Trillas. pp. 92-109.

- Varsani, A., Navas-Castillo, J., Moriones, E., Hernández-Zepeda, C., Idris, A., Brown, J.K., Murilo-Zerbini, F., Martin, D.P., 2014. Establishment of three new genera in the family Geminiviridae: Becurtovirus, Eragovirus and Turncurtovirus. Arch. Virol. [Epub ahead of print]
- Vega-Arreguín, J.C., Rivera-Bustamante, R., 2001. Los virus: Cómplices para descifrar procesos moleculares en las plantas. Avance y perspectiva 20, 349-355.
- William, O., Dawson, Mark, E.H., 1992. Host-Range determinants of plant viruses. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 43, 527-555.
- Yadava, P., Suyal, G., Mukherjee, S.K., 2010. Begomovirus DNA replication and pathogenicity. Curr. Sci. 98, 360-368.

## **Instituciones consultadas**

CIAT: <http://ciat.cgiar.org/inicio.htm>

SAGARPA: <http://www.sagarpa.gob.mx/Paginas/default.aspx>

<http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>

OEIDRUS-SAGARPA:

<http://www.oeidrusjalisco.gob.mx/agricultura/tomaterojo/?id=Enfermedades>



## CAPITULO 9

### CURTOVIRUS INFECTION OF PEPPERS IN MEXICO AND NEW MEXICO

Rebecca Creamer<sup>1</sup>  
Rodolfo Velázquez Valle<sup>2</sup>

#### Introduction

Curly top viruses, which are transmitted by the beet leafhopper, *Circulifer (=Neotaliturus) tenellus* (Baker), causes significant problems to irrigated agriculture in the western US and Mexico (Bennett, 1971). Curly top disease was originally referred to as “amarillamiento del Chile” in Mexico prior to identification of the causal agent. Although the viruses cause losses to various crops, curly top disease has been reported to cause substantial damage to Chile peppers in New Mexico (Creamer et al., 2003) and Mexico (Velasquez-Valle et al., 2008).

#### Disease

Curtoviruses infect a broad range of hosts that include crops and weeds from many plant families (Bennett, 1971). Curly top disease has

---

<sup>1</sup> Department Entomology, Plant Pathology and Weed Science, New Mexico State University, Las Cruces, NM;

<sup>2</sup> Programa de Fitopatología, Campo Experimental Zacatecas-INIFAP

been reported in the western US, including California, New Mexico, Idaho, Arizona, Colorado, and Washington since 1899 (Carsner and Stahl, 1924), and in Mexico, including Aguascalientes, Zacatecas, Chihuahua, and San Luis Potosi since the 1960's (Bennet, 1971, Velasquez-Valle et al., 2008; Reveles-Torres et al., 2012; Robles-Hernandez et al., 2011, Chen et al., 2009). The viruses routinely cause losses in crops ranging from sugarbeets (*Beta vulgaris* L.), tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.), and dry beans (*Phaseolus* spp.), to peppers (*Capsicum* spp.), melons (*Cucumis melo* L.), and spinach (*Spinacia oleracea* L.).

In New Mexico, curly top symptoms have been identified in chile pepper, tomato, bean, spinach, and cucurbits. In Mexico, curly top disease has been documented on chile pepper (Velasquez-Valle et al., 2008, 2012b; Robles-Hernandez et al., 2011) and dry beans (Velasquez-Valle et al. 2012a), and Mexican isolates of curtovirus can cause symptoms on pumpkin and tomato in addition to the other crops (Chen et al., 2009).

Symptoms of curtovirus infection of peppers include stunting, chlorosis and yield loss. When curtoviruses infect chile pepper, the plant

ceases to grow in height, which can potentially cause severe stunting. Virus-infected plants either don't produce fruit or produce unmarketable fruit (Creamer et al., 2003). Similar disease symptoms in chile have been noted in west Texas, eastern Arizona, and other areas of Mexico.

Curly top disease incidence in chile pepper has been variable in both New Mexico and Mexico. In southern New Mexico in the last 15 years, the highest incidence of disease was observed in 2001, 2003, and 2005 of estimated, 30-50%, 10-30% and 5-10%, respectively (Creamer et al., 2003, 2005a). The lowest incidence in chile fields has been less than 1% in 2002, 2011, and 2013. All varieties of chile commercially grown in southern New Mexico are susceptible to the virus (Sedano et al., 2012). Surveys of curly top in Aguascalientes and Zacatecas gave an average disease incidence of 9.87% in cultivar Mirasol, 15.2% in cv. Ancho, 7.85% in cv. Pasilla, and 20.8% in cv. Guajillo pepper types in 2008 (Velasquez-Valle et al., 2008). The mean disease incidence during the 2006 cropping season in Zacatecas was 20.1, 21.2, and 34.9% in the Mirasol, Ancho, and Pasilla pepper types, respectively. An 11.7% incidence was reported for jalapeno pepper in Chihuahua in 2010 (Robles-Hernandez et al., 2011).

## Viral pathogens

Curly top viruses are monopartite viruses in the family *Geminiviridae*, genus *Curtovirus*, which are characterized by a circular ssDNA genome within twin spherical particles. Molecular characterization of curtoviruses in sugarbeet in the 1980's demonstrated that the viruses existed as three strains and variants of these strains (Stenger and McMahon, 1997), which were later classified as distinct species. The number of viruses within the curtovirus group expanded and recently most of the curtoviruses were reclassified as *Beet curly top virus* containing many strains (Varsani et al., 2014). In New Mexico, we had identified the curtoviruses *Beet severe curly top virus* (BSCTV), *Beet mild curly top virus* (BMCTV), *Pepper yellow dwarf virus* (PeYDV), and *Pepper curly top virus* (PeCTV) in Chile and weed hosts, and the last two viruses were determined to be recombinants (Creamer et al, 2005a; Lam et al, 2009). The curtoviruses that we identified in New Mexico are now designated as BCTV-SvrPep (US-SVR-NM-Pep), BCTV-Wor (US-Mld-Wor4), BCTV-PeYD (US-NM-Pep), and BCTV-PeCT (US-NM-Pep), respectively (Varsani et al., 2014). *Beet mild curly top virus* (Velasquez-Valle et al., 2008, 2012a,b; Chen et al., 2009) and *Beet severe curly top virus* (Robles-Hernandez et al., 2011) have been detected in Mexico.

Those strains are now designated as BCTV-Mld (MX-Mld), and BCTV-Svr (US-SVR) (Varsani et al., 2014).

The curly top strains in chile and weeds in New Mexico have varied over time. A 2001-2002 survey of chile fields showed that 18.5% of the isolates detected were BCTV-Wor (US-Mld-Wor4), 48% were BCTV-SvrPep (US-SVR-NM-Pep), and 32% were BCTV-PeYD (US-NM-Pep) (Creamer et al., 2005a). A 2003-2005 survey of weed hosts showed that 32.9% of the isolates were the Worland-mild strain, 12.4% were the severe-NM strain, and 54.7% were the PeYD strain (Lam et al., 2009). In 2005, chile were collected that were infected with the PeCT strain for the first time, and since then PeCTV has been collected every year from chile in NM and has been identified in Arizona as well (Nischwitz and Olsen, 2010).

We have identified curtovirus infection using polymerase chain reaction (PCR) in a number of weed species in New Mexico including Russian thistle (*Salsola tragus* L.), prostrate pigweed (*Amaranthus blitoides* S. Wats.), spurred anoda (*Anoda cristata* (L.) Schlecht.), kochia (*Kochia scoparia* (L.) Schrad.), *Chenopodium* sp., morningglory (*Ipomoea* sp.), *Datura* sp., and London rocket (*Sisymbrium irio*)

(Creamer et al, 2003; Lam et al, 2009). Of these, London rocket and kochia were found most frequently infected with curtoviruses. Unlike crop plants, none of the infected weeds showed symptoms of the disease,. Velasquez-Valle and coworkers (2012b) detected curtoviruses using PCR in four weed species in Aguascalientes and Zacatecas including arugula (*Eruca sativa* Mill.), *Reseda* sp., *Chenopodium* sp. and buffalobur nightshade (*Solanum rostratum* Dunal). This was from 15% of the sites tested, and none of the London rocket plants were positive for curtovirus.

### **Insect vectors**

The beet leafhopper (*Circulifer tenellus*) feeds and breeds on an extensive range of plant families of dicotyledonous plants (Cook, 1967). The insect is generally found in arid and semiarid environments in sunny areas on chlorotic dispersed plants (Douglass and Cook, 1952; Klein, 1992). Beet leafhoppers collected from southern New Mexico preferred feeding on Kochia, Russian thistle, and pigweed over tall morning glory, palmer amaranth, and *Chenopodium* sp., and on sugar beet over tomato or chile (Hudson et al., 2010).

This leafhopper vector transmits curtoviruses very efficiently after feeding on infected plants for two days, but feeding shorter times (2-20 min.) will produce low levels of virus transmission (Bennett, 1971). The virus requires a 4-hr latent period in the insect before it can be transmitted, and leafhoppers can inoculate the virus into healthy plants by feeding for 15 min. Leafhoppers retain the ability to transmit virus for days to weeks. The leafhopper can transmit curly top to plants such as peppers and tomatoes on which it cannot carry out its life cycle (Hudson et al., 2010).

*Circulifer tenellus* is reported to exist as three morphological types, a summer morph, a winter morph, and a migratory morph. The summer morph is light green to grey in color and survives 3-4 months, while the winter morphs, which are dark grey to yellow-brown, live longer (Severin, 1921) and consist primarily of mated overwintering females. Migratory morphs of the leafhopper are reported to be capable of flying several hundred miles (Dorst and Davis, 1937).

Curly top epidemiology is dependent on area, climate, plant diversity and distribution, and cropping cycles. It has been studied primarily for the western USA. In California, beet leafhoppers have

historically migrated into the foothills in the fall, overwintered as mated females on perennial weeds (Mumford and Doney, 1984) and oviposited in late January and early February on annual weeds (Bennett, 1971). The nymphs are thought to acquire virus from the winter annuals in the foothills. As these plants dry, the leafhoppers migrate into the agricultural valleys in April and early May to feed on (and infect) crops and weeds. Leafhoppers are reported to undergo several generations in the valleys on crop plants before migrating back to the foothills in the fall. Russian thistle (*Salsola iberica* Sennen & Pau) and other *Salsola* species are considered to be the most important summer annual hosts for the survival and breeding of the beet leafhopper in California (Bennett, 1971). This cycle has been questioned somewhat after the large numbers of leafhoppers detected in March 2013 within the Central Valley of California. With the severe drought in many parts of California, and a change in the cropping patterns in the agricultural valleys, some leafhoppers may overwinter on weeds within the valleys.

Because the leafhoppers overwinter in southern New Mexico (Romney, 1939), they must have a continuous sequence of plants available to survive throughout the year. The primary breeding and survival hosts of the leafhopper (and presumably the virus) are weed

species within the Brassicaceae and Chenopodiaceae. Our work has shown that London rocket serves as the primary overwintering host for the beet leafhopper in southern New Mexico (Ray et al 2005, 2006, Davis, 2010).



**Figure 1.** Plants left to right: infected/healthy chile, London rocket, Kochia.

We found that the beet leafhopper completes 1-2 generations on weed hosts in southern New Mexico during the course of a year. We established that both London rocket and *Kochia scoparia* are developmental hosts of the insect and important to its survival. We also found that certain site characteristics, particularly fallow weedy fields, could be correlated with beet leafhopper nymph presence in southern New Mexico (Davis, 2010).

We have monitored beet leafhopper numbers and movement using yellow sticky traps in Chile fields in southern New Mexico for 14 years. Number of leafhoppers trapped in Chile fields increase every year in mid-April to mid-May and can be detected in higher numbers through the end of October (Creamer *et al.*, 2003). Leafhopper numbers have generally correlated with the disease incidence. Higher leafhopper numbers for specific fields have been correlated with presence of large numbers of weed hosts in close proximity, such as a weedy or fallow field.

*Circulifer tenellus* was first reported in Mexico in Aguascalientes in 1954 (Young and Frazier, 1954). It was confirmed in Zacatecas in 2008 (Velasquez-Valle *et al.*, 2008). A study to identify the overwintering weed hosts of the insect in Zacatecas and Aguascalientes found that adult beet leafhoppers were found in 69.2% of the weed patches sampled, 75% were females, and the majority of leafhoppers were collected from *Reseda* spp., *Eruca sativa*, and *Sisymbrium irio* (Velasquez-Valle *et al.*, 2012b).

## **Disease management**

The wide host range of curtoviruses, the abundance of the leafhopper vector, and the widespread distribution of weed hosts has made managing the virus difficult. Thus far, effective strategies to limit virus infection have been inadequate. Cultural methods commonly used in southern New Mexico include heavy seeding of directly planted chile followed by late thinning of the fields to remove infected plants. This technique frequently fails because the leafhoppers continue to migrate into the field after the critical thinning window. Removal of weeds from fields, field margins, and surrounding areas also may decrease infection. The distance from the field for optimal weeding is not known, although timing of weed removal would need to be late fall or early winter for overwintering hosts of the beet leafhopper and in late spring for summer reproductive hosts of the leafhopper (Davis, 2010).

Plant resistance would be an additional management strategy, but most commercially grown chile pepper and tomato varieties are susceptible to the virus (Sedano et al., 2012). NuMex Las Cruces, a cayenne type chile and Tabasco, a *C. frutescens* chile, showed good field resistance to curly top infection, likely due to leafhopper non-preference. Spraying peppers with kaolin clay was effective in

decreasing the curly top incidence, and increased yield (Creamer et al., 2005b), but might not be economically feasible for all locations.

Use of a variety of insecticides with different active ingredients registered on a crop has been used in an attempt to control curly top. However, since the vector needs only a brief feeding interval in which to introduce the virus into a healthy plant, insecticides will not block virus transmission. Soil treatments with the systemic insecticide, imidicloprid, can reduce virus incidence on sugarbeets (Wang et al., 1999). Similarly, planting sugarbeet seed treated with Poncho Beta insecticide, leads to decreased levels on virus on sugarbeets (Strausbaugh et al., 2012). Sugarbeets are effective breeding hosts for the leafhopper. However, chile is not a breeding host of the insect, and the leafhopper spends very little time on the plants (Hudson et al., 2010), so that the use of systemic insecticides on chile has not proved efficacious in preventing curtovirus spread or infection.

Drawbacks to the frequent use of insecticides also include expense to the grower, loss of beneficial insects, and potential development of insect resistance to the chemicals. Our work in monitoring adult leafhoppers in southern New Mexico in chile pepper

fields show that leafhopper numbers increased in mid-April to early May and continued until late October to early November (Creamer et al., 2003). It would not be cost effective to provide insecticide coverage to Chile pepper for the entire growing season. The erratic outbreaks of the disease do not currently lend themselves to management of the leafhopper on weeds using insecticidal control such as is practiced in California (Clark, 1995). In addition, biological control of the leafhopper vector has been tested. Egg parasitoids were imported from central Asia and released in biologically sensitive areas of California to control the leafhopper (Walker *et al.*, 1997). However, none of the parasitoids could be established and compete in the environment.

A predictive model of curly top incidence has been developed and is being tested for southern New Mexico that is based on fall (October and November) rainfall. Higher fall rainfall occurs prior to increased disease incidence during the subsequent growing season. It is thought that the fall rainfall helps the germination of winter weeds on which the leafhopper can overwinter. Without the fall rains, the leafhopper has been found in New Mexico on poor holdover hosts such as creosote, saltbush, snakeweed and mesquite (Douglass and Cook, 1952, Logarzo *et al.*, 2002) in the fall after the summer hosts have died. The model has

proved successful for predicting curly top in chile in New Mexico and is being developed for other crops and states within the USA.

A sustainable, integrated management program is needed for this difficult pathogen. The predictive model will help determine the magnitude of the disease. Preventative weed control is an obvious method for mitigating disease losses and but will require research that will provide information needed to advise growers on when and where to remove weeds for optimal disease control. Information is needed on how far the leafhoppers move when leaving the weed hosts, so that recommendations can be made on how far from the crop these weeds ideally should be controlled. Weed management could be accomplished on a specific field basis or a larger area-wide basis. If the beet leafhopper is found to fly primarily short distances, then individual growers could justify weed control in and around their fields. Furthermore, a program targeting overwintering weed hosts such as London rocket in the late fall and winter could reduce the potential for infection of summer crops by decreasing the overwintering capacity of the vectors. Similarly, a program encouraging removal of summer weed hosts such as kochia could decrease mid and late season curly top infection. Our future work will address these aspects of control based on

a better knowledge of the disease, its vector, its weed hosts, and the interactions between them.

### **Literature Cited**

- Bennett, C. W., 1971. The curly top disease of sugarbeet and other plants. The Am. Phytopathol. Soc. Monogr. No. 7.
- Carsner, E., Stahl, C. F., 1924. Studies on curly-top disease of the sugar beet. J. Agr. Res. 28, 297-320.
- Chen, L., Brannigan, K., Clark, R., Gilbertson, R.L., 2009. Characterization of curtoviruses associated with curly top disease of tomato in California and monitoring for these viruses in beet leafhoppers. Plant Disease 94, 99-108.
- Clark, R.A., 1995. Environmental assessment of curly top virus control in California: 1991-1995. Cal. Dept. Food and Agr. Sacramento, CA
- Cook, W.C., 1967. Life history, host plants, and migrations of the beet leafhopper in the western United States. U.S.D.A. Tech. Bull. 1365. 122 p.
- Creamer, R., Carpenter, J., Rascon, J., 2003. Incidence of the beet leafhopper, *Circulifer tenellus* (Homoptera: Cicadellidae) in New Mexico. Southwestern Entomologist 28, 177-182
- Creamer, R., Hubble, H., Lewis, A., 2005a. Curtovirus infection of Chile pepper in New Mexico. Plant Disease 89:480-486.
- Creamer, R., Sanogo, S., El-Sebai, O., Carpenter, J., Sanderson, R., 2005b. Kaolin-based foliar reflectant affects physiology, incidence of beet curly top virus, but not yield of Chile pepper. HortScience. 40, 574-576.

- Davis, G., 2010. Seasonal phenology of the beet leafhopper, *Neoliturus tenellus* (Ball) (Hemiptera: Cicadellidae), on London rocket, *Sysimbrium irio* L., and Kochia, *Kochia scoparia* (L.), Schrader, in southern New Mexico. M.S. Thesis. New Mexico State University.
- Dorst, H.E., Davis, E.W., 1937. Tracing long-distance movements of beet leafhopper in the desert. J. Econ. Entomol. 30, 948-954.
- Douglass, J. R., Cook, W.C., 1952. The beet leafhopper. USDA Yearbook of Agriculture 1952, 544-550.
- Hudson, A., Richman, D.B., Escobar, I., Creamer, R., 2010. Comparison of the feeding behavior and genetics of beet leafhopper (*Circulifer tenellus*, Baker) populations from California and New Mexico. Southwestern Entomologist 35, 241-250.
- Klein, M., 1992. Role of *Circulifer tenellus* in the transmission of plant pathogens. Advances in Disease Vector Research 9, 153-193
- Lam, N., Creamer, R., Rascon, J., Belfon, R., 2009. Characterization of a new curtovirus, *Pepper yellow dwarf virus*, from Chile pepper and distribution in weed hosts in New Mexico. Archives of Virology 154, 429-436.
- Logarzo, G., D. B. Richman, D.B., Gould, W.R., 2002. Plant utilization patterns of a guild of leafhoppers on a woody plant community in the Chihuahuan Desert. Environ. Entomol. 31, 914-922.
- Mumford, D. L., Doney, D.L. 1984. Comparison of five weeds as hosts for beet leafhopper and beet curly top virus. J. Am. Soc. Sugar Beet Technol. 22, 201-204.
- Nischwitz, C., Olsen, M.W., 2010. First report of two curtoviruses in spinach and common beet in Arizona. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2010-0216-02-BR.
- Ray, J., Creamer, R., Schroeder, J., Murray, L., 2005. Moisture and temperature requirements for London rocket (*Sisymbrium irio*) emergence. Weed Science 53, 187-192.

- Ray, J., Schroeder, J., Creamer, R., Murray, L., 2006. Planting date affects phenology of London rocket (*Sisymbrium irio*) and interaction with beet leafhopper (*Circulifer tenellus*) in southern New Mexico. *Weed Science* 54, 127-132.
- Revelles-Torres, L.R., Velasquez-Valle, R., Mauricio-Castillo, J.A., Salas-Munoz, S., 2012. Detection of mixed infections caused by begomovirus and curtovirus in chili pepper for drying plants in San Luis Potosi, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 30, 155-160.
- Robles-Hernandez, L., Gonzalez-Franco, A.C., Gill-Langarica, E.M., Sago, C., Nikolaeva, O.V., Karasev, A.V., 2011. First report of *Beet severe curly top virus* in jalapeno pepper in Chihuahua, Mexico. *Plant Disease* 95, 778.
- Romney, V.E., 1939. Breeding areas and economic distribution of the beet leafhopper in New Mexico, southern Colorado, and western Texas. *USDA Circular* 518:1-14.
- Sedano, M., Lam, N., Escobar, I., Cross, T., Hanson, S.F., Creamer, R. 2012. Application of vascular puncture for evaluation of curtovirus resistance in chile pepper and tomato. *Journal of Phytopathology* 160, 120-128.
- Severin, H.H.P., 1921. Summary of the life history of beet leafhopper (*Eutettix tenella* Baker ). *Journal of Economic Entomology* 14, 433-436.
- Stenger, D.C., McMahon, C.L., 1997. Genotypic diversity of beet curly top virus populations in the western United States. *Phytopathology* 87, 737-744.
- Strausbaugh, C. A., Wenninger, E. J., and Eujayl, I. A. 2012. Management of severe curly top in sugar beet with insecticide. *Plant Disease* 96, 1159-1164.
- Varsani, A., Martin, D.P., Navas-Castillo, J., Noriones, E., Hernandez-Zepeda, C., Idris, A., Zerbini, F.M., Brown, J.K., 2014. Revisiting the classification of curtoviruses based on genome-wide pairwise identity. *Archives of Virology* (doi:10.1007/s00705-014-1982-x).
- Velasquez-Valle, R., Medina-Aguilar, M. M., Creamer, R., 2008. First report of *Beet mild curly top virus* infection of chile pepper in north-central Mexico. *Plant Disease* 92, 650.

- Velasquez-Valle, R., Mena-Covarrubias, J., Reveles-Torres, L.R., Arguello-Astorga, G. R., Salas-Luevano, M.A., Mauricio-Castillo, J.A., 2012a. First report of *Beet mild curly top virus* in dry bean in Zacatecas, Mexico. *Plant Disease* 96, 771.
- Velasquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., Amador-Ramirez, M.D., Medina-Aguilar, M. M., Medina-Garcia, G., 2012b. *Circulifer tenellus* Baker and *Beet mild curly top virus* presence in weeds during the winter in north-central Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3, 813-819.
- Walker, G.P., Zareh, N., Bayoun, I.M., Triapitsyn, S.V., 1997. Introduction of western Asian egg parasitoids into California for biological control of beet leafhopper, *Circulifer tenellus*. *Pan-pacific Entomol.* 73, 236-242.
- Wang, H., Gurusinghe, P. de A., Falk, B. W., 1999. Systemic insecticides and plant age affect beet curly top virus transmission to selected host plants. *Plant Disease* 83, 351-355.
- Young, D.A., Frazier, N.W., 1954. A study of the leafhopper genus *Circulifer* Zakhvatkin (Homoptera, Cicadellidae). *Hilgardia* 23, 25-52.

## **CAPITULO 10**

### **MANEJO DE ENFERMEDADES PROVOCADAS POR VIRUS Y FITOPLASMAS EN EL CULTIVO DE CHILE PARA SECADO**

Rodolfo Velásquez-Valle<sup>1</sup>

#### **Introducción**

El manejo de las enfermedades causadas por agentes virales y fitoplasmas en las parcelas comerciales de Chile, especialmente en Zacatecas, es deficiente debido, en parte, al desconocimiento de los síntomas que este tipo de enfermedades provocan y que suelen ser diagnosticados como deficiencias o excesos nutricionales, incidencia de alta o baja temperatura, ataque de plagas, aplicación de dosis no recomendadas de pesticidas, etc.

Por otro lado, la naturaleza misma de estas infecciones complica los esfuerzos para obtener resultados satisfactorios; algunas de estas enfermedades pueden ser transmitidas por semillas que no manifiestan síntoma alguno y por lo tanto no pueden ser reconocidas y eliminadas,

---

<sup>1</sup> Programa de Fitopatología, Campo Experimental Zacatecas – INIFAP.

sin embargo, las más de ellas son transmitidas de plantas enfermas a sanas por medio de vectores, generalmente artrópodos, que, en la mayoría de los casos resultan desconocidos para productores y no pocos asesores profesionales.

En este contexto es fácil prever que esa clase de enfermedades se extienda e incremente su severidad antes de que por lo menos sea reconocido su origen. Con no escasa frecuencia se sabe de la aplicación en parcelas comerciales de productos que ofrecen “curar” los síntomas de estas enfermedades y cuyos resultados son económica y agrícolamente un fracaso para el productor.

Por todo lo anterior es importante dar a conocer una guía de las medidas de combate que pueden aportar un beneficio para los productores de Chile en la inteligencia de que la aplicación de un mayor número de ellas proporcionará mejores resultados que los resultados provenientes de la aplicación de una sola medida.

A continuación se ofrece una guía de las tácticas de lucha contra estas enfermedades; en la primera sección se describen aquellas

orientadas a reducir la cantidad de “enfermedad” antes de que se inicie el ciclo de cultivo en tanto que en la segunda sección se describen aquellas prácticas encaminadas a disminuir o retardar el daño diseminación de la enfermedad; corresponde a cada productor de Chile adaptar estas prácticas al manejo agronómico de cada parcela para obtener mayor provecho de ella.

## **Prácticas de control**

### **I. Reducción de inóculo primario**

Las prácticas sugeridas en esta sección mantienen el propósito de reducir en lo posible la cantidad de “enfermedad” con la que se inicia el ciclo de cultivo, que en el caso de Chile para secado corresponde a la producción de plántula en almácigos tradicionales a cielo abierto o en charolas bajo condiciones de invernadero.

#### **1. Empleo de semilla sana**

La mayoría de los productores de Chile para secado (95%) utilizan semillas criollas que provienen de plantas que muestran carga irregular y escasa, con una amplia variabilidad de forma y tamaño de frutos (Ramiro, 1992); a esto se debe agregar la baja calidad fitosanitaria ya que generalmente no se toma en cuenta este

aspecto durante el proceso de obtención de semilla. Para obtener semilla de mejor calidad fitosanitaria se recomienda:

- a) Seleccionar las plantas de donde se obtendrá semilla cuando aún permanecen en la parcela y evitar seleccionar plantas con síntomas como amarillamientos, enanismo, hojas o frutos deformes (Reveles *et al.*, 2013).
  
- b) La semilla extraída debe inmediatamente sumergirse en una solución de hipoclorito de sodio (blanqueador doméstico) al 3% a una temperatura de 10 a 25 °C por no más de 20 minutos (Reveles *et al.*, 2013).
  
- c) Otros autores recomiendan sumergir la semilla en una solución de fosfato trisódico al 10% durante 20 minutos y enjuague la semilla en agua corriente por 45 minutos (Nuez *et al.*, 2003; Berke *et al.*, 2005).

Aunque la resistencia genética es la mejor alternativa de combate de estas enfermedades, no se cuenta con variedades con buenas

características agronómicas y con resistencia a los patógenos o los vectores más comunes en esta región.

## **2. Eliminación de hospederos invernales**

El establecimiento de almácigos tradicionales en el norte centro de México ocurre frecuentemente durante febrero y el desarrollo de plántulas toma el mes de marzo y parte de abril; durante este periodo de desarrollo las plántulas pueden ser infectadas por fitoplasmas y virus; es común encontrar altas poblaciones de malas hierbas alrededor de los almácigos y aún dentro de las camas de plántulas de chile (Figura 1); los estudios realizados en este tipo de almácigos han revelado la presencia de los virus jaspeado del tabaco, mosaico del tabaco, mosaico del pepino y moteado del chile en plántulas y malas hierbas como dentro y alrededor de los almácigos (Velásquez-Valle *et al.*, 2013a). Es necesario que la eliminación de malas hierbas se realice en sus primeras etapas de desarrollo ya que al eliminar plantas adultas se puede provocar una migración de altas poblaciones de los vectores, especialmente trips, hacia las plantas de chile (Nuez *et al.*, 2003).



**Figura 1.** Almacigo tradicional de Chile con una alta población de malas hierbas entre sus camas de plántulas.

Para evitar que la maleza sirva como refugio de vectores y fuente de patógenos se sugiere eliminarla en una franja de 10 a 15 m alrededor de las camas del almacigo y conservarla así hasta que finalice el proceso de obtención de plántula.

### **3. Monitoreo de vectores de virus y fitoplasmas**

En la fase de almácigo se recomienda colocar trampas amarillas pegajosas para el monitoreo de pulgones, trips, mosquitas blancas y chicharritas, que son vectores de algunos de los patógenos responsables de este tipo de enfermedades, para detectar con oportunidad su arribo al almácigo y tomar las acciones correspondientes como el empleo de insecticidas.

### **4. Aplicación de insecticidas**

Los insecticidas son costosos, en algunos países pueden representar del 18 al 21% del costo total del cultivo y su empleo puede llevar a la aparición de resistencia entre las plagas a combatir; sin embargo el empleo del insecticida Dimetoato redujo la población de áfidos en plantas de Chile que se desarrollaban bajo protección y en plantas a cielo abierto (Karungi *et al.*, 2013). Los resultados de un estudio (Bhattiprolu and Rahman, 2006) señalaron que la aplicación al suelo de los almácigos de carbofuran 3G en dosis de 0.5 kg de ingrediente activo/hectárea, aportó una prolongada protección a las plántulas de Chile.

## **5. Eliminación de plántulas enfermas**

Es importante eliminar todas las plántulas que muestren cambios de color o forma en las hojas conforme vayan apareciendo en el almácigo; entre más tiempo se dejen ahí, es más probable que se contaminen otras plántulas (Velásquez-Valle *et al.*, 2013b).

## **6. Recomendaciones generales**

Otras recomendaciones incluyen el evitar el establecimiento de almácigos en suelo con restos de cultivos como chile o jitomate; restringir la entrada o visita de personas que provengan de otros almácigos o cultivos contaminados; no fumar durante el desarrollo de labores en el almácigo o durante el trasplante.

## **7. Limpieza de la parcela a trasplantar**

Al aproximarse la fecha de trasplante elimine la maleza dentro de la parcela a trasplantar; desyerbe además, una franja de 10 a 15 m alrededor de la parcela; evite, tanto como sea posible, que la maleza se presente nuevamente durante el ciclo de cultivo. La eliminación de malas hierbas será más eficiente si se realiza junto con los agricultores vecinos. Durante las primeras etapas del cultivo el manejo de malas hierbas se logra mediante el control mecánico, sin embargo a medida que avanza el ciclo de cultivo se puede

requerir el empleo de herbicidas. Algunas opciones para el empleo de herbicidas han sido proporcionadas por el Campo Experimental Zacatecas (Amador, 2006). Es importante recordar que las parcelas de Chile deben establecerse lejos de áreas con ornamentales (especialmente las de colores muy llamativos) u otras parcelas con cereales que generalmente albergan altas poblaciones de trips potencialmente vectores de enfermedades virales como el virus de la marchitez manchada del jitomate (TSWV). Otra recomendación consiste en establecer las parcelas de Chile lejos de las parcelas con alfalfa (Conti *et al.*, 2000). Las parcelas de papa constituyen una fuente de trips potencialmente vectores de virus como el de la marchitez manchada del jitomate (TSWV) que también infecta a las plantas de Chile, por lo que también debe evitarse trasplantar esta hortaliza en su cercanía (Jacobsen *et al.*, 2013).

#### **8. Empleo de cultivos barrera**

Existen dos explicaciones acerca del funcionamiento de los cultivos barrera; la primera sugiere que el cultivo barrera reduce la diseminación del virus ya que la proporción de áfidos virulíferos que alcanzan el cultivo protegido (Chile, en este caso) es significativamente reducido (las plantas del cultivo barrera “limpian”

el aparato bucal de los áfidos y por lo tanto reducen su potencial de transmitir y diseminar un virus); la segunda explicación establece que el cultivo barrera reduce el número de áfidos “aterrizando” en el cultivo protegido (chile) al actuar simplemente como una barrera mecánica que impide la colonización del cultivo protegido (Fereres, 2000).

Se sugiere establecer un cultivo que sirva como barrera (maíz o sorgo) alrededor de la parcela de chile o bien, orientada hacia la dirección dominante del viento para que intercepte una parte importante de la población de vectores antes de que alcance las plantas de chile; este cultivo de barrera puede asperjarse periódicamente con un insecticida para eliminar cualquier colonia de insectos vectores que pudiera establecerse; en este caso no se recomienda consumir o ensilar el maíz o sorgo producido ahí. El cultivo de barrera debe ser establecido previamente al trasplante de chile (de tres a cuatro semanas) para que cumpla con su propósito de interceptar las poblaciones de vectores. El cultivo de barrera es más efectivo contra pulgones que transmiten virus no persistentes ya que al alimentarse brevemente en el follaje de una planta de la barrera o cultivo trampa perderán su infectividad. En el caso de

mosquita blanca la altura del cultivo empleado como barrera debe ser de por lo menos de dos m ya que la mayoría de los adultos de este vector vuelan a menos de esa altura (Hilje *et al.*, 2001). Se ha mencionado (Jones *et al.*, 2000) que con solo sembrar seis surcos de maíz alrededor de una parcela de chile se puede reducir hasta 80% la transmisión de virus y retrasar la infestación de áfidos (Figura 2).



**Figura 2.** Aspecto de una barrera de maíz en una parcela de chile.

## **II. Reducción de la dispersión**

### **1. Empleo de cultivos intercalados**

Los cultivos intercalados se refieren a los arreglos espaciales que incluyen dos o más especies vegetales en estrecha cercanía dentro de una parcela dada (Hilje *et al.*, 20019. Esta es una práctica poco utilizada por los productores de Chile; al intercalar cultivos se reduce la incidencia de plagas cuando los cultivos utilizados no albergan las mismas especies de insectos; resultados experimentales (Fajinmi y Fajinmi, 2010) mostraron que la incidencia y severidad de la infección por el virus llamado *Pepper veinal mottle virus* resultó de 42 y 23% respectivamente en parcelas donde solo se cultivo Chile mientras que en las parcelas donde se cultivaron Chile y maíz fueron de 10 y 8% respectivamente. Otros experimentos en Etiopía, Africa (Mitiku *et al.*, 2013) han confirmado la eficiencia de intercalar maíz para retrasar la aparición de enfermedades virales y reducir la incidencia de virus transmitidos por áfidos.

### **2. Trampas amarillas pegajosas**

Se sugiere colocar bandas pegajosas de plástico de color amarillo, de al menos 0.5 m de ancho, alrededor de la parcela o hacia algún punto en particular como la dirección dominante del viento o la zona

con mayor densidad de maleza; esta práctica debe realizarse a partir del trasplante y debe vigilarse continuamente que su cara pegajosa no sea obstruida por maleza u otros objetos (Figura 3).



**Figura 3.** Empleo de una banda amarilla pegajosa para evitar la llegada de vectores.

### **3. Monitoreo de vectores de virus y fitoplasmas**

Establezca cartulinas amarillas pegajosas de cara a la dirección de los vientos dominantes o hacia las áreas con mayor cantidad de maleza alrededor de la parcela. (Figura 4). Estas trampas deberán

cambiarse cada ocho días y deben ser revisadas por un experto en identificación de vectores (generalmente personal del Comité Estatal de Sanidad Vegetal) para determinar si es necesaria la aplicación de insecticidas u otra acción que reduzca el riesgo de estos insectos. Un estudio realizado en Turquía con el cultivo de algodón por Atakan y Canhilal (2004) reveló que la captura de chicharritas como *Empoasca* spp., mosquita blanca, *B. tabaci* y trips *F. occidentalis* empleando trampas amarillas pegajosas varía con la altura del cultivo; la captura de chicharritas fue significativamente mayor en trampas colocadas a 60 cm que a 80, 100 y 120 cm cuando la altura del cultivo fue menor a 80 cm, sin embargo, cuando la altura del cultivo superó los 80 cm, el número de chicharritas capturadas fue similar a 60, 80 y 100 cm pero significativamente mayores que las capturadas a 120 cm. El número de mosquitas blancas capturadas fue mayor a 60 cm y menor a 120 cm a todas las alturas del cultivo. La altura de la trampa no influyó en las capturas totales de trips. Para el monitoreo de poblaciones de *C. tenellus*, Meyerdirk y Oldfield (1985) encontraron que la mejor altura para colocar las trampas pegajosas es al nivel del suelo en

comparación con alturas variables entre 0.3 y 2.7 m sobre el nivel del suelo.



**Figura 4.** Trampa pegajosa amarilla colocada entre plantas de Chile.

#### 4. Sanidad del cultivo

Se debe tratar de conservar la población inicial de plantas de Chile ya que por lo menos uno de los vectores de virus y fitoplasmas, la chicharrita *Circulifer tenellus* Baker prefiere las áreas soleadas que podrían formarse alrededor de los manchones de plantas muertas por secadera. Además, se debe evitar re sembrar con frijol los

espacios que dejan las plantas de Chile muertas por secadera ya que se ha comprobado que el *Beet mild curly top virus*, diseminado por *C. tenellus*, puede infectar tanto a las plantas de frijol como a las de Chile (Velásquez-Valle *et al.*, 2012).

### **5. Saneamiento del cultivo**

Elimine las plantas que presenten síntomas de infección viral o de fitoplasmas como amarillamiento u otros cambios de color en el follaje, enanismo, deformación de hojas o frutos tan pronto como aparezcan en la parcela; colecte estas plantas y entierrelas para evitar que los agentes vectores readquieran el virus o fitoplasma de las plantas o restos infectados. Para realizar el saneamiento se sugiere caminar por toda la parcela pero dedicar especial atención a los bordes u orilla de la misma.

### **6. Empleo de insecticidas**

El empleo de insecticidas para el combate de áfidos y trips vectores de virus puede fracasar debido a 1) existe una llegada continua de individuos infectivos desde fuera del área cultivada y 2) el tiempo que requieren estos insectos, especialmente los áfidos, para infectar una planta sana con un virus es menor que el tiempo que requiere el insecticida para eliminarlos. También se ha sugerido la

aspersión de aceites minerales para retrasar la dispersión de los virus como el CMV, dentro de una parcela al interferir con la transmisión viral por medio de los áfidos (Cerkauskas, 2004). Según Wang y Pirone (1996) los aceites minerales interfieren con los sitios específicos de unión de los viriones en los estiletes de los áfidos y por lo tanto, reducen la eficiencia de transmisión.

### **7. Empleo de arcillas**

El efecto de la aspersión de la arcilla caolina sobre la incidencia de virus como el *Beet curly top virus* y el rendimiento de Chile fue investigado por Creamer *et al.* (2005) quienes encontraron que la incidencia de la enfermedad fue significativamente menor en las parcelas tratadas con arcilla que en aquellas que no recibieron dicho tratamiento; además las plantas tratadas con caolina presentaron menor stress hídrico, aún en los meses más cálidos por lo que se sugiere su empleo en años con presión moderada de la enfermedad.

### **8. Uso de acolchados o cubiertas vegetales**

El objetivo de utilizar acolchados para manejar mosca blanca es reducir la habilidad del insecto para encontrar el cultivo. El modo de acción de las cubiertas inertes como el plástico o paja de diferentes

cultivos, ha sido atribuido a la interferencia con la habilidad visual para encontrar al hospedero o con una atracción suicida hacia la cubierta calentada por el sol (Hilje *et al.*, 2001). En otros trabajos (Reitz *et al.*, 2003) se encontró que el acolchado reflejante a la luz ultravioleta redujo significativamente la población de trips adultos (*Frankliniella* spp) en comparación con el plástico negro aunque una tendencia inversa se notó con la población de predadores como *Orius insidiosus* (Say); sin embargo, el empleo de este acolchado combinado con aplicaciones de Spinosad pueden reducir efectivamente la población de trips en parcelas de Chile.

## **9. Destrucción de residuos**

Aunque no es común que los productores de Chile para secado abandonen sus parcelas debido al ataque de enfermedades, si es frecuente que se dejen las plantas en pie por periodos más o menos largos durante los cuales las plantas pueden conservar su follaje o rebrotar permitiendo que los vectores puedan adquirir o conservar su fuente de virus. Por lo tanto, se sugiere que inmediatamente después del corte o cortes, se incorporen las plantas de Chile a fin de evitar que sirvan como fuentes de virus (McDougall y Tesoriero, 2011; Gómez *et al.*, 2013).

## **10. Activadores de resistencia**

La resistencia inducida es un estado fisiológico de capacidad de defensa aumentada por un estímulo ambiental específico, en el cual las defensas innatas de la planta son potenciadas contra subsecuentes desafíos bióticos (Patiño, 2008). La resistencia de plantas a patógenos puede ser inducida por tratamientos con una gran variedad de inductores bióticos y abióticos; estos últimos incluyen químicos no tóxicos que pueden actuar sobre algunos mecanismos involucrados en la resistencia a la enfermedad haciéndola duradera y de amplio espectro. Un estudio (Trejo-Saavedra *et al.*, 2013) reveló que el Benzothiadiazole (BTH) activó la resistencia de plantas de chile Anaheim cv. Sonora al begomovirus PepGMV (*Pepper golden mosaic virus*) sin dañar la calidad del fruto o reducir la productividad. Otras investigaciones (Yi *et al.*, 2012) han demostrado la utilidad del BTH aplicado en estado de plántula para reducir la expresión de síntomas en plantas de chile infectadas con CMV.

## **11. Otras medidas**

En la década de 1940 algunos investigadores sugirieron el empleo de leche aplicada en aspersion o en inmersión de plántulas para

reducir la incidencia de enfermedades virales (Abdelbacki *et al.*, 2010). Se ha sugerido (Berke *et al.*, 2005) que las herramientas y las manos de los operarios se sumerjan en leche; sin embargo, es necesario contar con mayor información local que permita avalar la utilidad de esta práctica.

## **Literatura Citada**

- Abdelbacki, A.M., Taha, S.H., Sitohy, M.Z., Dawood, A.I.A., Hamid, Ma-E., and Rezk, A.A., 2010. Inhibition of Tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) using whey proteins. *Virology Journal* 7, 26.
- Amador, R.M.D., 2006. Manejo de maleza. 159 – 176. *In: Tecnología de producción de chile seco. Libro Técnico No. 5. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP. México. 224 p.*
- Atakan, E., Canhilal, R., 2004. Evaluation of yellow sticky traps at various heights for monitoring cotton insect pests. *Journal of Agricultural Urban Entomology* 21, 15-24.
- Berke, T., Black, L.L., Talekar, N.S., Wang, J.F., Gniffke, P., Green, S.K., Wang, T.C., and Morris, R., 2005. Suggested cultural practices for chili pepper. *International Cooperators´ Guide. Asian Vegetable Research and Development Center. AVRDC pub # 05-620. 8 p.*
- Bhattiprolu, S.L., Rahman, M.A., 2006. Management of insect borne viral diseases of chilli using nylon net, chemicals, neem products and barrier crop. *Karnataka Journal of Agricultural Science* 19, 154-157.

- Cerkauskas, R., 2004. Pepper diseases. Cucumber mosaic virus. Aphid transmitted cucumovirus. Asian Vegetable research and Development Center. AVRDC Publicacion 04-593. 2 p.
- Conti, M., Gallitelli, D., Lisa, V., Lovisolo, O., Martelli, G.P., Ragozzino, A., Rana, G.L., Vovlas, C., 2000. Principales virus de las plantas hortícolas. Bayer S. A. de C. V. – Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. 206 p.
- Creamer, R., Sanogo, S., El-Sebai, O.A., Carpenter, J., Sanderson, R., 2005. Kaolin-based foliar reflectant affects physiology and incidence of beet curly top virus but not yield of chile pepper. HortScience 40, 574-576.
- Fajinmi, A.A., Fajinmi, O.B., 2010. Evaluation of pepper intercropped with tall-companion crop in the management of Pepper veinal mottle virus potyvirus disease and its vectors on cultivated pepper (*Capsicum annum* L.) in Nigeria. Agricultural Journal 5, 205-210.
- Fereres, A., 2000. Barrier crops as a cultural control measure of non-persistently transmitted aphid-borne viruses. Virus Research 71, 221-223.
- Gómez, J.R., Osuna, G.J.A., Hernández, F.L.M., Urías, L.M.A., 2013. Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en el estado de Nayarit. Folleto Técnico No. 24. Campo Experimental Santiago Ixcuintla – INIFAP. Tepic, Nayarit, México. 70 p.
- Hilje, L., Costa, H.S., Stansly, P.A., 2001. Cultural practices for managing *Bemisia tabaci* and associated viral diseases. Crop Protection 20, 801-812.
- Jacobsen, B., Vincini, A.M., Tulli, M.C., Carmona, D.M., López, R.A., 2013. Trips transmisores de Tomato spotted wilt virus (TSWV) en cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L.) para la industria. Revista Latinoamericana de la Papa. 17, 73-101.
- Jones, T., Bessin, R., Strang, J., Rowell, B., Spalding, D., 2000. Kentucky pepper Integrated Crop Management. Grower Manual. College of Agriculture. University of Kentucky. IPM-13. 39 p.

- Karungi, J., Obua, T., Kyamanywa, S., Mortensen, C.N., Erbaugh, M., 2013. Seedling protection and field practices for management of insect vectors and viral diseases of hot pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) in Uganda. *International Journal of Pest Management* 59,103-110.
- McDougall, S., Tesoriero, L., 2011. Western flower thrips and tomato spotted wilt virus. NSW Government. Primary Industries. Primefact 713 Second Edition. 7 p.
- Meyerdirk, D.E., Oldfield, G.N., 1985. Evaluation of trap color and height placement for monitoring *Circulifer tenellus* (Baker) (Homoptera:Cicadellidae). *The Canadian Entomologist* 117, 505-511.
- Mitiku, A., Chala, A., Beyene, Y., 2013. The effect of intercropping of pepper with maize and sweet potato on infection of pepper (*Capsicum annuum* L.) by potyviruses and yield of pepper in Southern Ethiopia. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research* 1, 68-73.
- Nuez, F., Gil, O.R., Costa, J., 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Reimpresión. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 607 p.
- Patiño, H.L.F., 2008. Resistencia inducida mediante sustancias químicas a enfermedades en plantas causadas por hongos. *Politécnica* 7, 103-115.
- Ramiro, C.A., 1992. VR-91, variedad de chile Mirasol guajillo para el área norte centro de México. Folleto Técnico número 2. Campo Experimental Palma de la Cruz – INIFAP. San Luis Potosí, SLP. México. 14 p.
- Reitz, S.R., Yearby, E.L., Funderburk, J.E., Stavisky, J., Timur Momol, M., Olson, S.M., 2003. Integrated management tactics for *Frankliniella* thrips (Thysanoptera:Thripidae) in field-grown pepper. *Journal of Economic Entomology* 96, 1201-1214.
- Reveles, H.M., Velásquez, V.R., Reveles, T.L.R. Mena, C.J., 2013. Selección y conservación de semilla de chile: primer paso para una buena cosecha. Folleto Técnico Núm. 51. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP. Calera de V. R., Zacatecas, México. 43 p.

- Trejo-Saavedra, D.L., García-Neria, M.A., Rivera-Bustamante, R.F., 2013. Benzothiadiazole (BTH) induces resistance to *pepper golden mosaic virus* (PepGMV) in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Biological Research* 43, 333-340.
- Velásquez-Valle, R., Mena-Covarrubias, J., Reveles-Torres, L.R., Argüello-Astorga, G.R., Salas-Luévano, M.A., Mauricio-Castillo, J.A., 2012. First report of *Beet mild curly top virus* in dry bean in Zacatecas, Mexico. *Plant Disease* 96, 771.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., Reveles-Hernández, M., 2013a. Presencia de virus no persistentes en almácigos de chile y maleza invernal en Zacatecas, México. *Memorias. 10<sup>A</sup> Convención Mundial del Chile*. 104 – 109.
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L.R., Chew-Madinaveitia, I.Y., Mauricio-Castillo, J.A. 2013b. Virus y fitoplasmas asociados con el cultivo de chile para secado en el norte centro de México. Folleto Técnico Núm. 49. Campo Experimental Zacatecas – INIFAP. Calera de V. R., Zacatecas, México. 53 p.
- Wang, R.Y., Pirone, T.P., 1996. Mineral oil interferes with retention of tobacco etch potyvirus in the stylets of *Myzus persicae*. *Phytopathology* 67, 1418-1423.
- Yi, H-S., Yang, J.W., Choi, H.K., Ghim, S-Y., Ryu, C-M., 2012. Benzothiadiazole-elicited defense priming and systemic acquired resistance against bacterial and viral pathogens of pepper under field conditions. *Plant Biotechnology Reports* 6, 373-380.

## **REVISIÓN TÉCNICA Y EDICIÓN**

MC. Ernesto González-Gaona  
MC. Candelario Serrano Gómez  
MC. Francisco Javier Morales Santos

Campo Experimental Pabellón - INIFAP

## **DISEÑO DE PORTADA**

Dr. Luis Roberto Reveles Torres

## **Grupo Colegiado del CEZAC**

Presidente: Dr. Jaime Mena Covarrubias  
Secretario: Dr. Francisco G. Echavarría Cháirez  
Comisión Editorial y Vocal: Dr. Alfonso Serna Pérez  
Vocal: Dr. Guillermo Medina García  
Vocal: Ing. Manuel Reveles Hernández  
Vocal: Dr. Luis Roberto Reveles Torres  
Vocal: Dr. Jorge A. Zegbe Domínguez

La presente publicación se terminó de imprimir  
en el mes de diciembre de 2014 en la Imprenta Mejía,  
Calle Luis Moya No. 622,  
C. P. 98500, Calera de V. R., Zacatecas, México.  
Tel. (478) 98 5 22 13

Su tiraje constó de 500 ejemplares

[WWW.INIFAP.GOB.MX](http://WWW.INIFAP.GOB.MX)

