



# Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dirección de Investigación

Subdirección de Programación y Evaluación



## Proyecto de Investigación 2018

Unidad:	Saltillo	División:	Agronomía	Departamento:	Fitomejoramiento
Programa de Investigación:	Tecnología en Granos y Semillas				
Línea de investigación:	Postcosecha. Sanidad de Granos y Recursos Fitogenéticos				
Título del proyecto:	Efecto de parasitismo de virus fitopatógenos en el crecimiento de la planta y calidad de semilla de chile ( <i>Capsicum annum</i> , L.)				
Presupuesto solicitado (Máximo \$100,000)	\$30000.00	El proyecto es:	Nuevo	Continuación	X
Tipo de investigación:	Básica	Aplicada	X	Tecnológica	e-mail del responsable
Vinculación:	Si	X	No	Fondos concurrentes:	En especie
Cooperante(s):	Inst. Nal. De Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)-				
Entidad (es):	Coahuila, Tamaulipas	Municipio (s):	Saltillo		
Localidades:	Saltillo, Coah.; Tampico, Tamps.				
A realizar durante el año(s):	2017-2018				
Participantes		Adscripción (Clave Depto.)	Expediente No.	Firma	
Responsable	Dra. Leila Minea Vásquez Siller	TGS	3664		
Colaborador:	Dra. Norma Angélica Ruíz Torres	TGS			
Colaborador:	Dr. Alfonso López Benítez	FIT			
Colaborador:	Dr. David Sánchez Aspeytia	INIFAP - SALTILLO			
Colaborador:					
Colaborador:					
Colaborador:					
		Nivel estudios	Matrícula	Firma	
Tesista:	Pilar Espitia Hernández	Licenciatura	41011521		
Programa Docente:	Maestría en Tecnología de Granos y Semillas				
Tesista:					
Programa Docente:					
Tesista:					
Programa Docente:					
	Vo. Bo.		Autoriza		
Firma y sello					
Nombre	Dr. Alfonso López Benítez		Dr. Armando Robledo Olivo		
	Jefe de Departamento		Subdirector de Programación y Evaluación		

- Cada Jefe de Departamento deberá dejar copia para su archivo

DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

## Protocolo para Proyecto de Investigación 2018

Título del proyecto

**Efecto de parasitismo de virus fitopatógenos en el crecimiento de la planta y calidad de semilla de chile (*Capsicum annum*, L.)**

### Introducción

#### Justificación:

El chile es un fruto que tiene su origen en América tropical, se han encontrado evidencias arqueológicas donde señalan que fue uno de los primeros cultivos domesticados. Existen hallazgos de restos de semillas y fracciones de chile que remontan de hace 9000 años en excavaciones realizadas en Tamaulipas y Tehuacán, México. México es el principal centro de diversidad genética por lo que existe una gran diversidad del producto que se encuentran distribuidos a lo largo del territorio nacional.

Su utilización principal ha sido como condimento en las diferentes culturas americanas, sin embargo, su versatilidad permite que se use como colorante en alimentos, cosméticos, planta ornamental y religiosa, antimicrobiano, entre otros. Nutricionalmente, los chiles rojos son ricos en vitamina C y caroteno (provitamina A), los chiles amarillos y especialmente los verdes, contienen cantidades menores de ambas sustancias. En general son una buena fuente de vitaminas B, en especial la B6. (Orellana, et al. 2013)

Los principales países productores de chile son: China, Indonesia, Turquía, España, Estados Unidos, Nigeria y México. A nivel internacional, México ocupa el segundo lugar en producción de chile verde (Género *Capsicum*) con una producción de 2.3 millones de toneladas, dedicándole más de 140 mil hectáreas, ésta actividad genera alrededor de 30 millones de jornales en el campo, en la cual participan más de 12 mil productores. Con respecto a la producción mundial de chile seco, el país se encuentra en el octavo lugar, con 110 mil 275 toneladas anuales y una superficie cosechada de 59 mil 088 hectáreas. (FAO 2015, SIAP-SAGARPA 2015)

México exporta alrededor de 500 mil toneladas al año de chiles frescos y 60 mil de secos; en el año 2013, el chile fresco mexicano se exportó a 22 países, principalmente a Estados Unidos, seguido de Canadá, Japón y Guatemala. (SIAP-SAGARPA 2013)

Este fruto es cultivado prácticamente en todo México, aunque Chihuahua es el líder en la producción, le sigue Sinaloa, Zacatecas, San Luis Potosí y Michoacán, que en conjunto participaron con el 67.1% del valor y el 72.5% del volumen generados en 2012 (SIAP SAGARPA). En México se producen aproximadamente unas 50 variedades de chiles, entre las que se cultivan con más frecuencia están los verdes: jalapeño, serrano, poblano, pimiento morrón, habanero y los secos como: chile ancho, guajillo y de árbol. (SIAP-SAGARPA 2010)

El cultivo de ésta hortaliza es de suma importancia debido a su gran consumo, alta rentabilidad y a su amplia demanda de mano de obra.

A pesar de que enfermedades como la marchitez causada por *Phytophthora capsici* y la mancha bacteriana del fruto causada por *Xanthomonas vesicatoria*, continúan generando considerables pérdidas de hasta un 80% (Chew, et al. 2008). Se han identificado otros fitopatógenos de origen viral, los cuales son responsables de pérdidas en la producción de chile en México, tal es el caso de virus y bacterias.

Las enfermedades provocadas por virus, en los últimos años han ocasionado grandes pérdidas económicas en la producción de diversos cultivos en México. Dichas pérdidas varían año con año, así mismo estas han estado en función de condiciones climáticas, manejo del cultivo, control químico, de insectos y malezas, que van desde insignificantes hasta un 100% (Robles, et al. 2010)

Los síntomas más comunes que producen las infecciones virales son los mosaicos y manchas anulares (Agrios, 2005).

Los mosaicos, presentan áreas de color verde claro, amarillo o blanco, áreas blanquecinas combinadas con áreas de color normal de flores o frutos. De acuerdo con la intensidad, los síntomas de mosaicos se describen como moteado, raya, modelo anular, modelo linear, aclaramiento de nervaduras, bandeado de nervaduras o clorosis (Agrios, 2005).

Las manchas anulares, aparecen como anillos cloróticos o necróticos sobre las hojas, así como el fruto y tallo (Agrios, 2005).

Existen otros síntomas virales, los cuales son menos comunes, tal es el caso de: achaparramiento, enanismo, enrollamiento foliar, amarillamientos, roya, sarna, enación, tumores, picadura del tallo, picadura del fruto, aplanamiento y deformación del tallo (Agrios, 2005).

Las plantas, pueden encontrarse infectadas de forma simultánea por más de un virus, por lo que es de suma importancia llevar a cabo técnicas de diagnóstico especializadas que permitan detectar los virus fitopatógenos

rápidamente, con precisión y alto grado de sensibilidad dentro de ellas se encuentran: la identificación por sintomatología, pruebas fisiológicas en plantas indicadoras, pruebas serológicas como ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) y de biología molecular como PCR (Robles, et al. 2010).

Las más eficientes y confiables son las serológicas como ELISA y las de biología molecular como RT-PCR y PCR-MULTIPLEX; por su alta sensibilidad (Robles, et al. 2010).

La técnica de PCR, se basa en la propiedad de las ADN polimerasas para la replicación de hebras de ADN, se obtiene millones de copias a partir de una mínima cantidad de ARN en pocas horas (Robles, et al. 2010).

Sin embargo, la prueba de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), ha sido una de las más utilizadas para la detección de virus en plantas (Agrios, 2005).

La prueba de ELISA, es un procedimiento muy confiable y rápido para la detección de virus fitopatógenos, ya que a través de ella es posible detectar cantidades muy pequeñas de estos agentes en órganos de plantas enfermas. Su importancia reside en su sensibilidad, ya que permite identificar la presencia de patógenos importantes en especies o variedades de plantas que son tolerantes o resistentes, aun cuando no aparezcan síntomas (Agrios, 2005).

Las variantes más comunes de dicha prueba son: ELISA indirecto y ELISA directo (tipo sándwich), siendo esta última la más utilizada (Agrios, 2005).

En México, en plantaciones de chile se han encontrado patógenos de origen viral, principalmente los siguientes: TMV (Virus del mosaico del tabaco), PMMoM (Virus del moteado atenuado del chile), TBSV (Virus del enanismo arbustivo del tomate), CMV (Virus del mosaico del pepino), AMV (Virus del mosaico de la alfalfa), TEV (Virus del jaspeado del tabaco), PVY (Virus Y de la papa), PepMV (Virus del moteado del chile), ToRSV (Virus de la mancha anular del tomate), INSV (Virus de la mancha necrótica del impaciente), TSWV (Virus de la marchitez manchada del tomate), TRSV (Virus de la mancha anular del tabaco), TbRV (Virus cascabel del tabaco), ToMV (Virus del mosaico del tomate), TAV (Virus aspermia del tomate), PHYVV (Virus huasteco del chile), PepGMV (Virus del mosaico dorado del chile), BMCTV (Virus moderado de las puntas rizadas del betabel) y BSCTV (Virus severo de las puntas rizadas del betabel) (Robles, et al. 2010. Velásquez, et al. 2013).

Los virus son transmitidos de planta en planta, a través de diferentes formas como la propagación vegetativa, mecánicamente por medio de la savia, polen, insectos, ácaros, nematodos, la cuscuta, hongos y a través de semillas. (Agrios, 2005). Para poder efectuar un control eficiente de enfermedad viral, se aplican insecticidas que permitan controlar a los insectos que transmiten a los virus de una planta a otra, cuando así son dispersados. Otra es la utilización de semillas certificadas que estén libres de virus.

Reportes sobre transmisión de virus por semillas (Agrios, 2005) indican que de acuerdo a estudios realizados, sólo una mínima cantidad que va del 1 al 30% de las semillas que provienen de plantas infectadas por algún virus lo transmiten; la frecuencia de transmisión diferirá según la relación entre el virus y su hospedero.

Existe información limitada de la capacidad que tienen estos virus que se transmiten por semilla para continuar infectando en la emergencia de las plantas que se producen a partir de ésta semilla, y el impacto que puedan tener en la calidad fisiológica y fitosanitaria de las semillas producidas por las plantas enfermas, por lo que el presente trabajo expone los siguientes objetivos e hipótesis.

## Objetivos

### OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos de la infección de virus fitopatógenos en las etapas fenológicas del cultivo de chile.

### OBJETIVOS ESPECIFICOS:

- Detectar y cuantificar la microflora presente en semilla de chile proveniente de diversas áreas de cultivo en México
- Determinar los efectos de la transmisión de virus fitopatógenos por semilla de chile en el crecimiento y desarrollo de la planta así como en la calidad de semilla producida.
- Determinar los efectos en el crecimiento y desarrollo de la planta de chile, así como en la calidad de semilla producida por la inoculación en planta con virus fitopatógenos.

## Hipótesis

### HIPÓTESIS ALTERNATIVA

La infección de virus fitopatógenos puede afectar el desarrollo y crecimiento de la planta de chile y la calidad de semilla producida.

### HIPÓTESIS NULA

La infección de virus fitopatógenos no afecta el desarrollo y crecimiento de la planta de chile y la calidad de semilla producida.

## Revisión de Literatura

### Generalidades del cultivo

El chile es un fruto que tiene su origen en América tropical, se han encontrado evidencias arqueológicas donde señalan que fue uno de los primeros cultivos domesticados. Existen hallazgos de restos de semillas y fracciones de chile que remontan de hace 9000 años en excavaciones realizadas en Tamaulipas y Tehuacán, México. México es el principal centro de diversidad genética (SIAP, 2010).

### Descripción Botánica

*Capsicum annuum*, es una planta herbácea, subarborescente, erecta muy ramificada, leñosa en la base, alcanza una altura que va de 1 a 1.5 mts. (Pérez, et al, 2005 - Ayala, 2012). Sus partes se describen a continuación:

- Raíz. La raíz principal es pivotante, es fuerte, provista de varias raíces laterales, el sistema radicular alcanza profundidades de 0.7 a 1.20 mts. Aunque la mayoría están de 5 a 40 cm.
- Tallos. Son erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro.
- Hojas. Son de color verde oscuro, el número de hojas es controlado por el genotipo y por la temperatura, generalmente se desarrollan de 8 a 15.
- Flor. Se forman en las axilas de las ramas, son hermafroditas, de color blanco sucio. La relación entre hojas y flores es cercano a 1.
- Fruto. Es una baya constituida por un pericarpio grueso, succulento y un tejido placentario al que se unen las semillas.
- Semilla. Son de color amarillo pálido, miden de 3 a 5 mm de longitud.

El chile pertenece al género *Capsicum* y a la familia *Solanaceae* (cuadro 1), en el mundo existen de 28 a 30 especies, 5 de las cuales son domesticadas y el resto silvestres. (Pérez, et al. 2005)

### Importancia del cultivo

En México el cultivo de chile es de gran importancia, debido a que es considerado como centro de origen de algunas especies, existe una gran diversidad del producto que se encuentran distribuidos a lo largo del territorio nacional, entre las que se encuentran de 6 a 8 especies, cuatro cultivadas a nivel mundial: (SAGARPA 2014)

1. *C. annuum* L.
2. *C. frutescens* L.
3. *C. chinense*
4. *C. pubescens*

*C. annuum* es la especie más importante debido a su alta variabilidad en formas, colores, tamaños y sabores, así como también por sus usos (Maderas, 2013).

Los usos de los frutos naturales o procesados de *Capsicum annuum* son múltiples, principalmente ha sido como

condimento en las diferentes culturas americanas, sin embargo, su versatilidad permite que se use como colorante en alimentos, cosméticos, antimicrobiano, oleorresinas, entre otros (Maderas, 2013).

Uso culinario. Como especias, utilizado en gran cantidad de comidas, preparación de salsas, para rellenar, etc.

Industria alimentaria. Productos congelados, deshidratados (en trozos, polvo), encurtidos, enlatados, pastas, salsas, en dulces, empacado en fresco, entre otros.

Otros usos industriales. En la obtención de oleorresinas, las cuales son extractos solventes de especias. Fabricadas de chiles picantes deshidratados. Utilizado en la industria alimenticia para agregar sabor picante a las comidas, en la farmacéutica como estimulante.

Como colorantes en alimentos, por ejemplo el color amarillo de hojuelas de maíz.

Industria farmacéutica. En la composición de algunos medicamentos para combatir la atonía gastrointestinal y algunos casos de diarrea. (Pérez, et al. 2005)

## **Etapas fenológicas del cultivo de chile**

### **1. Germinación y emergencia**

El período de germinación varía entre 8 y 12 días, depende de muchos factores, entre ellos la humedad y temperatura, el rango térmico es de 20 a 30 días, aunque suele ser más rápida en esta última. (Ayala, 2012)

### **2. Crecimiento de la plántula**

Una vez desarrolladas las hojas del primer follaje, inicia el crecimiento de las hojas verdaderas, que son alternas y más pequeñas que las hojas de una planta adulta. A partir de este momento, se detecta un crecimiento lento de la parte aérea, mientras la planta sigue desarrollando el sistema radicular, es decir, alargando y profundizando la raíz pivotante y empezando a producir algunas raíces secundarias laterales. La tolerancia de la planta a los daños empieza a aumentarse, pero todavía se considera que es muy susceptible. (Orellana, et al. 2013)

### **3. Crecimiento vegetativo**

A partir de la producción de la sexta a la octava hoja, la tasa de crecimiento del sistema radicular se reduce gradualmente; en cambio la del follaje y de los tallos se incrementa, las hojas alcanzan el máximo tamaño, el tallo principal se bifurca y a medida que la planta crece, ambos tallos se ramifican. Generalmente la fenología de la planta se resume en: germinación y emergencia, crecimiento de la plántula, crecimiento vegetativo rápido, floración y fructificación. (Orellana, et al. 2013)

En caso de sembrarse por trasplante, éste debe realizarse cuando la plántula está iniciando la etapa de crecimiento rápido. La tasa máxima de crecimiento se alcanza durante tal período y luego disminuye gradualmente a medida que la planta entra en etapa de floración y fructificación, y los frutos en desarrollo empiezan a acumular los productos de la fotosíntesis. (Orellana, et al. 2013)

### **4. Floración y fructificación**

La madurez fisiológica de las semillas, se encuentra asociado con la maduración del fruto. Frutos cosechados tempranamente dan lugar a semillas de bajo vigor y viabilidad, mientras que las semillas extraídas de frutos maduros indican mayor viabilidad (Ayala, 2012). Bajo condiciones óptimas, la mayoría de las primeras flores produce fruto, luego ocurre un período durante el cual la mayoría de las flores aborta. A medida que los frutos crecen, se inhibe el crecimiento vegetativo y la producción de nuevas flores. (Orellana, et al.)

## **Producción de chile en México**

El cultivo de ésta hortaliza es de suma importancia debido a su gran consumo, alta rentabilidad y a su amplia demanda de mano de obra.

A nivel internacional, México es el segundo productor de chile verde con una producción de 2.3 millones de toneladas, con un valor que rebasa los 22 mil 500 millones de pesos, dedicándole más de 140 mil hectáreas, ésta actividad genera alrededor de 30 millones de jornales en el campo, en la cual participan más de 12 mil productores. En cuanto a la producción mundial de chile seco, el país ocupa el octavo lugar, con 110 mil 275 toneladas anuales y una superficie cosechada de 59 mil 088 hectáreas. (FAO 2015, SIAP-SAGARPA 2015).

Se producen aproximadamente unas 50 variedades de chiles, entre las que se cultivan con más frecuencia están los verdes: jalapeño, serrano, poblano, pimiento morrón y habanero; los secos como: chile ancho, guajillo y de árbol (cuadro 2).

Por mencionar algunas variedades, en el caso del chile habanero, se logró una producción estimada en 9,351 toneladas, con un valor de 166.9 millones de pesos, donde los principales estados productores de este cultivo fueron Yucatán, Tabasco y Campeche. En chile verde morrón, la producción fue de 104.4 mil toneladas con un valor de mil

491 millones de pesos y los estados que se destacan en su cosecha son Guanajuato, Jalisco, Querétaro, Durango y Coahuila. En chile seco, la producción alcanza las 98 mil 127 toneladas con un valor de seis mil 658 millones de pesos (SAGARPA 2017).

Los estados que aportan un mayor volumen a la producción nacional son Chihuahua, Zacatecas, San Luis Potosí y Durango. En 2015, fueron producidos dos millones 177 mil toneladas de chile verde con un valor de 14 mil 268 millones de pesos y los principales estados productores son Chihuahua, Sinaloa y Zacatecas, quienes aportan más de tercio del volumen nacional. (SAGARPA 2017)

Fuente: SIAP con información de las Delegaciones de la SAGARPA.

### Exportación de chile

Dentro de los 20 principales productos que comercializa el país a nivel internacional, los chiles y pimientos se ubican en el quinto lugar. El chile es el 8° cultivo de mayor valor en la agricultura nacional, dentro de éste sector, la exportación de chiles y pimientos ocupa el tercer lugar, le anteceden únicamente el tomate y aguacate. (SAGARPA 2014)

En los últimos años, 99% de las exportaciones de México son enviadas a la Unión Americana, y es el pimiento morrón el de mayor consumo con 370 mil toneladas, seguido de otras variedades, entre las que destaca el chile jalapeño, con 431 mil toneladas. (SIAP-SAGARPA 2014).

De acuerdo con datos de SAGARPA, México ocupa el tercer lugar mundial en exportación de chile fresco y el quinto de seco, con un comercio de 845 mil toneladas de este producto lo que generó divisas por alrededor de 560 millones de dólares en 2014; en el periodo enero – agosto de 2016, se obtuvieron 789 millones de dólares, lo que representó un aumento en términos anuales de 31.6%, uno de los crecimientos más destacados de este grupo. El chile fresco mexicano se exportó a 22 países, principalmente a Estados Unidos, seguido de Canadá, España, entre otros. (SIAP-SAGARPA 2017).

### Principales enfermedades en chile

Las plantas de chile se han visto infectadas por diversos patógenos que debilitan el rendimiento y calidad del producto ya sea verde o para secado. En cualquier etapa de su desarrollo es susceptible a presentar daño por enfermedades, ya sea biótica y abiótica. Las abióticas son causadas por factores ambientales extremos como temperatura, luz, humedad del suelo y deficiencias nutricionales. Las bióticas son causadas por hongos, bacterias, nematodos y virus.

A pesar de que las enfermedades como la marchitez (*Phytophthora capsici*) continúan provocando considerables pérdidas, se ha comprobado que otros patógenos, especialmente de origen viral o bacteriano, se encuentran presentes en las parcelas de chile en México y que en la actualidad están ocasionando daños en dimensión variable, pero que provisionalmente podrían convertirse en amenazas mayores, para este cultivo (Velásquez, et al. 2013)

A continuación se mencionan las principales enfermedades que afectan a los cultivos de chile en México. (Cuadro 3)

Las plantas contagiadas por virus pueden reducir la calidad y rendimiento del fruto, poseen un ciclo vegetativo más corto, dentro de los síntomas más comunes se encuentran: los más frecuentes son los que aparecen en el follaje, visibles en el tallo, frutos y raíces, formación de lesiones pequeñas, a menudo necróticas (lesiones locales).

Los síntomas más comunes que producen las infecciones virales son los mosaicos y manchas anulares.

Los mosaicos, presentan áreas de color verde claro, amarillo o blanco entremezcladas con las áreas de color normal de hojas o frutos o por áreas blanquecinas combinadas con áreas de color normal de flores o frutos. De acuerdo con la intensidad, los síntomas de mosaicos son descritos como moteado, raya, modelo anular, modelo lineal, aclaramiento de nervaduras, bandeado de nervaduras o clorosis. (Agrios, 2005)

Las manchas anulares, son caracterizadas por anillos cloróticos o necróticos sobre las hojas, así como el fruto y tallo. Los síntomas pueden desaparecer poco después de su aparición, el virus no, y reaparecen bajo determinadas condiciones ambientales. (Agrios, 2005)

Existen otros síntomas virales, los cuales son menos comunes, tal es el caso de: achaparramiento, enanismo, enrollamiento foliar, amarillamientos, roya, sarna, enación, tumores, picadura del tallo, picadura del fruto, aplanamiento y deformación del tallo. (Agrios, 2005)

Es común que se encuentre una planta infectada por más de un virus, muchas veces estos deterioros causados por diferentes virus, resultan ser similares o se confunden con daños realizados por herbicidas o desequilibrio nutricional.

En México, en plantaciones de chile se han encontrado patógenos de origen viral, principalmente los siguientes: TMV (Virus del mosaico del tabaco), PMMoM (Virus del moteado atenuado del chile), TBSV (Virus del enanismo arbustivo del tomate), CMV (Virus del mosaico del pepino), AMV (Virus del mosaico de la alfalfa), TEV (Virus del jaspeado del tabaco), PVY (Virus Y de la papa), PepMV (Virus del moteado del chile), ToRSV (Virus de la mancha anular del

tomate), INSV (Virus de la mancha necrótica del impaciente), TSWV (Virus de la marchitez manchada del tomate), TRSV (Virus de la mancha anular del tabaco), TbRV (Virus cascabel del tabaco), ToMV (Virus del mosaico del tomate), TAV (Virus aspermia del tomate), PHYVV (Virus huasteco del chile), PepGMV (Virus del mosaico dorado del chile), BMCTV (Virus moderado de las puntas rizadas del betabel) y BSCTV (Virus severo de las puntas rizadas del betabel (Robles, et al. 2010. Velásquez, et al. 2013).

### **Dispersión de los virus**

La mayoría de los virus son transmitidos de planta en planta, a través de diferentes formas, como: la propagación vegetativa, mecánicamente a través de la savia, por semilla, polen, insectos, ácaros, nematodos, hongos y cuscuta (Agrios, 2005).

#### **Transmisión de los virus mediante propagación vegetativa**

Se lleva a cabo mediante gemación o injerto, esquejes o por el uso de tubérculos, connos, bulbos o rizomas, cualquier tipo de virus que esté presente en la planta madre, casi siempre es transmitido a la progenie. (Agrios, 2005)

#### **Transmisión mecánica de los virus a través de la savia**

Puede realizarse entre plantas muy próximas, con vientos fuertes que hacen que las hojas de esas plantas se rocen y puedan presentar heridas, al intercambiar parte de su savia transmitiendo virus presente. Cuando las plantas son dañadas por el hombre durante las labores de cultivo en el campo o en el invernadero, parte de la savia infectada por virus, que se adhiere a las herramientas, manos o ropa se transfiere accidentalmente a plantas dañadas posteriormente, la transmisión del virus a través de la savia se extiende y se efectúa rápidamente. De forma limitada también se puede transmitir la savia infectada por virus de una planta a otra, con las partes bucales o el cuerpo de los animales que se aumentan y mueven entre plantas. (Agrios, 2005)

#### **Transmisión por semillas**

La mayoría de los virus que se transmiten por semilla, el virus proviene principalmente del óvulo de las plantas infectadas, pero existen casos en los que el virus que se encuentra en la semilla parece provenir, del polen que fertilizó a la flor. Existe una regla general, sólo del 1 al 30% de las semillas que provienen de plantas infectadas por un virus lo transmiten. En ciertos casos, como por ejemplo la soya, el virus se transmite por casi el 100% de semillas de plantas infectadas; en el melón del 28 al 94% el virus del mosaico de la calabaza y del 50 al 100% el virus del mosaico estriado de la cebada. (Agrios, 2005)

#### **Transmisión por el polen**

Los virus que son transmitidos por polen, no sólo afecta a las semillas y plántulas, sino que también pueden propagarse a través de la flor fecundada y descender hasta la planta madre para infectarla. (Agrios, 2005)

#### **Transmisión por insectos**

Es considerado el método de transmisión de virus más común e importante en el ámbito económico. Sin embargo, son pocos los grupos de insectos que pueden transmitir virus que infectan a plantas. Dentro de los que se encuentran: áfidos (Aphidae), chicharritas (Cicadellidae o Jassidae), chinches verdaderas (Hemiptera), trips (Thysanoptera), escarabajos (Coleóptera) y saltamontes (Orthoptera). (Agrios, 2005)

#### **Transmisión por ácaros**

Los ácaros de la familia Eriophyidae poseen partes bucales perforadoras y succionadoras, se ha demostrado que transmiten nueve virus, entre los que se encuentran: el mosaico rayado del trigo, mosaico del durazno y a los virus del mosaico del higo. (Agrios, 2005)

#### **Transmisión por nematodos**

Son veinte los virus aproximadamente que son transmitidos por una o más especies de cuatro géneros de nematodos ectoparásitos que habitan el suelo, tales como: los del género *Longidorus*, *Xiphinema*, *Trichodorus* y *Paratrichodorus*. (Agrios, 2005)

#### **Transmisión por hongos**

Dentro de los hongos que transmiten virus en plantas, se encuentra el hongo *Olpidium*, *Polymyxa*, *Spongospora*. (Agrios, 2005)

#### **Transmisión a través de la cuscuta**

Existe varios virus que pueden ser transmitidos de una planta a otra a través de la unión que se forma entre las dos plantas por los tallos enroscados de la planta parásita cuscuta. (Agrios, 2005)

Actualmente, no existe método de control con la capacidad de impedir el ataque de los virus en especies de cultivo. Una de las tácticas más utilizadas es el uso de insecticidas, productos químicos que permitan controlar a los insectos que transmiten a los virus de una planta a otra. Otra es la utilización de semillas certificadas que estén libres de virus.

Para poder efectuar un control eficiente de una enfermedad, primeramente es muy importante identificar el agente

causal, debido a que una buena determinación de éste, puede garantizar éxito en las medidas de control.

#### **Técnicas de detección de virus en plantas**

Las plantas, pueden encontrarse infectadas de forma simultánea por más de un virus, por lo que es importante realizar técnicas de diagnóstico especializadas que permitan la identificación correcta de los agentes virales, dentro de ellas se encuentran: la identificación por síntomas, pruebas fisiológicas en plantas indicadoras, pruebas serológicas y de biología molecular.

Las más eficientes y confiables son las serológicas como ELISA (Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a una Enzima) y las de biología molecular como RT-PCR (Transcripción Reversa-Reacción en Cadena de la Polimerasa) y PCR-MULTIPLEX por su alta sensibilidad. (Robles, 2010)

La técnica de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), es de alta sensibilidad, se basa en la propiedad de las ADN polimerasas para la replicación de hebras de ADN, se obtiene muchas copias a partir de un fragmento.

Sin embargo, la prueba de ELISA, ha sido una de las más utilizadas para la detección de virus en plantas.

La prueba de Elisa, es un procedimiento muy confiable y rápido para la detección de virus fitopatógenos, ya que a través de ella es posible detectar cantidades muy pequeñas de estos agentes en órganos de plantas enfermas. Su importancia reside en su sensibilidad, ya que permite detectar la presencia de patógenos importantes en especies o variedades de plantas que son tolerantes o resistentes, aun cuando no aparezcan síntomas. (Agrios, 2005)

Las variantes más comunes son: ELISA indirecto y ELISA directo.

ELISA directo. Es la más utilizada, la cual consiste en una placa microtituladora de poliestireno con cavidades, que se llenan con sustancias biológicas reactivas. (Agrios, 2005)

### Procedimiento Experimental

#### **Localización del sitio experimental**

El experimento se llevará a cabo en un invernadero situado en la sede de la UAAN, ubicada en Buenavista, Municipio de Saltillo, a 7 km, al sur de esta ciudad, sobre la carretera 54 (Saltillo-Zacatecas). Se localiza entre las coordenadas geográficas 25° 22" de latitud norte y 101° 02" longitud oeste y a una altitud de 1742 msnm.

Para llevar a cabo el cumplimiento de los objetivos, se realizará lo siguiente:

#### **Objetivo específico 1:**

Detectar y cuantificar la microflora presente en semilla de chile proveniente de diversas áreas de cultivo en México.

1. Contactar agricultores cooperantes de diferentes localidades por lo menos 5, para conseguir una mezcla compuesta de 2000 semilla de chile de sus parcelas.
2. Se aplicarán pruebas microbiológicas para detectar y cuantificar fitopatógenos transportados por la semilla de chile cuantitativamente en hongos y bacterias y cualitativamente en virus. En el caso de hongos y bacterias, se cultivaran muestras de 100 semillas distribuyéndolas en cajas Petri conteniendo medio de cultivo Papa Dextrosa Agar. Se realizará un pre tratamiento de la acesión respectiva con un desinfectante y se enjuagarán y secarán. Las semillas se dispondrán espaciadamente dentro de cada placa Petri incluyendo un máximo de diez semillas por placa. Se sellarán las cajas con parafilm Se incubaran a 25 °C durante 5-8 días con luz alternante día-obscuridad por períodos de doce horas. Se identificarán géneros de hongos y bacterias desarrollados (Agrios, 2005). Respecto a los virus fitopatógenos, se analizarán muestras de 100 semillas, se realizará un macerado con las semillas para determinar la presencia de los mismos a partir de la prueba de inmunotiras como diagnóstico preliminar, que consiste en el uso de membranas en forma de tira impregnada de anticuerpos que al contacto con un extracto de la planta reacciona generando una línea visible que denota la presencia del virus correspondiente, considerando tiras reactivas para TMV (Virus del mosaico del tabaco), CMV (Virus del mosaico del pepino), TEV (Virus del jaspeado del tabaco), AMV (Virus del mosaico de la alfalfa).

**Objetivo específico 2.** Determinar los efectos de la transmisión de virus fitopatógenos por semilla de chile en el

crecimiento y desarrollo de la planta así como en la calidad de semilla producida.

#### Experimento 1

1. Una vez obtenido los resultados microbiológicos, se escogerán 3 localidades, las que se encuentren con menor cantidad de hongos y bacterias y que tenga más número de virus.
3. Se obtendrán 400 semillas de cada localidad, se sembrarán en charolas de poliestireno de 200 cavidades.
4. Cuando se tengan plántulas, se elegirán 10 al azar dirigido considerando aquellas que presenten sintomatología viral, de cada población, es decir en total serán 30 plántulas. Se sembraran en invernadero en macetas de 25 cm de diámetro por 30 cm de profundidad.
5. Al mismo tiempo se evaluarán 3 plántulas por cada una de las localidades con la prueba de inmunotiras para descartar la presencia de virus, éstas deben estar sanas, las cuales serán consideradas como testigo.

**Objetivo específico 3:** Determinar los efectos en el crecimiento y desarrollo de la planta de chile, así como en la calidad de semilla producida por la inoculación en planta con virus fitopatógenos.

#### Experimento 2

1. Se obtendrán 40 plántulas de una sola localidad, la que se encuentre en mejor estado fitosanitario. Se sembrarán en invernadero, en macetas de 25 cm de diámetro por 30 cm de profundidad.
2. Se inocularán (tejido foliar macerado) con el virus CMV, considerando etapas fenológicas:
  - 10 plantas en estado de plántula
  - 10 plantas antes de floración
  - 10 plantas en inicio de fructificación
  - 10 plantas como testigo, las cuales deberán estar sanas, principalmente libres de virus fitopatógenos, se evaluaran cualitativamente mediante la prueba de inmunotiras.

El inóculo se realizara de la siguiente manera: Se inoculará la planta por fricción foliar en hojas opuestas jóvenes pero en plena capacidad fotosintética, se extraerá la savia con un macerado de una planta infectada por CMV (Virus del mosaico del pepino) en solución buffer, con un hisopo se va a friccionar levemente sobre 2 hojas opuestas de la planta (Agrios, 2005). Previamente se espolvoreará con un polvo abrasivo llamado carborundum.

Una vez alcanzado la madurez fisiológica de los frutos, de los dos experimentos, si se tienen plantas con sintomatología viral, se obtendrán 50 semillas de los frutos de cada planta:

- 25 semillas – Se realizara una prueba cualitativa con inmunotiras para determinar presencia de virus.
- 25 semillas – Se realizará una prueba cuantitativa con la técnica ELISA (Enzyme Linked Immuno sorbent Assay) Directo, la cual consiste en una placa microtituladora de poliestireno con cavidades, que se llenan con sustancias biológicas reactivas en el siguiente orden: 1. Anticuerpos del virus, 2. La preparación del virus, 3. Los anticuerpos específicos del virus con el complejo enzimático y 4. Un sustrato para esa enzima que permite el cambio de color si existe virus, se lee y cuantifica en un lector de microplacas (Agrios, 2005).

#### Variables a considerar en el experimento:

1. Plántulas con síntomas

2. Altura de planta en diferentes etapas fenológicas
3. Número de flores
4. Número de frutos por planta
5. Peso de los frutos de cada planta
6. *Peso individual de frutos de cada planta*
7. Número de semillas por fruto
8. Largo y ancho de fruto
9. Peso seco de raíz y follaje
10. Germinación
11. Vigor

### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se hará un diseño completamente al azar.

Modelo estadístico:

$$Y_{iJ} = \mu + T_i + \epsilon_{iJ}$$

Dónde:

$Y_{iJ}$  = Variable estudiada

$\mu$  = Media general del experimento

$T_i$  = Efecto de las  $i$  localidades

$\epsilon_{iJ}$  = Error experimental

Se obtendrá ANOVA para las variables a estudiar. (Ejemplo: Cuadro 5)

Se compararán medias usando la prueba de rango múltiple de Duncan.

Se realizará una correlación de Pearson.

### ASPECTOS GENERALES DEL MANEJO DE LOS EXPERIMENTOS

- El trasplante se hará en macetas dentro del espacio de un invernadero
- Se regaran manualmente a capacidad de campo, tentativamente 2 veces por semana.
- La fertilización se hará con fertilizantes foliares
- Se aplicarán insecticidas especializados para insectos chupadores, masticadores foliares diazinon y fungicidas foliares con mezclas de ridomil y clorotalonil, plaguicidas, de forma semanal.
- Para monitorear el arribo de insectos vectores, se usaran trampas amarillas pegajosas que se cambiarán semanalmente.

Cronograma de actividades en 2018

ACTIVIDADES	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Pruebas de diagnóstico fitosanitario y fisiológico de semilla a sembrar	X	X										
Siembra de almácigos		X	X									
Trasplante			X									
Inoculaciones con TMV			X		X		X					
Aplicación de plaguicidas				X	X	X	X	X	X	X		
Aplicación de Solución nutritiva				X	X	X	X	X	X	X		
Toma de datos de variables a medir				X	X	X	X	X	X	X		
Pruebas de diagnóstico fitosanitario y fisiológico de semilla cosechada									X	X	X	
Análisis estadístico de los ensayos realizados	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Escritura de artículo	X	X	X	X	X	X	X					
Escritura de tesis			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Examen de Grado												X

5.-Productos esperados

Información para próximos proyectos sobre temas relacionados

Información para presentación de congreso

Artículo científico

Tesis para obtención de grado

6.-Literatura citada

Agrios, G.N. 2006. Fitopatología. 2ª. Edición. Editorial Limusa S.A. de C.V. México D.F. Pp 648 – 733. 838 p.

Campbell M.K., Farrell S.O. 2003. Biochemistry. Fourth edition. Thomson. 725 p.

Chew, Y., Vega, A., Rodríguez, M., Jiménez, F. Principales enfermedades del chile (*Capsicum annum* L.). 1ª. Edición 2008 (en línea). Fecha de consulta 20 de mayo 2017. Disponible en:

<http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/bitstream/handle/123456789/2543/Principales%20enfermedades%20del%20chile%20capsicum%20annum%20l.pdf?sequence=1>

De la Cerda J.M., Carbajal E.M. Manual Técnico del manejo de chiles en campo abierto (en línea). Fecha de consulta 19 de mayo 2017. Disponible en:

<http://www.agronuevoleon.gob.mx/oeidrus/hortalizas/manualchiles.pdf>

Díaz, V. Milenio diario S.A. de C.V. Chile mexicano desplazado por el de otros países (en línea). Fecha de consulta 28 de mayo 2017. Disponible en:

[http://www.milenio.com/cultura/Chile-mexicano-desplazado-paises\\_0\\_565743425.html](http://www.milenio.com/cultura/Chile-mexicano-desplazado-paises_0_565743425.html)

Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. Panorama del chile (en línea). Fecha de consulta: 8 de abril 2017. Disponible en:

<http://www.financiararural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas/Ficha%20Chile.pdf>

Font, M.I., Jordá, C. Enfermedades virales del pimiento (en línea). Fecha de consulta: 8 de abril 2017. Disponible en:

<http://www.horticom.com/tematicas/pimientos/pdf/capitulo8.pdf>

Gilardi, P. Análisis de los inductores virales de la resistencia frente a tobamovirus en el género capsicum (en línea). Fecha de consulta: 18 de abril 2017. Disponible en:

<http://biblioteca.ucm.es/tesis/19972000/X/3/X3054401.pdf>

Gómez, R., Ozuna, J.A., Hernández, L.M., Urías, M.A. Virus fitopatógenos que afectan el cultivo de chile en el estado de Nayarit (en línea). Fecha de consulta: 17 abril 2017. Disponible en:

[http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3685/178\\_VIRUS%20EN%20CHILE%20-](http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/3685/178_VIRUS%20EN%20CHILE%20-)

[%202013.pdf?sequence=1](#)

González, A.C., Gill, E.M., Robles, L., Núñez, A., Pérez, R., Hernández, O.A. Detección de virus que afectan al cultivo de chile (*Capsicum annum* L.) en Chihuahua, México (en línea). Fecha de consulta: 4 de abril 2017. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-33092014000100004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092014000100004)

González, A.C., Gill, E.M., Robles, L., Pérez, L., López, J.C. Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección (en línea). Fecha de consulta: 19 abril 2017. Disponible en: [http://tecnociencia.uach.mx/numeros/.../numeros/v4n2/data/Virus\\_fitopatogenos\\_que\\_afectan\\_al\\_cultivo\\_del\\_chile\\_en\\_Mexico\\_y\\_analisis\\_de\\_las\\_tecnicas\\_de\\_deteccion.pdf](http://tecnociencia.uach.mx/numeros/.../numeros/v4n2/data/Virus_fitopatogenos_que_afectan_al_cultivo_del_chile_en_Mexico_y_analisis_de_las_tecnicas_de_deteccion.pdf)

Infoagro.com. Requena A.M., Requena M.E., Ezziyyani M., Candela M.E. Virosis en los principales cultivos hortícolas de la región Murcia. Fecha de consulta 13 de mayo 2017. Disponible en: [http://www.infoagro.com/hortalizas/virus\\_hortícolas\\_murcia.htm](http://www.infoagro.com/hortalizas/virus_hortícolas_murcia.htm)

La jornada, en línea. China principal proveedor de chile en México; en el país, se produce sólo 50% del consumo (en línea). Fecha de consulta 28 de mayo 2017. Disponible en:

<http://www.jornada.com.mx/ultimas/2014/09/28/china-principal-proveedor-de-chile-en-mexico-en-el-pais-se-produce-solo-la-mitad-de-lo-que-se-consume-4263.html>

Orellana F.E., Escobar J.C., Morales A.J., Méndez I.S., Cruz R.A., Castellón M.E. El cultivo de chile dulce (en línea). Fecha de consulta 20 de mayo 2017. Disponible en: <http://simag.mag.gob.sv/uploads/pdf/201412011299.pdf>

P&C Maderas. Catálogo Chile (*Capsicum annum*) (en línea). Fecha de consulta 27 de mayo 2017. Disponible en: [http://www.pcmaderas.net/SoporteTecnico/Chile\(CapsicumAnnum\).pdf](http://www.pcmaderas.net/SoporteTecnico/Chile(CapsicumAnnum).pdf)

Pérez, L., Casillas, A., Ramírez, R. El cultivo del chile y su importancia económica en el norte del Estado de Guanajuato, México. 1ª. Edición. Coordinación General Editorial. Guanajuato, México. Pp 13-18. 109 p. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 2011. Campos experimentales (en línea). Fecha de consulta: 1 de junio 2017. Disponible en:

[http://www.uaaan.mx/investigacion/comeaa/Campos\\_Experimentales\\_2011.pdf](http://www.uaaan.mx/investigacion/comeaa/Campos_Experimentales_2011.pdf)

SAGARPA, Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, México líder mundial en exportación de chile 2014 (en línea). Fecha de consulta: 20 mayo 2017. Disponible en:

<http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/sanluispotosi/boletines/Paginas/2015B076.aspx>

Servicio de información Agroalimentaria y Pesquera. 2010. Un panorama del cultivo de chile (en línea). Fecha de consulta: 4 de mayo 2017. Disponible en:

<file:///C:/Users/USUARIO/Documents/UNIVERSIDAD/PRIMER%20SEMESTRE/proyecto/Monografia-chile.pdf>

Velázquez, R., Reveles, L.R., Chew, Y.I., Mauricio, J.A. Virus y fitoplasmas asociados con el cultivo de chile para secado en el norte centro de México (en línea). Fecha de consulta: 18 abril 2017. Disponible en:

<http://www.zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/VFcultivoCh.pdf>