

# Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección

## Plant pathogenic viruses that affect pepper in Mexico and analysis of the detection techniques

LORETO ROBLES-HERNÁNDEZ<sup>1</sup>, ANA CECILIA GONZÁLEZ-FRANCO<sup>1,3</sup>, EMMA MONSERRATH GILL-LANGARICA<sup>1</sup>, LUIS PÉREZ-MORENO<sup>2</sup> Y JULIO CÉSAR LÓPEZ-DÍAZ<sup>1</sup>

Recibido: Febrero 3, 2010

Aceptado: Abril 13, 2010

### Resumen

El objetivo de este trabajo fue revisar los virus más importantes que afectan al cultivo del chile en México y analizar las técnicas que recientemente se han aplicado en su detección e identificación. Las enfermedades causadas por virus fitopatógenos tienen un impacto importante en la productividad del chile, ya que causan una reducción de hasta un 80%, debido a que estos "organismos" tienen la habilidad de infectar a la planta local y sistémicamente; en esta última, el virus entra a la célula, se replica y luego se mueve hacia el floema hasta colonizar toda la planta. En México se han reportado 13 géneros de virus que afectan al chile, los cuales causan síntomas variados, incluyendo enanismo, mosaicos, moteados, necrosis, clorosis, deformaciones, etc. Aunque en muchos casos, la descripción de la sintomatología, es suficiente para la identificación de algunos virus, las técnicas ELISA (Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a una Enzima), RT-PCR (Transcripción Reversa-Reacción en Cadena de la Polimerasa) y PCR-MULTIPLEX son las más utilizadas para la detección e identificación de virus fitopatógenos debido a que son métodos más precisos, confiables y rápidos. Con estas técnicas se pueden detectar concentraciones muy bajas de virus, y además se pueden identificar varios virus simultáneamente en una misma muestra. La información contenida en este manuscrito será de beneficio para los técnicos y productores de esta hortaliza quienes podrán contar con los conocimientos y herramientas alternativas que les permitan prevenir las enfermedades causadas por virus en el cultivo de chile.

**Palabras clave:** Virus fitopatógenos, *Capsicum annuum*, ELISA, RT-PCR, PCR MULTIPLEX

### Abstract

The objective of this work was to review the most important pepper affecting viruses in Mexico and to analyze the newest techniques used for their detection and identification. Diseases caused by plant viruses have an important impact in the economy of pepper because they reduce the yield up to 80%, due to these "organisms" have the ability to infect the plant locally and systemically. In systemic infections, the virus enters into the cell, replicates and moves to the phloem until colonize the whole plant. In Mexico there have been reported 13 virus genera that affect pepper, which cause a variety of symptoms, including dwarfing, mosaic, mottle, necrosis, yellowing, deformations, etc. Although in some cases the description of symptoms is enough to identify some viruses, the techniques ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), PCR MULTIPLEX and RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) are the most used to detect and completely identify plant pathogenic viruses due to the accuracy, reliability, and short time detection. These techniques can be used to detect threshold viral concentrations and identify simultaneously several viruses in the same sample. This information will provide to technicians and producers the tools to prevent viral diseases in pepper.

**Keywords:** Plant pathogenic viruses, *Capsicum annuum*, ELISA, RT-PCR, PCR MULTIPLEX.

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua, Ciudad Universitaria S/N Campus 1, Chihuahua, Chih., 31310.

<sup>2</sup> División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato, Ex Hacienda El Copal km. 9; carretera Irapuato-Silao; A. P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Gto., México.

<sup>3</sup> Dirección electrónica del autor de correspondencia: conzalez@uach.mx.

## Introducción

Dentro de los países productores de chile a nivel mundial, México ocupa el tercer lugar con una producción de 2, 258, 562.44 t y un valor de la producción de más de 12 mil millones de pesos (SIAP-SAGARPA, 2007). Esta hortaliza es una de las más importantes por su amplio consumo, alta rentabilidad y su gran demanda de mano de obra. Sin embargo, las enfermedades ocasionadas por virus son causa de pérdidas en la producción de chile por la capacidad de infección que tienen estos organismos (Pérez y Rico, 2004).

Casi todas las enfermedades virales causan cierto grado de enanismo en la planta y una reducción total de la producción y generalmente las plantas infectadas tienen un ciclo vegetativo más corto. Los síntomas más comunes causados por los virus incluyen enanismo, mosaicos, moteados, necrosis, clorosis, deformaciones, etc. (Agrios, 2004). A nivel nacional se han reportado 13 especies de virus, incluyendo TEV (*Virus jaspeado del tabaco*), CMV (*Virus mosaico del pepino*), PVY (*Virus Y de la papa*), TMV (*Virus del mosaico del tabaco*), PMMoV (*Virus moteado atenuado del chile*), INSV (*Virus mancha necrótica del impaciente*), PepMV (*Virus moteado del chile*), AMV (*Virus del mosaico de la alfalfa*), TbRV (*Virus cascabel del tabaco*), TBSV (*Virus del achaparramiento arbustivo del tomate*), TRSV (*Virus mancha anular del tabaco*), ToRSV (*Virus mancha anular del tomate*) y TSWV (*Virus de la marchitez manchada del tomate*) (Pérez y Rico, 2004; Núñez *et al.*, 1996). En algunos casos los síntomas son suficientes para identificar ciertas especies de virus; sin embargo, para su identificación plena, es fundamental el uso de métodos más confiables y rápidos como ELISA, PCR y RT-PCR. La técnica de ELISA se ha convertido en una valiosa herramienta de detección, debido a que su sensibilidad permite detectar concentraciones muy bajas del patógeno y, además se pueden procesar muchas muestras al mismo tiempo. La técnica RT-PCR es muy confiable y tiene como función obtener millones de copias a partir de una mínima cantidad de ARN en pocas horas (Nelson y Cox, 2006). La virosis del chile representa un riesgo importante para la producción del cultivo en México, ya que

no sólo afecta el rendimiento del cultivo sino también la calidad del fruto. Además, la falta de conocimiento de la existencia de los virus que potencialmente pueden afectar al chile y de la existencia de las técnicas de detección e identificación de los virus, ha causado que las enfermedades virales sean recurrentes cada año. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue revisar los virus más importantes que afectan al chile en México y analizar las técnicas que recientemente se han utilizado para su detección, con el fin de que el productor de chile utilice esta información para prevenir o controlar las enfermedades de tipo viral en su cultivo.

*Importancia del cultivo del chile en México.* México es uno de los países más importantes en la producción de chile, aportando más de dos millones de toneladas anuales (SIAP-SAGARPA, 2007). Del total de la producción nacional, aproximadamente el 70% se exporta a EE.UU. Los principales estados productores de chile jalapeño son: Chihuahua (25%), Zacatecas (9.3%), San Luis Potosí (5.9%), Guanajuato (1.3%) y Sonora (1.2%), entre otros (SIAP-SAGARPA, 2007).

*Importancia social del cultivo de chile.* El cultivo de chile se encuentra distribuido en todo el mundo y de acuerdo al área sembrada y a los volúmenes de producción, que año tras año se incrementan, es actualmente una de las especias más importantes que condimenta los alimentos, se estima que en la población mundial, una de cada cuatro personas lo consume diariamente. El auge que tiene el chile en la alimentación, se debe en gran medida a la variedad de formas, usos y aromas que presenta. Para varios estados del país, el chile

es el producto agrícola más importante desde el punto de vista económico por el alto valor de su producción y el impacto social que representa, por la generación de empleos en el medio rural y la activación económica de otros sectores como son los transportistas, procesadores, proveedores de recursos y prestadores de servicios. En las regiones donde se produce este cultivo, se estima que son necesarios de 200 a 350 jornales por año para las labores del cultivo y cosecha (Pozo, 2004).

*Enfermedades virales reportadas en el cultivo de chile en México.* Las enfermedades en los cultivos hortícolas, constituyen uno de los factores de mayor riesgo de pérdidas en la producción, por lo que resulta importante protegerlos del ataque de las mismas. Para el control de cualquier enfermedad, es de gran importancia conocer al agente causal por medio de su identificación a través de las diversas técnicas que lo permitan, y así implementar diferentes medidas de prevención (Pérez y Rico, 2004). En los últimos años, las enfermedades causadas por virus han ocasionado fuertes pérdidas económicas en la producción de chile en México. Estas enfermedades se han incrementado en casi todas zonas productoras del país (Rico, 2002). La incidencia de las enfermedades virales varía de un año a otro y depende de las condiciones climáticas, el manejo del cultivo y el control químico, biológico y cultural de insectos vectores y malezas hospederas (Agrios, 2004). Los virus son considerados como el grupo de agentes patógenos más importantes y peligrosos en plantas (Agrios, 2004). Su característica principal es la gravedad del daño que ocasionan y la dificultad para combatirlos (Pérez y Rico, 2004; González y Delgadillo, 1989; Harris, 1994).

En México, los virus que se han encontrado en plantaciones de chile se ubican principalmente en cuatro familias: *Potyviridae* (TEV, PVY y PepMV), *Bromoviridae* (CMV y AMV), *Bunyviridae* (INSV y TSWV) y *Comoviridae* (TRSV y ToRSV). Por otro lado, TMV, PMMoV, TBSV y TbRV sólo se han

clasificado a nivel género. TMV y PMMoV pertenecen al género *Tobamovirus*; TBSV y TbRV a los géneros *Tombusvirus* y *Tobravirus*, respectivamente. El *Virus jaspeado del tabaco* (TEV) ha sido identificado como causante de pérdidas en el rendimiento de chile. A nivel mundial TEV es considerado importante, debido al daño que provoca en cultivos de interés económico, comprendidos principalmente dentro de la familia de las solanáceas. La enfermedad del “enchinamiento” ha convertido en improductivas muchas de las siembras de chile localizados en regiones tropicales y subtropicales de México (Pérez y Rico, 2004).

Desde mediados de los 80's, los geminivirus (con genoma de DNA) comenzaron a tener un papel importante, causando pérdidas en el rendimiento del cultivo de chile. Los geminivirus que se reportan son: “*Virus rizado amarillo del chile*”, “*Virus planta atigrada del chile*” (VPACH) y geminivirus *Virus huasteco del chile* (VHCh). Además se han encontrado en una sola planta varios tipos de virus como; VJT-VMP, VJT-VMP-VMAT. En Puebla, en 1979, se presentó una epifitía que afectó una superficie de 1,200 ha de chile. Esta enfermedad fue nombrada “*Virus planta atigrada del chile*”, por el color amarillo en ciertas áreas de las hojas. Las mermas en rendimiento fueron desde insignificantes hasta del 100%, según la etapa de desarrollo del cultivo cuando fue infectado. En Tamaulipas en 1986, se consignó una enfermedad viral llamada “*Virus rizado amarillo*” que afectó en un 90% el rendimiento del chile del tipo serrano y jalapeño y un 80% en 1997, tornándose así en un serio problema para este cultivo en el norte del país (Pérez *et al.*, 2004). En el estado de Guanajuato se muestrearon plantas de chile confirmándose la presencia de los virus PVY, TbRV y CMV, siendo el virus TbRV el más virulento (Pérez *et al.*, 2004).

Las enfermedades causadas por virus limitan de manera importante la producción. Un virus puede provocar o inducir diferentes síntomas en diferentes cultivares de la misma especie. Es común que una sola planta esté infectada por más de un virus. Las mezclas de

virus causan síntomas que son claramente diferentes a las causadas por cualquiera de los virus de forma individual. Por otra parte, los síntomas de enfermedades causadas por virus pueden ser similares a los síntomas de deficiencias nutricionales y los daños por herbicidas. Por lo tanto, es difícil de diagnosticar las enfermedades virales basándose solamente en la sintomatología. El control de los virus en plantas es particularmente difícil, debido a la falta de variedades resistentes y la carencia de productos químicos que controlen la infección viral. Además, la mayoría de los virus en plantas son transmitidos por insectos y por lo tanto están muy dispersos en la naturaleza. La combinación de comunidades de plantas naturales que albergan los virus y los insectos vectores de vuelo crea un patosistema complejo. Los intentos de controlar algunos de los virus que infectan al cultivo de chile a través de insectos vectores se complica aún más por la capacidad de los insectos de desarrollar resistencia a los insecticidas, como en el caso de la mosca blanca, o para transmitir virus tan rápidamente que los insecticidas no son eficaces como ocurre con los áfidos que transmiten los virus en forma no persistente. Además, la naturaleza esporádica de brotes de virus complica aún más el manejo de las enfermedades virales (Murphy *et al.*, 2003).

### Descripción de los virus que afectan al cultivo de chile

*Virus del jaspeado del tabaco (TEV)*. El TEV pertenece a la familia *Potyviridae* y al género *Potyvirus*; se observa como una varilla flexible al microscopio electrónico y causa la formación de inclusiones celulares granulosas y fibrosas vacuoladas extranucleares en tomate; la presencia de cristales intranucleares puede relacionarse con el virus del jaspeado del tabaco. Se han observado en chile, tomate y tabaco inclusiones del tipo citoplásmicas granulosas cerca del núcleo, casi de su mismo tamaño, e inclusiones nucleares de forma cuadrada, rectangular, además de cristales

triangulares en el citoplasma. La transmisión del TEV se da mecánicamente, por semilla y por áfidos de manera no persistente; se ha detectado en áfidos virulíferos de la especie *Myzus persicae* (Reddick, 2003). Se reporta la presencia del TEV en México, en el valle de Culiacán, norte de Sinaloa y Yucatán, aunque también es importante a nivel mundial, debido al daño que provoca en la producción de varios cultivos de interés económico, principalmente de la familia de las solanáceas. En México, este virus ha causado pérdidas en el rendimiento de chile, tomate y tabaco. Puede ocasionar necrosis en variedades de chile serrano y tomate. La sinuosidad de la nervadura central y el bandeado de las venas pueden asociarse con infecciones por el TEV en chile serrano (Pérez y Rico, 2004). Este virus provoca enchinamiento de las hojas, reducción del crecimiento, amarillamiento y un mosaico fuerte (coloración de tonos verde y amarillo). Los frutos se deforman y se tornan amarillentos, reduciendo la calidad comercial del producto (Reddick, 2003) (Figura 1A).

*Virus del mosaico del pepino (CMV)*. Este virus pertenece a la familia *Bromoviridae* y al género *Cucumovirus*. El CMV es un virus con partículas de 25 nm con simetría isométrica. La cápside está compuesta de 180 subunidades, está formado por tres cadenas de ARN y dos subgenomas. Su transmisión se facilita a través de la savia y también por medio de áfidos, como el áfido común del durazno, en forma no persistente; se transmite mecánicamente por semilla en melón y calabaza y por áfidos como *Aphis gossypii* y *Myzus persicae* (Astier *et al.*, 2006). Este virus fue encontrado por primera vez en 1974 en México, afectando plantas de chile en la región sur de Tamaulipas, en el Bajío y en Culiacán, Sinaloa. Actualmente se encuentra reportado en los estados de Tamaulipas, Sonora, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Morelos, Guerrero, Guanajuato, Veracruz y Tabasco. Es muy común encontrar este virus asociado con otros, como el *Virus jaspeado del tabaco*, lo cual dificulta estimar los daños que causa por sí solo. Sin embargo, se

reporta un 83% de daño en el sur de Tamaulipas. En plantaciones de chile jalapeño en Jalisco se estima una incidencia del 90%. En 1985, en Veracruz y en Sinaloa se reportó hasta un 100% de daño (Pérez y Rico, 2004). En plantas de chile afectadas por este virus, se observa un mosaico que se inicia en la base de la hoja y una distorsión de la misma. El virus puede causar una defoliación, necrosis en puntos de crecimiento de plantas jóvenes y aborto de flor. En plantas en floración, causa necrosis o muerte de los tejidos nuevos provocando la caída de hojas jóvenes y de flores, con lo cual disminuye el número de frutos por planta. Generalmente, las ramillas y parte de los tallos presentan tejidos muertos (Pérez y Rico, 2004; Murphy, 2003) (Figura 1B).

*Virus Y de la papa (PVY)*. El PVY pertenece a la familia *Potyviridae* y al género *Potyvirus*, se caracteriza porque es un virus filamentosos flexible de 12 nm x 680-900 nm. Pueden distinguirse muchos grupos de razas de acuerdo a la severidad de síntomas sistémicos en tabaco, papa, tomate y chile. Los grupos más importantes son: PVY<sup>O</sup>, PVY<sup>N</sup> y PVY<sup>C</sup>. Las inclusiones en forma de molino se observan en tabaco y papa infectados sistémicamente con PVY; además induce inclusiones citoplasmáticas amorfas, granuladas y microcristales de forma cuadrada (Astier, *et al.*, 2006). El virus se transmite a través de tubérculos infectados de papa para semilla y por áfidos en forma no persistente; *Myzus persicae* es la especie más eficiente en muchas áreas y estaciones (Arteaga y Ponz, 2003; Astier, *et al.*, 2006). Se ha reportado al PVY en México particularmente en Puebla, Toluca, Coahuila y Nuevo León. El PVY es considerado uno de los virus más dañinos en la papa, aunque también afecta a las plantas de chile, tomate y tabaco, causando pérdidas considerables en estos cultivos (Pérez y Rico, 2004). Los síntomas que produce varían, desde un moteado moderado a severo en la mayoría de sus hospederos, hasta un rayado de la hoja que es el resultado de las lesiones necróticas que se producen a lo largo de las nervaduras, en el

envés de los folíolos de algunas variedades de papa. Cuando el *Virus Y de la papa* aparece en mezcla con el *Virus X de la papa*, produce un mosaico rugoso, en el que las plantas se ven enanas y los tubérculos son de menor tamaño (Hull, 2002; Arteaga y Ponz, 2003; Astier, *et al.*, 2006) (Figura 1C).

*Virus del mosaico del tabaco (TMV)*. Este virus pertenece al género *Tobamovirus* que aún no es ubicado en familia; con una partícula de una cadena de 300 nm x 18 nm con simetría helicoidal. La subunidad de la cápside es de 18 KDa, se ha observado en *Nicotiana tabacum* var. *xanthi*. En Chile y tomate infectados con el TMV se observan inclusiones citoplásmicas nucleares cuadradas y cristales hexagonales en el citoplasma (Astier *et al.*, 2006). El TMV es muy infeccioso, se transmite por contacto en operaciones de trasplante o por el roce entre plantas enfermas y sanas. El virus se mantiene en tabaco seco, por lo que se recomienda que los trabajadores no fumen tabaco y éstos deben lavarse las manos al manipular las plantas. El virus es transmitido por áfidos y su transmisión por semilla ha sido reportado en Veracruz (Pérez y Rico, 2004; Himmel, 2003; Astier *et al.*, 2006). En México se ha reportado su presencia en el valle de Culiacán, Sinaloa y en Yurécuaro y Tanoato, Michoacán. Las hojas afectadas por el TMV muestran parches amarillos o verdes. Las áreas amarillas se secan y las plantas desarrollan y producen poco. Las hojas y frutos afectados se distorsionan y presentan un mosaico amarillo pálido (Figura 1D). El TMV causa lesiones locales y mosaico sistémico en *Nicotiana tabacum* var. *xanthi*. (Himmel, 2003; Astier *et al.*, 2006).

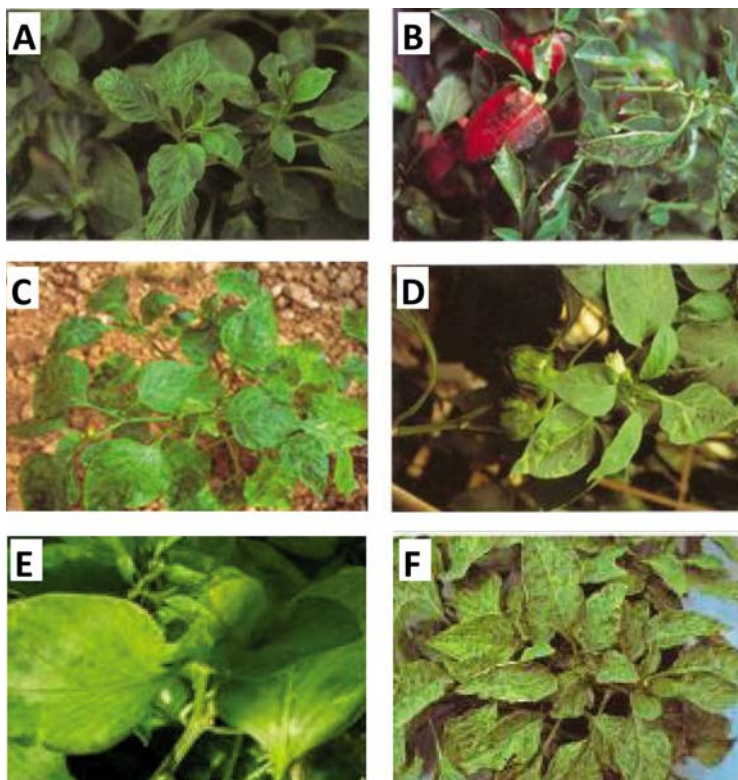
*Virus moteado atenuado del chile (PMMoV)*. El PMMoV es miembro del género *Tobamovirus* que aún no es ubicado en familia. Los viriones son rígidos, con partículas en forma de bastón, aproximadamente de 312 x 18 nm, son muy estables y pueden persistir en el ambiente por periodos largos de tiempo. El virus típicamente induce capas anguladas en el citoplasma en plantas de chile infectadas. No

se conoce un vector biológico para el PMMoV. La planta es infectada por desechos en el suelo y las semillas contaminadas son comúnmente el origen de la infección primaria en el campo. El virus puede permanecer por meses en el suelo en hojas infectadas, tallos y raíces (Green, 2003; Hull, 2002). El *Virus moteado atenuado del chile* se ha manifestado en todo el mundo en plantas de chile. El PMMoV reduce drásticamente la producción de fruto. Brotes severos de este virus se han reportado en México y España en campo e invernaderos. La mezcla de infecciones del PMMoV con otro *Tobamovirus*, como el TMV y el ToMV es muy común en campo. El PMMoV generalmente causa síntomas leves, semejantes al moteado y mosaico verde o amarillo, en hojas de plantas de chile. Los frutos son pequeños, con moteado y deformados, con hundimiento o áreas necróticas o ambos. Los síntomas varían de

acuerdo a la cepa viral del cultivo de chile y el tiempo de infección (Green, 2003) (Figura 1E).

*Virus moteado del chile (PepMoV)*. El PMMoV es miembro del género *Potyvirus* de la familia *Potyviridae*. Las partículas de estos virus son filamentosas de aproximadamente 737 nm de longitud. El genoma del PMMoV consiste de una molécula de una hebra de RNA de 9,640 nucleótidos de largo (Hull, 2002). El PMMoV es transmitido de manera no persistente por ninfas y adultos de áfidos (*Myzus persicae*). Otras especies de áfidos sirven de vectores pero *M. persicae* es considerado el más eficiente. La transmisión por semilla de PMMoV es frecuente en el cultivo de chile y maleza de la familia de las solanáceas. La mezcla de infecciones de PMMoV, PVY y TEV ocurre frecuentemente en el campo (Murphy y Zitter, 2003; Hull, 2002). El *Virus moteado del chile* se ha encontrado al sur de Estados Unidos, California, México y Centro

**Figura 1.** Principales síntomas ocasionados por los virus fitopatógenos: *Virus jaspeado del tabaco* (TEV) (A), *Virus del mosaico del pepino* (CMV) (B), *Virus Y de la papa* (PVY) (C), *Virus del mosaico del tabaco* (TMV) (D), *Virus moteado atenuado del chile* (PMMoV) (E), *Virus moteado del chile* (PepMoV) (F).



América. En un ambiente controlado, semejante a un invernadero este agente infeccioso puede desarrollar lesiones cloróticas en hojas de algunas variedades de chile. Las hojas jóvenes inoculadas inicialmente desarrollan un pronunciado a moderado moteado. El moteado ocasiona que las hojas jóvenes infectadas tiendan a ser pequeñas en comparación con hojas de plantas sanas y son frágiles. En *Capsicum frutescens* "Tabasco", el PMMoV induce lesiones necróticas locales en hojas inoculadas. La infección en etapas tempranas del desarrollo de las plantas puede impedir el crecimiento de las hojas (Murphy y Zitter, 2003) (Figura 1F).

*Virus del mosaico de la alfalfa (AMV)*. El AMV es miembro del género *Alfamovirus*, de la familia *Bromoviridae*. El genoma del AMV consta de tres componentes distintos de ARN de cadena simple junto con un componente subgenómico de ARN, un ARN mensajero, que codifica la proteína de la cápside viral. El virión completo consta de cuatro partículas baciliformes de 18 nm y 30-56 nm de largo (Astier *et al.*, 2006). El AMV es transmitido de manera no persistente por lo menos en 14 especies de áfidos, incluido el áfido verde del durazno (*Myzus persicae*), el áfido del guisante o chícharo (*Acyrtosiphon pisum*), y el áfido azul de la alfalfa (*A. kondoi*). Los vectores pueden adquirir el virus después de pocos minutos de alimentarse de plantas infectadas y pueden inmediatamente transmitirlo a plantas sanas. La transmisión al cultivo de chile es una función de la presión (fuerza) de población causada por áfidos transitorios más que por el número de áfidos colonizadores (Creamer, 2003). El AMV se produce en todo el mundo y afecta a una amplia gama de cultivos y malezas; es causa de importantes pérdidas en los cultivos de chile en países como Bulgaria, Hungría, Yugoslavia y México. La infección se produce cada año en el oeste de Estados Unidos, pero la enfermedad no suele ser económicamente importante, salvo en los chiles cultivados cerca de los campos de alfalfa. El AMV puede causar pérdidas en el

rendimiento de hasta un 65% (Creamer, 2003). Los síntomas típicos en plantas infectadas de chile con el AMV son mosaico amarillo brillante en hojas o manchas blancas en un patrón de mosaico en las hojas. Las plantas infectadas cuando son jóvenes se atrofian y producen frutos deformes (Astier *et al.*, 2006; Creamer, 2003) (Figura 2A).

*Virus de la mancha anular del tabaco (TRSV)*. Este virus pertenece a la familia *Comoviridae* y al género *Nepovirus*. El TRSV consta de dos partículas de 28-30 nm con simetría isométrica. La subunidad de la cápside es de 57 KDa. El TRSV es transmitido por los nematodos *Longidorus* spp. y *Xiphinema* spp. No se ha encontrado transmisión por semilla de chile (Hull, 2002; Astier *et al.*, 2006). Se ha detectado en plantaciones comerciales de chile en Ciudad Delicias, Chihuahua y Yucatán (Pérez y Rico, 2004). El síntoma mayor en TRSV, se presenta en forma de anillos concéntricos y líneas irregulares en las hojas y algunas veces en el fruto. Las líneas pueden consistir de tejidos amarillosos o puede ser debido a la muerte de las capas superficiales de células (Hull, 2002; Pérez y Rico, 2004) (Figura 2B).

*Virus del achaparramiento arbustivo del tomate (TBSV)*. El TBSV es miembro del género *Tombusvirus* que aún no es ubicado en familia. El TBSV tiene un molécula de una cadena de ARN (4.7 Kb). Las otras proteínas, incluyendo la subunidad de la cápside, son expresados en un ARN subgenómico (Astier *et al.*, 2006). El virus moteado del chile se ha encontrado en Estados Unidos y México (Hull, 2002). En las hojas apicales de tomate se observa un fuerte amarillo a veces con necrosis que pueden llegar hasta el pecíolo y tallo; otras veces las hojas aparecen de un fuerte color morado y en los frutos se observa fuertes necrosis con zonas hundidas, manchas y deformaciones (Figura 2C). Se transmite por suelo y agua, por contacto, de forma mecánica, por propagación vegetativa y algunas veces por medio del hongo *Olpidium brassicae* (Hull, 2002; Astier *et al.*, 2006).

*Virus del cascabel del tabaco* (TbRV). Este virus pertenece al género *Tobravirus* que aún no es ubicado en familia, el cual consta de un par de partículas con dimensiones de 22 x 180-215 y 46-115 nm, con simetría helicoidal; es transmitido por varias especies de nematodos de los géneros *Trichodorus* y *Paratrichodorus* (Hull, 2002; Astier *et al.*, 2006). El virus del cascabel del tabaco existe en muchas partes del mundo (Pérez y Rico, 2004). Afecta a muchas plantas hospederas y produce síntomas que van desde el enrollamiento o plegamiento de las hojas, colapso de las nervaduras y necrosis sistémica en el tabaco y moteado y mancha anular suberosa del tallo en la papa, hasta las manchas anular y amarilla del chile, remolacha azucarera y otras plantas (Pérez y Rico, 2004; Hull, 2002) (Figura 2D).

*Virus de la mancha anular del tomate* (ToRSV). Este virus pertenece a la familia *Comoviridae* y al género *Nepovirus*. El ToRSV es un virus poliédrico de 28 nm de diámetro, que se transmite por el nematodo *Xiphinema*. En algunos hospedantes, este virus también se transmite a través de las semillas (Pérez y Rico, 2004; Hull, 2002). La *Mancha anular del tomate* se encuentra ampliamente distribuida en Norteamérica y se ha detectado también en otras partes del mundo. No es de menor importancia para la producción de tomate, y además, en su caso, infecta a muchas otras plantas hospedantes y ocasiona pérdidas importantes en muchos hospedantes perennes (Pérez y Rico, 2004). Este virus produce sobre todo mosaicos y manchas anulares, y en ocasiones se acompaña de necrosis sistémica; sin embargo, en plantas hospedantes perennes, a menudo no causa síntomas característicos en el follaje, si no afecta la base de la planta (Pérez y Rico, 2004; Hull, 2002) (Figura 2E).

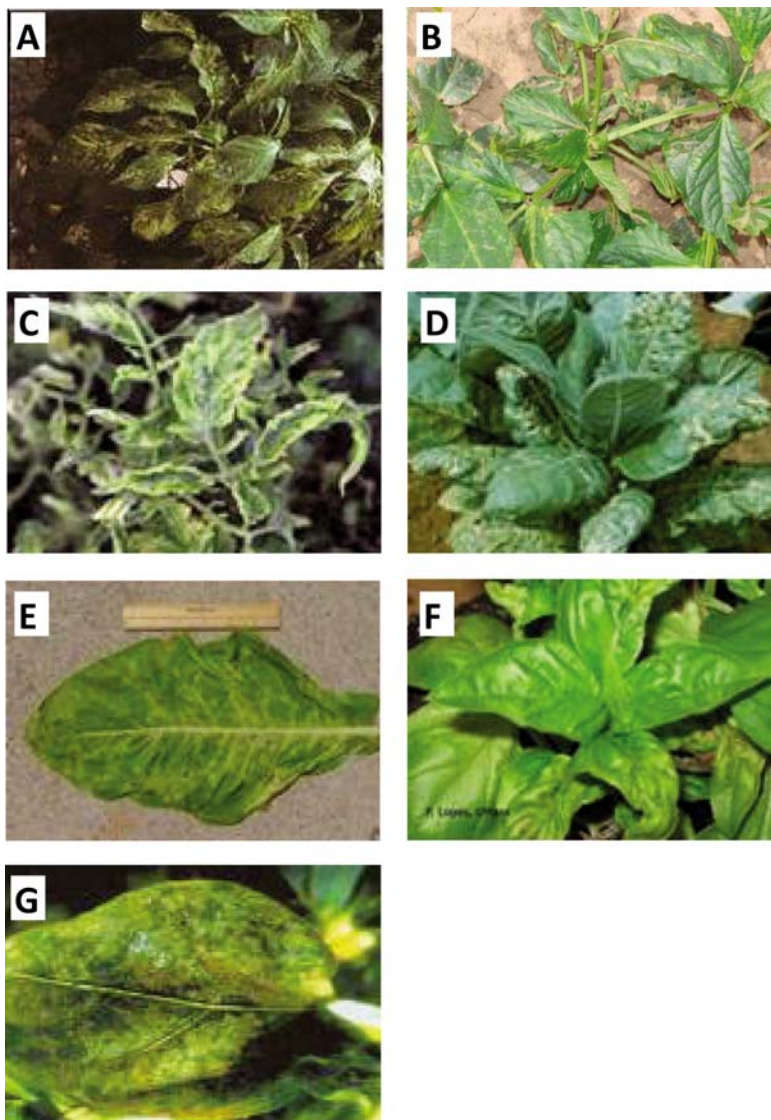
*Virus mancha necrótica del impaciente* (INSV). El virus es miembro del género *Tospovirus* de la familia *Bunyviridae*. Su forma general es irregular, esférica y la

nucleocápside tiene simetría helicoidal. El virus es transmitido por material vegetativo contaminado y determinadas especies de trips. El vector más importante es el trips occidental (*Frankliniella occidentalis*) en forma persistente, el cual es capaz de permanecer virulífero mucho tiempo. Este vector también radica en malezas (Robert, 2009; Astier *et al.*, 2006). El *Virus mancha necrótica del impaciente* (INSV) es un problema histórico en México, Estados Unidos y Hawái (Astier *et al.*, 2006). El virus se ha observado en los cultivos de chile y tomate, también en la floricultura. Los síntomas en chile se presentan como distorsión en las hojas y en el fruto se desarrollan anillos necróticos. En el tomate se presenta necrosis en las hojas y la planta puede llegar a marchitarse totalmente. En el fruto ocasiona manchas necróticas circulares (Robert, 2009; Astier *et al.*, 2006) (Figura 2F).

*Virus de la marchitez manchada del tomate* (TSWV). Este virus pertenece a la familia *Bunyviridae* y al género *Tospovirus*; La partícula es globular pleomórfica de 80-100 nm. El virus contiene tres partículas ribonucleoproteicas (Astier *et al.*, 2006). En tomate se han observado inclusiones citoplásmicas amorfas y esféricas muy cerca del núcleo o adyacentes a este; las inclusiones de mayor tamaño son vacuoladas. El virus de la marchitez manchada del tomate es transmitido por trips en forma persistente y es adquirido únicamente en estado ninfal y no por adultos; sin embargo, los adultos lo transmiten. Las especies más importantes son: *Trips tabaci*, *Frankliniella fusca*, *F. schultzei* y *F. occidentalis*. El virus también se transmite mecánicamente y por semilla (Pérez y Rico, 2004; Adkins, 2003). Este virus se ha manifestado en diversas partes del mundo, y en México, se señala su presencia en el norte de Sinaloa, Villa Guerrero, Morelos; en Yurécuaro y Tanoato, Michoacán.



**Figura 2.** Principales síntomas ocasionados por los virus fitopatógenos: *Virus del mosaico de la alfalfa* (AMV) (A), *Virus de la mancha anular del tabaco* (TRSV) (B), *Virus del achaparramiento arbustivo del tomate* (TBSV) (C), *Virus cascabel del tabaco* (TbRV) (D), *Virus de la mancha anular del tomate* (ToRSV) (E), *Virus mancha necrótica del impaciente* (INSV) (F), *Virus de la marchitez manchada del tomate* (TSWV) (G).



Desde hace varios años el TSWV se identificó en la región de Villa Guerrero, causando pérdidas superiores al 60%. En Sinaloa, se encuentra una variante muy destructiva que provoca el tizón de las puntas, la cual puede causar más del 50% de pérdidas en los rendimientos de tomate y de chile (Pérez y Rico, 2004). Los síntomas son una necrosis en los folíolos de las hojas. En tallo y

pecíolo se presentan manchas o líneas similares de color café oscuro. Las plantas infectadas presentan escaso desarrollo y hojas marchitas; hay curvamiento de los pecíolos hacia abajo y muerte descendente de estos. La característica más importante es que los frutos presentan unos círculos necróticos (Pérez y Rico, 2004; Adkins, 2003) (Figura 2G).

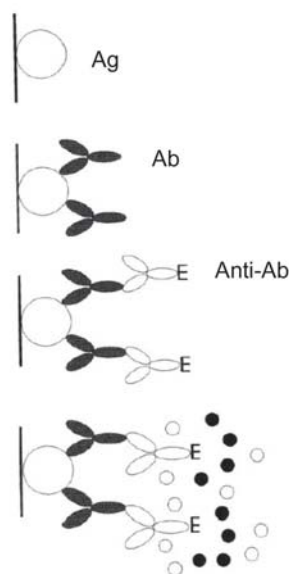
## Técnicas de detección e identificación de virus fitopatógenos

Dentro de las técnicas más comunes para la identificación de virus se encuentran la identificación por síntomas, pruebas fisiológicas en plantas indicadoras, pruebas serológicas y de biología molecular. Sin embargo, la identificación de los virus por sintomatología no es confiable, debido a que dichos síntomas se pueden confundir con desórdenes nutricionales o por daños causados por herbicidas. Por otro lado, las técnicas más eficientes y confiables son las serológicas como ELISA y las de biología molecular como RT-PCR y PCR-MULTIPLEX por su alta sensibilidad, las cuales se describen a detalle en los siguientes apartados.

*Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a una Enzima (ELISA).* La prueba de ELISA es un método muy confiable y rápido para la detección de virus fitopatógenos, ya que hace posible la detección de cantidades muy pequeñas de estos agentes en órganos de plantas enfermas (Cruz y Frías, 1997). La optimización y automatización de la técnica ELISA, se ha convertido en una valiosa herramienta de detección y diagnóstico de enfermedades causadas por virus (Clark y Adams, 1977), ya que ha permitido la elaboración de estrategias de manejo integrado de enfermedades, mejorando la calidad y sanidad de los cultivos, así como su competitividad y rentabilidad. La importancia del uso de ELISA radica en su sensibilidad, que permite detectar la presencia de patógenos importantes en especies o variedades de plantas que sean tolerantes o resistentes, aún cuando no muestren síntomas (Ezequiel *et al.*, 2006). La sensibilización de ELISA es superior a otras pruebas serológicas, por lo que ha sido utilizada ampliamente para la detección de diversos patógenos en plantas (Cruz y Frías, 1997). Para una mayor precisión, se han desarrollado algunas variantes de ELISA que permiten desde la cuantificación de un antígeno en solución hasta la detección de un anticuerpo en una solución. A continuación se describen los tipos de ELISA más comunes (Reina, 2003).

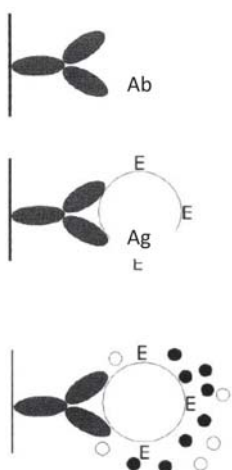
*ELISA indirecto.* Este método es ampliamente usado para la detección de especies de virus específicos. La especificidad de la prueba está dirigida por el antígeno de la fase sólida, el cual puede ser de alta pureza y bastante caracterizado o relativamente crudo y no caracterizado (Roitt *et al.*, 1993), consiste en la adsorción del antígeno a una placa de poliestireno seguida de la adición del anticuerpo específico, el cual reacciona con el antígeno adheridos a la placa, enseguida se agrega el anticuerpo secundario conjugado a la enzima. Una vez formada la secuencia biológica de antígeno más anticuerpo, más anticuerpo secundario ligado a una enzima, se adiciona el sustrato, el cual es hidrolizado por la enzima dando lugar a un cambio de color de la solución y esto permite determinar los resultados visualmente y cuantificarlos espectrofotométricamente por medio de un lector de microplacas (Figura 3) (Providencia y Fernández, 2004).

**Figura 3.** ELISA indirecto. Los anticuerpos (Ab) de una especie en particular reaccionan con el antígeno (Ag) unido a la fase sólida. Los anticuerpos unidos son detectados por la adición de un antisuero específico (Anti-Ab) marcado con enzima (E). Después de un período de incubación y lavado, el sustrato (O) se añade y permite el cambio o desarrollo del color (Roitt *et al.*, 1993).



**ELISA directo.** Esta variante de ELISA consiste en la adsorción de anticuerpos específicos a una placa de poliestireno seguida de la adición de los antígenos, los cuales reaccionan con los anticuerpos adheridos a la placa. Enseguida se agregan anticuerpos ligados con enzimas que se adhieren a los patógenos capturados en la placa. Una vez formada la secuencia biológica de anticuerpo más antígenos, más anticuerpo ligado a una enzima, se adiciona el sustrato, el cual es hidrolizado por la enzima dando lugar a un cambio de color de la solución y esto permite determinar los resultados visualmente y cuantificarlos espectrofotométricamente por medio de un lector de microplacas (Cultek, 2006). Una desventaja de esta estrategia es que puede generar un diagnóstico deficiente debido a que los antígenos raramente están marcados y por ello pueden ser sobre o subestimados (Figura 4) (Roitt *et al.*, 1993).

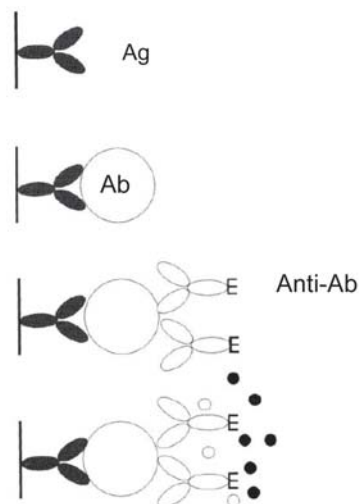
**Figura 4.** Directo-antígeno marcado. El antígeno (Ag) marcado con la enzima (E), pueden ser capturados con anticuerpos (Ab) unidos a la fase sólida. Después de un período de incubación y lavado, el sustrato (O) se añade y permite el cambio o desarrollo del color (Roitt *et al.*, 1993).



**DAS-ELISA.** Esta técnica se le conoce como ELISA tipo sándwich y es un tipo de ELISA directo que se emplea más comúnmente para la detección e identificación de virus fitopatógenos (Cruz y Frías, 1997). Este método se ha utilizado

con mucho éxito para la detección de virus en ajo (Pérez *et al.*, 2006) y chile (Pérez *et al.*, 2004) en el estado de Guanajuato. La técnica de DAS-ELISA consiste en la adsorción de anticuerpos específicos a una placa de poliestireno seguida de la adición de los antígenos, los cuales reaccionan con los anticuerpos adheridos a la placa. Para formar el sándwich se agregan nuevamente anticuerpos ligados con enzimas que se adhieren a los antígenos capturados en la placa. Una vez formada la secuencia biológica de anticuerpo, más antígenos, más anticuerpo ligado a una enzima, se adiciona el sustrato, el cual es hidrolizado por la enzima dando lugar a un cambio de color de la solución y esto permite determinar los resultados visualmente y cuantificarlos espectrofotométricamente por medio de un lector de microplacas (Figura 5) (Cruz y Frías, 1997). Se debe tener en cuenta que los preparativos para determinar el antígeno no se pueden conectar directamente a microplacas, ya que están en baja concentración o que se encuentran en altas concentraciones de contaminación de proteínas (Roitt *et al.*, 1993).

**Figura 5.** ELISA sándwich-directo. Este sistema aprovecha los anticuerpos (Ab) unidos a la fase sólida a la captura del antígeno (Ag). Esto es detectado utilizando una enzima (E) marcada con el suero específico (Anti-Ab) para el antígeno. El anticuerpo se marca con la detección de la enzima. Después de un período de incubación y lavado, el sustrato (O) se añade y permite el cambio o desarrollo del color (Roitt *et al.*, 1993).



*Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)*. Con la técnica de PCR se obtiene un gran número de copias a partir de un fragmento de ADN. Esta técnica se emplea para la identificación de virus, bacterias, personas, etc. Esta técnica se fundamenta en la propiedad de las ADN polimerasas para replicar hebras de ADN. Se emplean ciclos de altas y bajas temperaturas alternadas para separar las hebras de ADN recién formadas entre sí, tras cada fase de replicación. Después, se unen a polimerasas para que vuelvan a duplicarse. Las ADN polimerasas termoestables utilizadas, son extraídas de microorganismos adaptados a vivir altas temperaturas. El proceso de la PCR está automatizado mediante un termociclador, el cual permite calentar y enfriar los tubos de reacción para cada etapa. (Klug y Cummings, 1999; Madigan *et al.*, 2008). Los componentes de esta técnica son: (i) desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs), (ii) sustrato para polimerizar nuevo ADN, (iii) dos oligos, complementarios a una de las dos hebras del ADN que son secuencias cortas de 6 a 40 nucleótidos que son reconocidos por la polimerasa permitiendo iniciar la reacción, (iv) los iones divalentes de magnesio como  $MgCl_2$  o monovalentes como el potasio, (v) una solución amortiguadora que mantiene el pH en rangos adecuados para el funcionamiento óptimo de la polimerasa, (vi) la Taq polimerasa, (vii) el fragmento de ADN que se va a amplificar y (viii) el termociclador. El proceso de PCR generalmente consiste en una serie de 20 a 35 ciclos conformados por varias etapas (Campbell y Farrell, 2003; Walter y Gingold, 1997).

En la etapa de desnaturalización se separan las hebras del fragmento de ADN. Este paso puede realizarse con un incremento en la temperatura, donde comúnmente es a  $95^{\circ}C$ ; sin embargo, este valor depende de la proporción de G+C y del largo de la cadena de ADN. Otros métodos utilizan sales minerales como agentes químicos para realizar la desnaturalización.

En la etapa de alineamiento, los oligos se unen a su secuencia complementaria en el ADN molde. Para ello es necesario bajar la

temperatura a  $50-70^{\circ}C$  durante 20-40 segundos, permitiendo así el alineamiento. Los puentes de hidrógeno estables entre las cadenas de ADN (unión ADN-ADN) sólo se forman cuando la secuencia del oligo es muy similar a la secuencia del ADN molde. Los oligos actuarán como límites de la región de la molécula que va a ser amplificada.

En la etapa de elongación de la cadena, la ADN polimerasa toma de molde el fragmento de ADN para sintetizar la cadena complementaria, partiendo del oligo para la síntesis del nuevo ADN. Para lo anterior, la polimerasa va añadiendo los dNTP's complementarios en dirección  $5' - 3'$ , uniendo el grupo  $5'$ - fosfato de los dNTPs con el grupo  $3'$ - hidroxilo de la hebra del ADN creciente. La temperatura y el tiempo para este paso depende de la ADN polimerasa empleada y del tamaño del fragmento a amplificar.

La etapa de terminación, se lleva a cabo a una temperatura de  $70-74^{\circ}C$  durante 5-15 minutos en el último ciclo de PCR para asegurar que cualquier ADN de cadena simple restante sea totalmente amplificada. Finalmente, la etapa de conservación se lleva a cabo de  $4$  a  $15^{\circ}C$  durante un tiempo indefinido para conservar la reacción a corto plazo.

Para verificar que la PCR ha generado el fragmento de ADN deseado, se emplean técnicas de electroforesis que separan los fragmentos de ADN generados de acuerdo a su carga, longitud y tamaño. La electroforesis se realiza en geles de agarosa para fragmentos grandes y en acrilamida para fragmentos pequeños. Existen variantes de PCR, incluyendo PCR anidada, PCR *in situ*, PCR multiplex, RT-PCR y PCR tiempo real (Q-PCR) (Campbell y Farrell, 2003; Walter y Gingold, 1997). Las variantes de PCR más utilizadas para la detección e identificación de virus fitopatógenos son PCR multiplex y RT-PCR.

*Transcripción Reversa-Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR)*. La RT-PCR es una técnica que en la biología molecular se utiliza ampliamente para identificar virus de ARN. Para su aplicación se necesita la transcriptasa reversa

para realizar la conversión del ARN a ADNc. A partir de una mínima cantidad de ARN se puede obtener millones de copias en pocas horas. La transcriptasa reversa es una enzima de tipo ADN-polimerasa que tiene como función sintetizar ADNc de cadena sencilla utilizando como molde ARN monocatenario. Esta enzima se encuentra presente en los retrovirus. Una forma sencilla de síntesis de ADNc de cadena sencilla por medio de la transcriptasa reversa, es partir de un oligo cola de poli-T que establece bases complementarias con la cola de poli-A del ARN transcrito. El híbrido puede separarse mediante ribonucleasas, y con la acción de una ADN-polimerasa y un nuevo oligo, se completa la hebra de ADN para formar la doble hebra. El virus de RNA contiene en el interior una DNA polimerasa dependiente de RNA denominada transcriptasa reversa. Durante la infección el genoma de RNA monohebra y la enzima penetran en la célula del hospedero. Esta enzima cataliza primero la síntesis de una cadena de DNAc del RNA vírico. A continuación degrada la cadena de RNA del híbrido ARN-ADN vírico y lo reemplaza por DNA. La integración es catalizada por una integrasa codificada por el virus. La transcriptasa inversa requiere un oligo para iniciar la síntesis de DNA. El cebador es un tARN incluido dentro de la partícula vírica, obtenido durante una infección anterior. Este tARN se une en su extremo 3' con una secuencia complementaria del RNA vírico. La nueva cadena de DNA se sintetiza en dirección 5'a 3' como en todas las reacciones de las ARN Y ADN polimerasas (Nelson y Cox, 2006).

**PCR-MULTIPLEX.** Para realizar esta prueba es necesario llevar a cabo la técnica Transcriptasa Reversa (TR) en virus con ARN. El PCR-Multiplex es un método en la cual se amplifica más de una secuencia en una misma reacción. Emplea dos o más pares de oligos en un único tubo con el fin de amplificar simultáneamente múltiples segmentos de ADN. Consiste en combinar en una única reacción los pares de oligos de los sistemas que se requieren amplificar simultáneamente, junto con el resto de los reactivos de la reacción en cantidades suficientes. Para evitar contaminación el área de trabajo debe ser en un lugar aislado. El riesgo de


contaminación cruzada con productos de PCR amplificados anteriormente es alto. Este problema se vuelve aún más grave cuando se clonan los productos. Comparado con la PCR simple, la PCR-multiplex tiene una serie de ventajas. Consiste en obtener información de varios loci (posición fija sobre un cromosoma, un ejemplo es la posición de un gen) en una sola reacción, esto se logra mediante la amplificación de un número casi ilimitado de fragmentos de la misma cantidad de ADN molde que se utiliza para un único producto de PCR estándar. La especificidad de esta técnica es proporcionada por los oligos. Esta prueba reduce considerablemente la aparición de falsos positivos o contaminación. El éxito de la amplificación depende fundamentalmente de la sensibilidad del oligo, la especificidad y homogeneidad de la temperatura. La longitud máxima de los fragmentos amplificados por los oligos está limitada por el ADN molde. La ADN polimerasa utilizada en esta prueba no debe contener ADN para evitar la amplificación inespecífica. Algunas de las polimerasas utilizadas que producen altos rendimientos en condiciones desfavorables son Gold Taq, Platinum Taq y Accuprime Taq. Recientemente, esta técnica se ha estado estandarizando para algunos géneros de virus de plantas; se ha usado ampliamente para identificar el PVY y CMV. En el caso de PVY se ha utilizado para separar las variantes PVY<sup>N:O</sup>, PVY<sup>NTN</sup>, PVY<sup>N</sup> y PVY<sup>O</sup> en una misma reacción (Lorenzen *et al.*, 2006).

## Conclusiones

En este documento se describe la importancia de los virus de RNA que afectan el cultivo de chile en México y otros países. Asimismo, se analizan las técnicas serológicas y de biología molecular que han sido ampliamente utilizadas en la identificación de agentes de tipo viral que afectan al cultivo del chile. La técnica ELISA es una de las pruebas serológicas más utilizadas por presentar una amplia especificidad y confiabilidad en el diagnóstico de enfermedades virales. Por otro lado, RT-PCR y PCR-MULTIPLEX son los métodos de biología molecular más recientes

en la identificación de virus. RT-PCR se utiliza para identificar mayormente virus de ARN, mientras que PCR-MULTIPLEX se emplea para la identificación de virus tanto de ADN como de ARN. La ventaja que tiene este método con respecto al de RT-PCR es que se puede utilizar para identificar virus a nivel de serotipo como se ha demostrado en los virus PVY y CMV. Dicha información será de utilidad para los técnicos de campo y de laboratorio al conocer los principios y aplicaciones de las técnicas descritas, así también será de utilidad a los productores de chile para solicitar un diagnóstico más completo a fin de identificar de manera precisa los agentes virales y así prevenir las enfermedades virales antes de que representen un riesgo para el cultivo.

## Literatura citada

- ADKINS, S. (2003). Tomato spotted wilt virus. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. pp 39-40.
- AGRIOS, G. N. (2005). Plant pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press. San Diego, CA. 922 p.
- ARTEAGA, L. M., Ponz, F. (2003). Virus Y de la papa. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. pp 35-36.
- 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.
- BERG, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. T. (2002). Biochemistry. Fifth edition. W. H. Freeman and Company, New York. 894 p.
- CAMPBELL, M. K., Farrell, S. O. (2003). Biochemistry. Fourth edition. Thomson. 725 p.
- CLARK, M.F., Adams, A. N. (1977). Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *General Virology*. 34: 475-483.
- CREAMER, R. (2003). *Alfalfa mosaic virus*. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. pp 24-26.
- CRUZ, F. M. y Frías, T. G. A. (1997). Guía ilustrada de la prueba de inmunoabsorción con enzimas ligadas para la detección de fitopatógenos. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Subsecretaría de Agricultura y Ganadería, Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria, Dirección General de Sanidad Vegetal, Centro Nacional de Referencia de Diagnóstico Fitosanitario. México, DF. 23 p.
- CULTEK. (2006). Fundamentos y tipos de ELISAS. Protocolo y técnicas. URL: <http://www.cultek.com>.
- DE LA PROVIDENCIA, L. y Fernández, F. (2004). Factibilidad del uso de una ELISA indirecto para la detección de *Glomus clarum*. Cultivos tropicales. Vol 25. No 2. pp 19-22.
- GONZÁLEZ, L. R. y Delgadillo, S. F. (1989). Inclusiones producidas por algunos virus fitopatógenos. Memorias del XIV congreso nacional de la sociedad mexicana de fitopatología. Jalapa, Veracruz, México. Resumen, p 89.
- GREEN, S. K. (2003). *Pepper mild mottle virus*. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. pp 32-33.
- GREEN, S. K., Hikias, Y., Lesemann, D. E., Vetten, H. J. (1999). Characterization of *chilli vein mottle virus* as a potyvirus distinct from pepper vein mottle virus. *Petria* 9(3):332.
- HARRIS, M. (1994). Enfermedades virales de la calabacita. en: Katy O Keelfe Johns Smark, Ana Reho, y Luis Ringer (eds). Productores de hortalizas. Willoughby, Ohio, EE.UU. pp 42-43, 70.
- HIMMEL, P. T. (2003). *Tobacco mosaic virus*. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. pp 38-39.
- HULL, R. (2002). *Matthews plant virology*. Fourth edition. Academic Press. San Diego, California. 1001 p.
- INIFAP. Instituto nacional de investigaciones forestales, agrícolas y pecuarias. (2008). URL: <http://inifap.mx>.
- KLEIN, M. (1992). Role of circulerifer/neoaliturus in the transmission of plant pathogens. in: Advances in disease vector research. K. F. Harris. *Springer-Verlag*, New York. Vol. 9. pp 152-193.
- KLUG S.W., Cummings R.M. (1999). Conceptos de genética. Quinta edición. Prentice Hall. 814 p.
- LORENZEN, J. H., Piche, L. M., Gudmestad, N. C., Meacham, T., Shiel, P. (2006). A multiplex PCR assay to characterize *Potato virus Y* isolates and identify strain mixtures. *Plant Disease*. 90:935-940.
- MURPHY, J. F. (2003). *Cucumber mosaic virus*. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. pp 29-31.
- MURPHY, J. F., Warren, C. E. (2003). Diseases caused by viruses. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. pp 23-24.
- MURPHY, J. F., Zitter, T.A. (2003). *Pepper mottle virus*. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. pp 33-34.
- NELSON, L.D., Cox M.C. (2006). *Lehninger principios de bioquímica*. Cuarta edición. Omega. 1119 p.
- NÚÑEZ, F.; Ortega, G. R, y Costa, J. (1996). El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Editorial Mundi Prensa. España. 607 p.
- PÉREZ, M. L., y Rico, J. E. (2004). Virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato. Primera edición. Universidad de Guanajuato. p 143.
- PÉREZ, M. L.; y Rico, J. E. (2006). Identificación de virus fitopatógenos en ajo (*Allium sativum* L.), en el Estado de Guanajuato, México. Universidad de Guanajuato, 25:11-17.
- POZO, C. O. 2004. Importancia económico-social y cultural del chile. 1-8 pp. En: curso-taller producción y manejo integral del cultivo del chile. Folleto técnico No. 2. CONAPROCH. Tampico, Tamaulipas, México. 68 p.
- REDDICK, B. B. (2003). *Tobacco etch virus*. Compendium of pepper diseases. APS PRESS. p 38.
- REINA, M. (2003). Métodos en biología celular. Material docente diseñado y elaborado por Manuel Reina. URL: <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>
- 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. p 267.
- ROBERT, L. W. (2009). Greenhouse crops and floriculture. UMass extension. The college of natural sciences. Department of Microbiology. URL: <http://www.umass.edu>.
- ROITT, I. M., Brostoff, J., Male, D. K. (1993) Immunology, Third edition. Mosby, St. Louis, MO. 34 p.
- SIAP-SAGARPA (2007). Servicio de la información agroalimentaria y pesquera de la secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. Delegación en el Estado. Subdelegación de planeación. URL: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.
- SIKORA, J. E. (2004). Extension plant pathologist. *Tabacco etch virus*. Alabama and Mandaubur Universities. p190.
- WALKER, J. M., Gingold E.B. (1997). Biología molecular y biotecnología. Segunda edición. Acribia, S.A. 475 p. 

Este artículo es citado así:

Robles-Hernández, L., A. C. González-Franco, E. Gill-Langarica, L. Pérez Moreno y J. C. López-Díaz. 2010. *Virus fitopatógenos que afectan al cultivo de chile en México y análisis de las técnicas de detección*. *TECNOCENCIA Chihuahua* 4(2): 72-86.

## Resúmenes curriculares de autor y coautores

**LORETO ROBLES HERNÁNDEZ.** Es profesor investigador de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Obtuvo su doctorado en la Universidad de Idaho, USA, su Maestría y Licenciatura en la Universidad Autónoma de Chihuahua. Conduce investigación en enfermedades de plantas causadas por bacterias y virus, así como de diagnóstico y control de las mismas. El Dr. Robles imparte las materias de Fitopatología y Control Biológico en maestría, y Microbiología y Fisiología de Poscosecha en licenciatura. Asimismo, asesora estudiantes de maestría y licenciatura. Es responsable del área de Diagnóstico de Enfermedades de Plantas y Fisiología de Poscosecha del Laboratorio de Microbiología Aplicada, Fitopatología y Fisiología de Poscosecha, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, UACH.

**ANA CECILIA GONZÁLEZ FRANCO.** Es profesor investigador de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Obtuvo su Doctorado en la Universidad de Idaho, USA, su Maestría y Licenciatura en la Universidad Autónoma de Chihuahua. Actualmente, conduce su investigación sobre enfermedades fúngicas, enfermedades virales y control biológico. Imparte las cátedras de Interacción microorganismo planta, Bioquímica, Química y Biotecnología. Asesora estudiantes de posgrado y licenciatura. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores. Actualmente, es responsable del área de Microbiología Aplicada y Biología Molecular en el Laboratorio de Microbiología Aplicada, Fitopatología y Fisiología de Poscosecha, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, UACH.

**EMMA MONSERRATH GILL LANGARICA.** Obtuvo su grado de Licenciatura la Universidad Autónoma con la tesis titulada, "Caracterización de Rizobacterias para el Control de *Fusarium* y *Rhizoctonia* spp. en Chile". Ha participado en varios congresos nacionales entre los que destacan XI Congreso Internacional/XXXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C. y VI encuentro "Participación de la Mujer en la Ciencia". Actualmente, estudia la Maestría en Ciencias de la Productividad Frutícola, Facultad de Ciencias Agrotecnológicas, Universidad Autónoma de Chihuahua con el proyecto de investigación titulado, "Identificación de virus fitopatógenos en el cultivo de chile (*Capsicum annum* L.) para el estado de Chihuahua".

**LUIS PÉREZ MORENO.** Es profesor investigador de la División de Ciencias de la Vida de la Universidad de Guanajuato. Obtuvo su Doctorado en el Centro de Investigación y Estudios Avanzados (CINVESTAV), Campus Guanajuato, su Maestría en el Colegio de Postgraduados y su Licenciatura en la Universidad de Guadalajara. Actualmente, conduce su investigación sobre enfermedades de tipo viral y fúngico en los cultivos hortícolas, con énfasis en ajo y chile. El Dr. Pérez-Moreno imparte los cursos de Producción de Hortalizas, Manejo Integrado de Enfermedades y Diagnóstico de Enfermedades, entre otras. Es asesor de estudiantes de posgrado y licenciatura. Actualmente, es director de la División de Ciencias de la Vida (DICIVA-CIS-UG) y coordinador de la Maestría en Protección Vegetal de Hortalizas, responsable del cuerpo académico de Protección Vegetal. Es miembro del Sistema Nacional de Investigadores desde julio de 1987 hasta el 31 de diciembre de 2013. También cuenta con el reconocimiento profesor con perfil deseable por PROMEP-SEP.

**JULIO CÉSAR LÓPEZ DÍAZ.** Es profesor investigador de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua. Obtuvo su Maestría en Administración de Negocios en Sul Ross State University y Maestría en Ciencias de la Productividad Frutícola en la Universidad Autónoma de Chihuahua. Actualmente, conduce su investigación en economía agrícola, estrategias de negocios, sistemas de calidad y mejora continua. Imparte las cátedras de Administración Estratégica, Mercadotecnia Industrial y Planeación del Desarrollo Territorial. Asesora estudiantes de posgrado y licenciatura. Fue Director de la Facultad de Ciencias Agrotecnológicas y Director de Planeación de la UACH en los periodos 1992-1996 y 1996-2000, respectivamente.