

Incidencia y sintomatología de cinco virus en parcelas comerciales de chile seco en Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas, México*

Incidence and symptomatology of five viruses in commercial dry chili pepper fields in Aguascalientes, San Luis Potosí, and Zacatecas, Mexico

Rodolfo Velásquez-Valle^{1§}, Luis Roberto Reveles-Torres² y Jaime Mena-Covarrubias³

¹Programa de Fitopatología, ²Programa de Biología Molecular y ³Programa de Entomología. Campo Experimental Zacatecas, INIFAP. Carretera Zacatecas-Fresnillo km 24.5. A. P. 98. C. P. 98500 Calera de V. R., Zacatecas, México. (reveles.roberto@inifap.gob.mx), (mena.jaime@inifap.gob.mx). [§]Autor para correspondencia: velasquez.rodolfo@inifap.gob.mx.

Resumen

A nivel mundial el cultivo de chile es afectado por más de 60 enfermedades virales; sin embargo, poco se conoce acerca de ellas en el área productora de chile seco del norte centro de México por lo que el objetivo del presente trabajo consistió en detectar la presencia y sintomatología de cinco virus en parcelas comerciales de chile seco en los estados mencionados. Plantas de chile de los tipos mirasol y ancho fueron muestreadas y se anotó la presencia de síntomas como enanismo, clorosis, deformación de hojas, defoliación, necrosis vascular y ramas unidas. Las muestras fueron analizadas mediante la técnica DAS-ELISA empleando los antisueros para el virus del mosaico del tabaco (*Tobacco mosaic virus*: TMV), mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*: CMV), Y de la papa (*Potato virus Y*: PVY), moteado del chile (*Pepper mottle virus*: PepMoV) y jaspeado del tabaco (*Tobacco etch virus*: TEV). Esos virus fueron identificados en plantas de chile colectadas en las parcelas comerciales de chile seco de los tres estados antes mencionados.

Palabras clave: TEV, TMV, CMV, PepMoV, PVY, presencia

Abstract

World-wide the chili pepper crop is affected by more than 60 viral diseases, although very little is known about them in the area of dry pepper plantation in northern-central Mexico. Consequently, the aims of this work were to identify the presence of the virus and the associated symptoms in commercial dry pepper fields of the states of Zacatecas, San Luis Potosí, and Aguascalientes, Mexico. Mirasol and ancho pepper plants were sampled and the presence of symptoms such as dwarfing, chlorosis, leaf deformation, defoliation, vascular necrosis and joined branches, were recorded. Samples were analyzed using DAS-ELISA with the antisera of the tobacco mosaic virus (*Tobacco mosaic virus*: TMV), cucumber mosaic virus (*Cucumber mosaic virus*: CMV), potato virus Y (*Potato virus Y*: PVY), pepper mottle virus (*Pepper mottle virus*: PepMoV), and tobacco etch virus (*Tobacco etch virus*: TEV). These viruses were identified in pepper plants collected in dry pepper fields located in the three states mentioned earlier.

Key words: TEV, TMV, CMV, PepMoV, PVY, presence.

* Recibido: agosto de 2011
Aceptado: enero de 2012

El área productora de chile seco (*Capsicum annuum* L.) en el norte centro de México comprende los estados de Zacatecas, San Luis Potosí, Aguascalientes y Durango; entre ellos sobresale Zacatecas con alrededor de 39 000 hectáreas cultivadas con esta hortaliza (Bravo *et al.*, 2010). La producción de chile seco en ésta región se inicia desde febrero con el establecimiento de almácigos tradicionales y continúa en las parcelas comerciales hasta finales de septiembre; este prolongado periodo de desarrollo permite que las plantas sean afectadas por un amplio número de patógenos entre los que destacan los virus (Velásquez y Amador, 2009). A nivel mundial el chile es afectado por más de 60 virus, tanto de ARN como de ADN, que pueden causar diferentes sintomatologías dependiendo de la variabilidad existente en el patógeno y en el hospedero y su interacción con el medio ambiente (Murphy y Warren, 2003); sin embargo, entre los virus de ARN destacan por su presencia global, el *Potato virus Y* (PVY: virus Y de la papa), *Cucumber mosaic virus* (CMV: virus del mosaico del pepino), *Tobacco mosaic virus* (TMV: virus del mosaico del tabaco), *Tobacco etch virus* (TEV: virus del jaspeado del tabaco) y el *Pepper mottle virus* (PepMoV: virus del moteado del chile) (Igwegbe y Ogungbade, 1985; Kuhn *et al.*, 1989; Marco, 1993; Andrianifahanana *et al.*, 1997). Estos virus han sido mencionados afectando al cultivo de chile en diversos estados de México como Guanajuato, Michoacán, Jalisco y Nayarit, entre otros donde las plantas infectadas exhibían síntomas como mosaico foliar, distorsión de nervaduras, enanismo y reducción en rendimiento y calidad (Delgadillo *et al.*, 1993; Pérez *et al.*, 2009); sin embargo, la información acerca de la presencia de patógenos virales en el cultivo de chile seco en los estados de Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas es escasa y fragmentada (Velásquez-Valle *et al.*, 2008; Velásquez-Valle *et al.*, 2011), por lo que el objetivo del presente trabajo consistió en detectar la presencia y sintomatología de cinco virus en parcelas comerciales de chile seco en los estados muestreados

El estudio se llevó a cabo durante el ciclo de cultivo primavera verano 2010 en tres parcelas comerciales de chile seco ubicadas en los estados de Aguascalientes (chile tipo Ancho), San Luis Potosí (chile tipo Mirasol) y Zacatecas (chile tipo Mirasol) Cuadro 1.

Para efectuar el muestreo de detección de virus y síntomas se eligieron al azar 20 plantas (dos plantas en cada cama) de un total de 100 plantas previamente marcadas y distribuidas en 10 camas de siembra; se dejó una cama entre cada una de las utilizadas y la distancia entre las plantas seleccionadas

The area that produced dry chili peppers (*Capsicum annuum* L.) in northern-central Mexico comprises the states of Zacatecas, San Luis Potosí, Aguascalientes and Durango; Zacatecas stands out as the most important of these, with around 39 000 hectares planted with this vegetable (Bravo *et al.*, 2010). The production of dry chili peppers starts in February with the establishment of traditional Copperwoods and continues in commercial fields until the end of September; this proplongued period of growth exposes plants to a wide number of pathogens, such as viruses (Velásquez and Amador, 2009). Worldwide, chili peppers are affected by over 60 viruses, both on RNA and DNA, which can cause different symptoms, depending on the variability in the pathogen and in the host, and its interaction with the environment (Murphy and Warren, 2003); however, amongst the RNA viruses, the viruses that stand out for their global presence are the Potato virus Y (PVY), Cucumber mosaic virus (CMV), Tobacco mosaic virus (TMV), Tobacco etch virus (TEV) and the Pepper mottle virus (PepMoV) (Igwegbe and Ogungbade, 1985; Kuhn *et al.*, 1989; Marco, 1993; Andrianifahanana *et al.*, 1997). These viruses have been mentioned to affect the chili pepper crops in several satates in Mexico, such as Guanajuato, Michoacán, Jalisco and Nayarit, amongst others, where infected plants displayed symptoms such as foliar mosaic, distortion, dwarfism and a reduction in yield and quality (Delgadillo *et al.*, 1993; Pérez *et al.*, 2009); however, information on the presence of viral pathogens in dry chili pepper fields in the states of Aguascalientes, San Luis Potosí and Zacatecas is scarce and fragmented (Velásquez-Valle *et al.*, 2008; Velásquez-Valle *et al.*, 2011), therefore the aim of this investigation was to detect the presence and symptomatology of five viruses in fields of commercial dry chilies in the states sampled.

The study was carried out during the spring-summer planting cycle in 2010 in three fields of commercial dry chilies located in the states of Aguascalientes (Ancho chili peppers), San Luis Potosí (Mirasol chili peppers) and Zacatecas (Mirasol chili peppers) Cuadro 1.

In order to take samples for the detection of viruses and symptoms, 20 plants were chosen at random (two plants from each bed) out of a total of 100 and distributed in 10 plantation beds; one bed was left between each one that was used, and the distance between plants chosen for the virus detection varied, although there was no less than 10 m between them. Therefore, before the first sampling, we could not know if a plant showed symptoms or not. In each sampling date, the symptoms present were recorded

para la detección de virus dentro de cada cama fue variable pero no menor a 10 m entre ellas; por lo tanto, antes del primer muestreo se desconocía si una planta dada mostraba síntomas o era asintomática. En cada fecha de muestreo se registraron los síntomas presentes en esas plantas marcadas. Los muestreos se realizaron desde la etapa vegetativa (trasplante) hasta fructificación (incluyendo la etapa de cosecha).

for each plant marked. Samples were taken starting at the vegetative state (transplant) until fructification (including the harvest stage).

A portion of foliage was taken from each plant sampled and labeled, then placed in a container at a low temperature. Samples were stored at -20 °C until the moment it was used, 3 to 5 days after the samples were taken.

Cuadro 1. Características de las parcelas de chile seco muestreadas para la detección de cinco virus de ARN.
Table 1. Characteristics of dry chili pepper fields sampled for the detection of five RNA viruses.

Parcela	Localización Estado/Municipio	Tipo de chile	Fechas de muestreo (2010)
1	Aguascalientes/San Francisco de los Romo	Ancho	17 de mayo, 28 de junio y 15 de julio
2	Villa de Ramos, San Luis Potosí	Mirasol	28 de mayo, 21 de julio, 01 de octubre
3	Morelos, Zacatecas	Mirasol	08 de Junio, 30 de junio, 20 de julio, 28 de septiembre

El manejo agronómico del cultivo, incluyendo plagas y enfermedades, se realizó de acuerdo con el criterio del productor en cada parcela.

En cada planta muestreada se obtuvo una porción de follaje joven que se etiquetó debidamente y se colocó en un contenedor a baja temperatura. Las muestras se almacenaron a -20 °C hasta su utilización, lo cual ocurría en un periodo de tres a cinco días después del muestreo.

The viruses present in the gathered foliage were identified using the serological de immunoabsorption technique linked to double antibody sandwich enzymes (DAS - ELISA) (Clark and Adams, 1977). The plate cells (Agdia Inc) were covered separately from specific antisera for proteins from the covers of the *Tobacco mosaic virus* (Policlonal), *Cucumber mosaic virus* (mix of monoclonals), *Potato Virus Y* (Monoclonal), *Pepper mottle virus* y *Tobacco etch virus* (Polyclonal). Out of the sap taken from the plant tissue, 100 µL were added to each cell; in the process, the same amount of the combination of alkaline IgG-phosphatase was added. Finally, 100 µL of PNP substrate, diluted as a substrate buffer, were added to each plate cell, and incubated in a humid chamber at room temperature and in the dark. The absorbance readings (concentration of a given virus) were carried out in a Model A1 Plate Reader Mca. DAS spectrophotometer at a wavelength of 605 nm. As a criterion to determine the limit of detection, the duplicate value of the standard deviation was used (S) of the negative witness; samples with values higher than this threshold were considered positive (Pérez-Moreno *et al.*, 2008). The above data were used to calculate the frequency of detection of each virus for each date of sampling and field to obtain the average values per field or state or virus (number of positive samples/number of total samples x 100).

La identificación de los virus presentes en el follaje colectado se realizó por medio de la técnica serológica de inmunoabsorción ligada a enzimas en sándwich de doble anticuerpo (DAS-ELISA) (Clark y Adams, 1977). Las celdas de las placas (Agdia Inc) se tapizaron en forma separada a partir de antisueros específicos para las proteínas de cubierta del *Tobacco mosaic virus* (TMV: virus del mosaico del tabaco) (Policlonal), *Cucumber mosaic virus* (CMV: virus del mosaico del pepino) (mezcla de monoclonales), *Potato Virus Y* (PVY: virus Y de la papa) (Monoclonal), *Pepper mottle virus* (PepMoV: virus del moteado del chile) y *Tobacco etch virus* (TEV: virus del jaspeado del tabaco) (Policlonal). A cada celda se le agregaron 100 µL de la savia obtenida del tejido vegetal; en el proceso se le agregó un volumen igual de conjugado IgG-fosfatasa alcalina. Finalmente, se agregaron 100 µL de sustrato PNP diluido en buffer de sustrato a cada celda de la placa, la cual se incubó en cámara húmeda a temperatura ambiente y en oscuridad. Las lecturas de absorbancia (concentración de un virus dado) se realizaron en un espectrofotómetro Plate Reader Mca. DAS Mod. A1 a una longitud de onda de 605 nm. Como criterio para determinar el límite de detección se utilizó el valor duplicado de la desviación estándar (S) del testigo negativo; las muestras con valores superiores a ese umbral se consideraron positivas (Pérez-Moreno *et al.*, 2008). Con los

Viruses detected

In most foliage samples taken from dry chili pepper plants in three commercial fields in Zacatecas, San Luis Potosí and Aguascalientes, the tobacco mosaic virus (TMV), cucumber

datos anteriores se calculó la frecuencia de detección de cada virus para cada fecha de muestreo y parcela y para obtener los valores promedio por parcela o estado o virus (número de muestras positivas/número de muestras totales x 100).

Virus detectados

En la mayoría de las muestras de follaje obtenidas en las plantas de chile seco de tres parcelas comerciales en Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes se detectaron los virus del mosaico del tabaco (TMV), mosaico del pepino (CMV), Y de la papa (PVY), moteado del chile (PepMoV) y jaspeado del tabaco (TEV), independientemente del tipo de chile trasplantado o fecha de muestreo. Durante el estudio se colectaron y analizaron 184 muestras de follaje en las cuales el porcentaje de incidencia de TMV, CMV, PVY, PepMoV y TEV fue de 87.5, 51.6, 53.2, 53.2 y 60.8% respectivamente (Cuadro 2). Sin embargo, la incidencia temporal de esos virus dentro de cada parcela es variable y pudiera reflejar el efecto de las condiciones ambientales o de manejo y presencia/abundancia de vectores por parte de los productores. La frecuencia de detección promedio de éstos patógenos fue superior en las parcelas de Zacatecas y San Luis Potosí, con excepción de la incidencia de PVY que resultó más alta en la parcela de Aguascalientes que en la de Zacatecas. Es importante hacer notar que sólo el TMV alcanzó una frecuencia de detección de 100% en el muestreo del 15 de julio en la parcela de Aguascalientes mientras que este valor se alcanza en varias ocasiones por diferentes virus en las parcelas de San Luis Potosí y Zacatecas (Cuadro 3); la menor incidencia de éstos patógenos coincide con una fecha de trasplante relativamente temprana en Aguascalientes y más tardía en las otras localidades, lo cual, podría haber afectado las poblaciones de vectores o la expresión de síntomas, algunos de las cuales pueden ser influenciadas por la temperatura ambiental (Murphy y Bowen, 2006).

mosaic virus (CMV), potato virus Y (PVY), pepper mottle virus (PepMoV) and tobacco etch virus (TEV), regardless of the type of chili transplant or sampling date. During the study, 184 foliage samples were gathered and analyzed; in these, the percentage of incidence of TMV, CMV, PVY, PepMoV and TEV was of 87.5, 51.6, 53.2, 53.2 and 60.8% respectively (Table 2). However, the temporary incidence of these viruses in each parcel is variable and could reflect the effect of the weather or management, as well as the presence/abundance of vectors by the farmers. The average detection frequency for these pathogens was higher in fields located in Zacatecas and San Luis Potosí, except for the incidence of PVY, which was higher in the field in Aguascalientes than in the field located in Zacatecas. It is worth noting that only TMV had a detection frequency of 100% in the sampling carried out on July 15th, in the field in Aguascalientes, whereas this value was obtained several times by different viruses in fields in San Luis Potosí and Zacatecas (Table 3); the lowest incidence of these pathogens coincides with a relatively early date of transplantation in Aguascalientes, and a later one in other locations, which could have affected the population of vectors or the expression of symptoms, some of which could be influenced by the ambient temperature (Murphy and Bowen, 2006).

The percentage of virus detection fluctuates, even within a same field; however, it is worth noting that the detection values are expressed on the number of plants sampled in each sampling date, and that this number, in general, dropped towards the end of the cycle due to other diseases such as wilting or rotting of the root, causing the percentage of detection to rise, such as in CMV, PepMoV and TEV, which have detection percentages that went from 45, 15 and 10 to 100, 93 and 93% respectively, between July 20th and September 28th, in the Mirasol

Cuadro 2. Frecuencia de detección (%) de cinco virus en muestras de follaje de chile seco colectadas en parcelas Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas.

Table 2. Detection frequency (%) of five viruses in dry chili pepper foliage samples gathered in fields in Aguascalientes, San Luis Potosí and Zacatecas.

Virus	Aguascalientes		San Luis Potosí		Zacatecas		Promedio ^y
	(n ^o muestras positivas/n ^o muestras totales)	(%) ^x	(n ^o muestras positivas/n ^o muestras totales)	(%)	(n ^o muestras positivas/n ^o muestras totales)	(%)	
TMV	38/56 ^z	67.8	54/54 ^z	100	69/74 ^z	93.2	87.5
CMV	14/56	25	28/54	51.8	53/74	71.6	51.6
PVY	26/56	46.4	41/54	75.9	31/74	41.8	53.2
PepMoV	24/56	42.8	33/54	61.1	41/74	55.4	53.2
TEV	29/56	51.7	30/54	55.5	53/74	71.6	60.8

^xPorcentaje de detección de cada virus por estado y promedio del número de muestras positivas/muestras totales en las tres parcelas para un virus específico. ^zNúmero de muestras positivas/muestras totales en cada parcela/estado para un virus específico.

Cuadro 3. Frecuencia de detección (%) de virus en muestras de follaje de chile seco colectadas en parcelas de Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes durante el ciclo de cultivo primavera-verano 2010.

Table 3. Detection frequency (%) of viruses in dry chili pepper foliage samples gathered in fields in Zacatecas, San Luis Potosí and Aguascalientes during the 2010 spring-summer planting cycle.

Localidad	Fecha de muestreo	Virus (%) de detección				
		TMV	CMV	PVY	PepMoV	TEV
Aguascalientes	17 de mayo	42	16	68	95	74
	28 de junio	0	55	61	17	50
	15 de julio	100	5	10	16	33
	Promedio	47.3	25.3	46.3	42.7	52.3
San Luis Potosí	28 de mayo	100	31	100	100	62
	21 de julio	100	50	65	15	10
	01 de octubre	44	72	67	78	100
	Promedio	81.3	51	77.3	64.3	57.3
Zacatecas	08 de junio	84	100	21	100	100
	30 de junio	100	50	30	25	90
	20 de julio	100	45	55	15	10
	28 de septiembre	87	100	67	93	93
	Promedio	92.7	73.7	43.2	58.2	73.2

El porcentaje de detección de los virus es fluctuante, aún dentro de una parcela; sin embargo, debe tomarse en cuenta que los valores de detección se expresan sobre el número de plantas muestreadas en cada fecha de muestreo y que, generalmente ese número disminuyó hacia el final del ciclo por efecto de otras enfermedades como la marchitez o pudrición de la raíz provocando que el porcentaje de detección se incrementara como en los casos del CMV, PepMoV y TEV cuyo porcentaje de detección pasó de 45, 15 y 10 a 100, 93 y 93% respectivamente entre el 20 de julio y 28 de septiembre en la parcela de chile Mirasol en Zacatecas (Cuadro 3). En adición a lo anterior se ha reportado la presencia de variantes de algunos de estos virus como en el caso de CMV (de Blas *et al.*, 1993), las cuales podrían ocurrir en una área productora de chile extensa como la de Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas y no necesariamente podrían haber sido detectadas por los antiseros empleados en este trabajo con lo que ocurriría un descenso en el porcentaje de detección de algunos de los virus detectados en esta investigación trabajo. Por otro lado, se debe considerar que las muestras de follaje para el análisis serológico se tomaron de las puntas de crecimiento de las plantas; por lo tanto aún cuando cada muestreo se obtenían muestras de la misma planta, el punto de muestreo era diferente por lo que es probable que no todos los virus se transporten rápidamente de un sitio de muestreo a otro con lo que también se reducirían los porcentajes de detección.

chili fields in Zacatecas (Table 3). In addition to this, the presence of the variance of some of these viruses has been reported, such as CMV (de Blas *et al.*, 1993), which could occur in an extensive chili pepper-producing area, such as the area of Aguascalientes, San Luis Potosí and Zacatecas, and they could not necessarily have been detected by the antisera used in this work, which could lead to a reduction in the percentage of detection of some of the viruses found in this investigation. On the other hand, it is worth considering that the foliage samples for the serological analysis were taken from the growth tips of the plants; therefore, although each sample was taken from the same plant, the point of sampling was different, so it is possible that not all viruses are carried from one sampling point to the next, hence reducing the percentages of detection.

The simultaneous infection by two or more viruses in chili pepper plants is frequently reported worldwide; in Venezuela there have been reports if simultaneous infections by up to eight viruses (Rodríguez *et al.*, 2004; Murphy and Bowen, 2006). The results obtained in the present investigation indicate that in all dates of sampling, individual infections are the least common, although in some cases up to 20% of the samples are found. On the other hand, the presence of 2 to 4 viruses per sample is frequent although its proportion in each sampling date is variable. However, its range of variation, regardless of the number of viruses involved, ranges between 5 and 66% (Table 4).

La infección simultánea por dos o más virus en plantas de chile es un fenómeno comúnmente reportado a nivel mundial; en Venezuela se informa de infecciones simultáneas de hasta ocho virus (Rodríguez *et al.*, 2004; Murphy y Bowen, 2006); los resultados obtenidos en el presente trabajo indican que en todas las fechas de muestreo las infecciones individuales son las menos comunes; aunque en algunos casos se encuentran hasta 20% de las muestras; en cambio, la presencia de dos a cuatro virus por muestra es frecuente pero su proporción en cada fecha de muestreo es variable; aunque su rango de variación, independientemente del número de virus involucrado, oscila entre 5 y 66% (Cuadro 4).

Despite the scarce information on the most common viral interactions affecting dry chili pepper plants, the association between PepMoV, PVY and TEV has been reported (Murphy and Zitter, 2003); Abdalla *et al.* (1991) mention the presence of up to seven viruses in chili pepper plants in mixed infections, with the incidence of PepMov and CMV standing out as present in most plants; in this study, associations were registered between most viruses detected, yet they vary in locations and sampling dates. The most frequent viral associations by location and sampling date are mentioned in Table 5; however, the dominant associations rarely surpass 60% of the incidence, such as

Cuadro 4. Presencia de infecciones virales individuales o mixtas en plantas de chile colectadas en Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes durante el ciclo de cultivo primavera verano 2010.

Table 4. Presence of individual or mixed viral infections in chili pepper plants gathered in Zacatecas, San Luis Potosí and Aguascalientes during the 2010 spring-summer planting cycle.

Localidad	Fecha de muestreo	0	Número de virus presentes por muestra				
			1	2	3	4	5
Aguascalientes	17 de mayo	0 ^x	5	16	53	21	5
	28 de junio	0	11	39	17	11	0
	15 de julio	0	0	63	21	5	10
San Luis Potosí	28 de mayo	0	0	0	31	44	25
	21 de julio	0	15	55	15	5	10
	01 de octubre	0	5	17	22	22	33
Zacatecas	08 de junio	0	0	0	16	63	21
	30 de junio	0	0	40	30	25	5
	20 de julio	0	20	50	20	5	5
	28 de septiembre	0	7	0	7	20	66

^xPorcentaje de muestras con un número específico de virus detectados.

A pesar de que existe poca información acerca de las interacciones virales más comunes infectando plantas de chile seco se ha reportado la asociación entre PepMoV, PVY y TEV (Murphy y Zitter, 2003); Abdalla *et al.* (1991) mencionan la presencia de hasta siete virus en plantas de chile en infecciones mixtas destacando la incidencia de PepMov y CMV presentes en la mayoría de las plantas; en el presente estudio se registraron asociaciones entre la mayoría de los virus detectados pero estas varían entre localidades y fechas de muestreo. Las asociaciones virales más frecuentes por localidad y fecha de muestreo se mencionan en el Cuadro 5; sin embargo, las asociaciones dominantes rara vez superan 60% de incidencia como en el caso de la parcela de Zacatecas donde una interacción entre cuatro y cinco virus alcanza valores de incidencia de 63.1 y 66.7% respectivamente. Es importante mencionar que en forma frecuente se encontraron plantas que no expresaban síntomas (aparentemente sanas)

in the case of the field in Zacatecas, where an interaction between 4 and 5 viruses reaches incidence values of 63.1 and 66.7% respectively. It is important to mention that plants are frequently found that show no symptoms (apparently healthy), although analysis of the samples gathered in these plants indicated the presence of one or more of the viruses included in this investigation; this asymptomatic characteristic occasionally remained for periods of nearly or over a month.

An attempt could be made to explain the presence of asymptomatic chili pepper plants from the viewpoint that as the center of origin of the species *C. annuum* (Bosland, 2003), the genetic diversity of the chili pepper in Mexico is considerable and could be influenced to nullify, attenuate or at least delay the manifestation of symptoms caused by viral infections. On the other hand,

a pesar de que el análisis de las muestras colectadas en estas plantas indicaba la presencia de uno o más de los virus incluidos en el trabajo; esta característica asintomática ocasionalmente se mantenía hasta por periodos cercanos o mayores a un mes.

some symptoms reported as having a viral origin, such as blistered leaves, seems to be more frequent in the first stages of development and to disappear as the planting cycle advances, causing the plant to be classified as apparently healthy or asymptomatic.

Cuadro 5. Asociaciones entre dos o más virus en muestras de follaje de chile seco colectadas en Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes.

Table 5. Associations between two or more viruses in dry chili pepper foliage samples taken in Zacatecas, San Luis Potosí and Aguascalientes.

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

La presencia de plantas de chile asintomáticas podría tratar de explicarse desde el punto de vista que como centro de origen de la especie *C. annuum* (Bosland, 2003), la diversidad genética del chile en México es considerable y pudiera estar influyendo para nulificar, atenuar o por lo menos retrasar la manifestación de síntomas provocados por infecciones virales. Por otro lado, algunos síntomas reportados como de origen viral, como el ampollado de las hojas, parece ser más frecuente en las primeras etapas de desarrollo y desaparecer conforme avanza el ciclo de cultivo provocando que la planta se clasifique como aparentemente sana o asintomática.

Síntomas asociados

Estudios realizados en México (Delgado, 1974) en la década de 1970 indicaban la presencia de síntomas como clorosis, mosaico, marchitez, aborto de botones y enchinamiento

Associated symptoms

Studies carried out in Mexico (Delgado, 1974) in the 1970s indicated the presence of symptoms such as chlorosis, mosaic, wilting, in chili pepper plants infected with TEV, CMV and TMV. The symptomatology of a possible viral origin registered in chili pepper fields in this investigation corresponds to the one mentioned by Delgado (1974) and includes dwarfism, general or partial chlorosis, scarce development, mosaic, leaf deformations (blistering, edge wavy or curly leaf lanceolate, reduced size foliage in the growth tips and veins in zigzag), consistency coriacea leaves, twigs together. However, the number of viruses identified by Delgado (1974) was three (TEV, CMV and TMV), whereas in this investigation, five viruses were identified, including the above plus PepMov and PVY

en plantas de chile infectadas con TEV, CMV y TMV. La sintomatología de posible origen viral registrada en las parcelas de chile seco de este trabajo concuerda parcialmente con la mencionada por Delgado (1974) e incluye enanismo, clorosis general o parcial, escaso desarrollo, mosaico, deformaciones de las hojas (ampollamiento, bordes ondulados o rizados, hojas lanceoladas y erectas, follaje de tamaño reducido en las puntas de crecimiento y venas en zigzag), hojas de consistencia coriacea, ramas unidas aunque el número de virus identificados por Delgado (1974) fue de tres (TEV, CMV y TMV) en tanto que en el presente trabajo se identificaron cinco virus incluyendo los previamente mencionados más el PepMov y PVY.

Debido a su alta incidencia alcanzada en la parcela de Aguascalientes, es importante mencionar que en las plantas marcadas se manifestó una sintomatología que incluía una decoloración del ápice de la lámina foliar que eventualmente se tornaba de color café y concluía con la muerte de la parte aérea de la planta; al poco tiempo se presentan rebrotes que posteriormente manifiestan los mismos síntomas que la planta original; al realizar un corte longitudinal de la raíz principal se observaba una decoloración vascular; para distinguir esta sintomatología se le asignó el nombre de "necrosis vascular". Es posible que en la expresión de esta sintomatología se encuentren involucrados otros patógenos subterráneos, especialmente de origen fungoso.

En la mayoría de las plantas muestreadas se presentaban hasta dos síntomas a la vez, lo cual es independiente del tipo de chile, localidad o fecha de muestreo (Cuadro 6).

Due to the high incidence reached in the field in Aguascalientes, it is worth mentioning that marked plants displayed a symptomatology that included bleaching of the apex of the leaf that eventually turned brown and ended with the death of the aerial section of the plant. Soon, there were regrowths that later presented the same symptoms as the original plant; when cutting the main root in cross-section, a vascular bleaching was observed; in order to recognize this symptomatology it was given the name of "vascular necrosis". It is possible that other underground pathogens, especially of a fungal origin, are involved in the expression of this symptomatology.

Most plants sampled displayed up to two symptoms simultaneously, which is unrelated to the type of chili pepper, location or sample date (Table 6).

The type and harshness of the symptoms caused by viruses depend on several factors, such as the virus or viruses that cause them, their breeds, weather conditions and age of the plant at the time of infection; furthermore, mixed infections can cause different symptoms to those expressed in individual infections (Murphy and Bowen, 2003). Consequently, the description of symptoms is often vague or restricted to certain weather conditions, methodology or the species/type of chili pepper that makes comparisons difficult. In this investigation, each of the symptoms registered was manifested in samples of plants that tested positive for most of the viruses included in the DAS-ELISA tests, therefore the use of the symptomatology as a tool for viral diagnosis in the

Cuadro 6. Sintomatología de posible origen viral más frecuente y virus detectados en plantas de chile seco muestreadas en Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas durante el ciclo de cultivo primavera verano 2011.

Table 6. Most frequent symptomatology of viral origins and viruses detected in dry chili pepper plants sampled in Aguascalientes, San Luis Potosí and Zacatecas during the 2011 spring-summer planting cycle.

Localidad	Fecha de muestreo	Sintomatología frecuente / virus detectados
Aguascalientes	17 de mayo	Ampollado de hojas (50%) / PVY, PepMoV, TEV Enanismo (50%) / PVY, PepMoV, TEV
	28 de junio	Necrosis vascular /64.7%) / CMV, PVY, PepMoV, TEV
	15 de julio	Necrosis vascular / TMV, PVY, PepMov, TEV
San Luis Potosí	28 de mayo	Bordes ondulados (66.7%) / TMV, PVY, PepMoV, TEV
	21 de julio	Hojas lanceoladas (45.4%) / TMV, CMV, PVY
	01 de octubre	Enanismo (66.7%) / TMV, CMV, PVY, PepMoV, TEV
Zacatecas	08 de junio	Ampollado de hojas (50%) / TMV, CMV, PVY, PepMov, TEV
	30 de junio	Ampollado de hojas (56.2%) / TMV, CMV, PVY, PepMoV, TEV
	20 de julio	Enanismo (73.3%) / TMV, PVY
	28 de septiembre	Enanismo 42.8% / TMV, CMV, PVY, PepMoV, TMV

El tipo y severidad de los síntomas causados por virus dependen de varios factores como el o los virus que los causan, la raza de los mismos, condiciones ambientales y edad de la planta al momento de la infección; más aún, las infecciones mixtas pueden provocar síntomas diferentes a los expresados en infecciones individuales (Murphy y Bowen, 2003); como consecuencia de lo anterior la descripción de síntomas es frecuentemente vaga o restringida a ciertas condiciones de ambiente, metodología o especie/tipo de chile que dificulta su comparación. En este trabajo cada uno de los síntomas registrados se manifestaba en plantas cuyas muestras resultaron positivas para la mayoría de los virus incluidos en las pruebas de DAS-ELISA, por lo que el empleo de la sintomatología como herramienta de diagnóstico viral en campo puede ser inconsistente. Por otro lado, se requiere investigación adicional para separar e inocular los virus presentes a fin de clarificar los síntomas asociados con cada virus o sus posibles interacciones en líneas de chile con un mayor grado de uniformidad genética que minimice esta fuente de variación.

Es importante enfatizar que se detectó la presencia de TMV, CMV, PVY, PepMoV y TEV) se identificaron también en plantas aparentemente sanas y que otros virus (tanto de ARN como Curtovirus) pueden estar presentes por lo que la expresión de síntomas virales en plantas de chile seco puede ser un proceso de mayor complejidad que dificulte su comprensión inmediata.

En Zacatecas y Aguascalientes se ha reportado la presencia en plantas de chile del *Beet mild curly top virus* (BMCTV, virus de la punta rizada del betabel) (Velásquez-Valle *et al.*, 2008), un Curtovirus transmitido por la chicharrita *Circulifer tenellus* Baker; la infección por este virus también provoca amarillamiento y enanismo, lo cual complica la expresión y reconocimiento de síntomas en las plantas de chile.

Se identificó a los cinco virus sometidos a detección en plantas sintomáticas y asintomáticas colectadas en parcelas comerciales de chile seco de los tipos Ancho y Mirasol en los estados de Zacatecas, San Luis Potosí y Aguascalientes, México.

La sintomatología asociada con las plantas positivas a uno o más de los virus mencionados incluyó enanismo, clorosis, deformación de hojas (ampollado, bordes ondulados o rizados, hojas lanceoladas, de tamaño reducido), defoliación, necrosis foliar, ramas unidas.

Los virus mencionados también se identificaron en plantas de chile colectadas en esas parcelas y que no mostraban síntomas.

field may be inconsistent. On the other hand, additional research is required to separate and inoculate the viruses present, so as to clarify the symptoms related to each virus or their possible interactions on chili pepper lines with a greater degree of genetic uniformity that minimizes this source of variation.

It is important to highlight that the presence of TMV, CMV, PVY, PepMoV and TEV) were also identified in apparently healthy plants and that other viruses (both ARN and Curtovirus viruses) could be present, therefore the expression of viral symptoms in chili pepper plants can be a more complex process that makes immediate understanding more difficult.

In Zacatecas and Aguascalientes the presence of the Beet mild curly top virus (BMCTV) (Velásquez-Valle *et al.*, 2008), a Curtovirus transmitted by the cicada *Circulifer tenellus* Baker, has been found; infection caused by this virus also causes yellowing and dwarfism, which complicates the expression and the recognition of symptoms in chili pepper plants.

The five viruses that underwent detection in symptomatic and asymptomatic plants gathered in commercial Ancho and Mirasol dry chili pepper fields in Zacatecas, San Luis Potosí and Aguascalientes, Mexico, were identified.

The symptomatology related with the positive plants to one or more of the mentioned viruses included dwarfism, chlorosis, leaf deformation (blistering, wavy or curly edges, lansolated leaves, small-sized), defoliation, foliar necrosis, joined branches.

The mentioned viruses were also identified in chili pepper plants gathered in these fields and that displayed no symptoms.

End of the English version



Literatura citada

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

- Andrianifahanana, M.; Lovins, K.; Dute, R.; Sikora, E. and Murphy, J. F. 1997. Pathway for phloem-dependent movement of pepper mottle potyvirus in the stem of *Capsicum annuum*. *Phytopathology* 87:892-898.
- De Blas, C.; Carazo, G.; Castro, S. y Romero, J. 1993. Estudios epidemiológicos sobre el virus del mosaico del pepino en diferentes cultivos y provincias españolas: identificación serológica de los subgrupos DTLy ToRS. *Boletín Sanidad Vegetal Plagas* 19:345-353.
- Bosland, P. W. 2003. Introduction. *In: compendium of pepper diseases.* (Ed) Pernezny, K.; Roberts, P. D.; Murphy, J. F. and Goldberg, N. P. APS Press. St. Paul, MN, USA. 63 p.
- Bravo, L. A. G.; Lara, H. A.; Lozano, G. J. y España, L. M. P. 2010. Importancia del cultivo del chile. *In: Memorias Primer Foro para Productores de Chile.* Zacatecas, Zacatecas, México. 186 p.
- Clark, M. F. and Adams, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34:475-483.
- Delgadillo, S. F.; Yañez, M. M. J.; Silva, V. S.; Ramírez, A. A.; Armenta, I. C.; García, S. J. A.; Velásquez, M. J.; Vega, A. P. y Macías, J. C. 1993. Detección de virus en chile (*Capsicum annuum* L.) y jitomate (*Lycopersicon lycopersicon* (L.) Karst) en México. *Memorias. XX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología.* 134 p.
- Delgado, S. S. 1974. Los virus que atacan el cultivo del chile en México; sus implicaciones, identificación, transmisión y medidas de combate. *Agric. Téc. Méx.* 3:317-325.
- Igwegbe, E. C. K. and Ogungbade, O. K. 1985. Evaluation of pepper cultivars under greenhouse conditions for resistance to a defoliation strain of tobacco mosaic virus. *Plant Dis.* 69:899-900.
- Kuhn, C. W.; Nutter, F. W. Jr. and Padgett, G. B. 1989. Multiple levels of resistance to tobacco etch virus in pepper. *Phytopathology* 79:814-818.
- Marco, S. 1993. Incidence of nonpersistently transmitted viruses in pepper sprayed with whitewash, oil, and insecticide, alone or combined. *Plant Dis.* 1119-1122.
- Murphy, J. F. and Warren, C. E. 2003. Diseases caused by virus. *In: compendium of pepper diseases.* (Ed) Pernezny, K.; Roberts, P. D.; Murphy, J. F. and Goldberg, N. P. APS Press. St. Paul, MN, USA. 63 p.
- Murphy, J. F. and Zitter, T. A. 2003. Pepper mottle virus. *In: Compendium of pepper diseases.* (Ed) Pernezny, K.; Roberts, P. D.; Murphy, J. F. and Goldberg, N. P. APS Press. St. Paul, MN, USA. 63 p.
- Murphy, J. F. and Bowen, K. L. 2006. Synergistic disease in pepper caused by the mixed infection of *Cucumber mosaic virus* and *Pepper mottle virus*. *Phytopathology* 96:240-247.
- Pérez-Moreno, L.; Santiago-Gómez, D.; Rico-Jaramillo, E.; Ramírez-Malagón, R. y Mendoza-Celedón, B. 2008. Efecto de virus fitopatógenos sobre características agronómicas y calidad del ajo (*Allium sativum* L.), en el estado de Guanajuato, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 26:40-48.
- Pérez, M. L.; Navarro, L. M. J. y Ramírez, M. R. 2009. Identificación de virus fitopatógenos en chile, en los estados de Guanajuato y Michoacán, México. *Memorias. Sexta Convención Mundial del Chile.* 179 p.
- Rodríguez, Y.; Rangel, E.; Centeno, F.; Mendoza, O. y Parra, A. 2004. Detección de enfermedades virales afectando al pimentón en los municipios Iribarren, Jiménez y Torres del estado Lara, Venezuela, utilizando la técnica ELISA. *Rev. Fac. Agron.* 21:105-115.
- Velásquez-Valle, R.; Medina-Aguilar, M. M. and Creamer, R. 2008. First report of infecting in Mexico. *Plant Dis.* 650.
- Velásquez, V. R. y Amador, R. M. D. 2009. Enfermedades bióticas del ajo y chile en Aguascalientes y Zacatecas. *INIFAP-Campo Experimental Zacatecas. Aguascalientes, Aguascalientes, México. (Libro técnico Núm. 9).* 181 p.
- Velásquez-Valle, R.; Reveles-Torres, L. R. y Mena-Covarrubias, J. 2011. Incidencia de virus en parcelas comerciales de chile seco en el norte centro de México. *Memorias. Octava Convención Mundial del Chile.* 75-81.