

**Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio en Ciencias Agropecuarias
Maestría en Ciencias Agropecuarias**



TESIS

**BÚSQUEDA DE RESISTENCIA AL VIRUS HUASTECO VENA
AMARILLA DEL CHILE EN POBLACIONES SILVESTRES Y
CRIOLLAS DE CHILE (*Capsicum annum.*).**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS**

**PRESENTA:
ING. ELIDA CONCEPCIÓN GONZÁLEZ LÓPEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:
SERGIO HERNÁNDEZ VERDUGO**

**ASESORES:
DR. ANTONIO PACHECO OLVERA
DR. SAÚL PARRA TERRAZAS
M. en C. JESÚS ENRIQUE RETES MANJARREZ**

Culiacán, Sinaloa, México, Agosto de 2015.

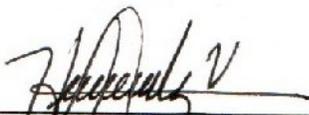
ESTA TESIS FUE REALIZADA POR ELIDA CONCEPCIÓN GONZÁLEZ LOPEZ,
BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y HA SIDO
APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL
GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

(SELLO DE
POSGRADO)

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR



DR. SERGIO HERNÁNDEZ VERDUGO

ASESOR

DR. ANTONIO PACHECO OLVERA

ASESOR

DR. SAÚL PARRA TERRAZAS

ASESOR

M. en C. JESÚS ENRIQUE RETES MANJARREZ

CULIACÁN, SINALOA, AGOSTO DE 2015

AGRADECIMIENTOS

A **CONACYT** (Consejo Nacional de Ciencia y tecnología) por la beca otorgada durante el periodo 2013-2015 para la culminación de mi Maestría en Ciencias Agropecuarias.

A la **Facultad de Agronomía** de la Universidad Autónoma de Sinaloa, que me permitió realizar y concluir mis estudios de posgrado en sus instalaciones.

A la **Facultad de Química** de la Universidad Autónoma de Sinaloa por permitirme realizar los análisis de laboratorio dentro de sus instalaciones.

Al **Dr. Sergio Hernández Verdugo**, por su paciencia, dedicación y apoyo durante la realización de esta tesis, así mismo por su apoyo incondicional durante mis estudios de posgrado.

A mis **Asesores Dr. Antonio Pacheco Olvera, Dr. Saúl Parra Terrazas y M en C. Jesús Enrique Retes Manjarrez** por el apoyo que me brindaron e la conducción y elaboración de este trabajo, por sus conocimientos transmitidos y por el tiempo que me dedicaron.

Al **Dr. José Antonio Garzón Tiznado** por su apoyo y por compartir sus conocimientos que ayudaron en la realización de este trabajo.

Al **M en C. Luis Alberto Hernández Espinal** por brindarme su amistad, su apoyo y por compartir sus conocimientos que ayudaron en la realización de este trabajo.

Al **Dr. Javier Alonso Romo Rubio** por su apoyo durante mis estudios de posgrado.

A mis colegas **Miguel Arechiga, Ernesto Ortiz, Oriandy Mabel Perea Longoria, José Luis López Zamudio, Ricardo López España, Carlos Guevara**, por su amistad, por apoyar y contribuir de alguna manera en el estudio de mi maestría.

A mis compañeros **Carlos Eduardo Ornelas Ramírez, María Alejandra Quintero Morales, Leonardo Roman Roman y Eder Caro López**, por haberme brindado su amistad y apoyo durante el camino que recorrimos juntos durante la maestría.

Al **DR. Miguel López Meza** por su apoyo incondicional en todo momento, amistad y por compartir sus conocimientos.

DEDICATORIA

A mis **Padres Martin Félix y María Isabel** por darme la vida, por su enseñanza de fortaleza, humildad, su amor, por brindarme su apoyo incondicional en todo momento y fomentar mi deseo por la superación.

A mis Hermanos **Edgar, Briseyda y Juan** por el apoyo que siempre me han brindado y por la unión de la familia.

A mi Novio **Arturo** por el apoyo y comprensión que me ha brindado durante mis estudios.

ÍNDICE

	Página
AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA.....	ii
CONTENIDO.....	iii
ÍNDICE DE CUADROS.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
RESUMEN.....	vii
ABSTRACT.....	viii

CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. JUSTIFICACIÓN.....	4
III. HIPÓTESIS.....	5
IV. OBJETIVOS.....	5
Objetivos específicos.....	5
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
5.1. Localización del experimento.....	6
5.2. Germoplasma utilizado.....	6
5.3. Siembra.....	6
5.4. Trasplante.....	7
5.5. Diseño experimental.....	7
5.6. Fuente de inóculo viral.....	7
5.7. Identificación del virus en la fuente de inóculo.....	7
5.8. Método de inoculación.....	8
5.9. Variables de estudio.....	8
5.9.1. Días a los primeros síntomas y nivel de daño.....	8
5.9.1.1. Días a los primeros síntomas.....	8
5.9.1.2. Nivel de daño.....	8
5.10. Características vegetativas.....	9
5.10.1. Altura de planta (cm).....	9
5.10.2. Diámetro de tallo (mm).....	9
5.10.3. Largo y ancho de hoja (mm).....	9
5.11. Características reproductivas.....	9
5.11.1. Número de fruto.....	9
5.11.2. Días a floración.....	9
5.11.3. Número de semillas por fruto.....	9

5.11.4. Peso por semilla (mg).....	9
5.11.5. Número de semillas por planta.....	9
5.11.6. Peso de semillas por planta (g).....	9
5.12. Análisis estadístico.....	9
5.13. Análisis de laboratorio para la detección del patógeno.....	10
5.13.1. Extracción de ADN.....	10
5.13.2. Identificación del virus.....	10
5.13.3. Análisis del ADN en gel agarosa al 1.5%.....	11
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
6.1. Días a los primeros síntomas y nivel de daño.....	12
6.2. Distribución de los síntomas en el experimento.....	13
6.3. Distribución de síntomas entre poblaciones.....	13
6.4. Características vegetativas.....	16
6.5. Características reproductivas.....	16
6.6. Distribución de la variación.....	18
6.7. Correlaciones fenotípicas.....	19
6.8. Correlaciones genotípicas.....	20
6.9. Identificación del virus.....	21
VII. CONCLUSIONES.....	22
VIII. LITERATURA CITADA.....	23

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1. Escala utilizada para la evaluación de los síntomas observados en plantas de <i>Capsicum annuum</i>	8
2. Medias de las características días a los primeros síntomas y nivel de daño en poblaciones silvestres y criollas de <i>Capsicum</i>	12
3. Medias de las características vegetativas de poblaciones silvestres y criollas de <i>Capsicum annuum</i> del estado de Sinaloa.....	16
4. Medias de las características reproductivas de las poblaciones silvestres y criollas de <i>Capsicum</i>	17
Porcentaje de variación entre poblaciones (VEP), entre familias (VEF) y dentro de familias. Variación genética total ($VGT = VEP + VEF / (VEP + VEF + VDF)$), variación genética entre poblaciones ($VGP = VGP / (VGP + VGF)$) y variación genética entre familias ($VGF = VGF / (VGP + VGF)$) para doce de los caracteres medidos en las	
5. poblaciones de <i>C. annuum</i> silvestres y criollos del estado de Sinaloa, México.....	19
6. Correlaciones fenotípicas y genéticas con el nivel de daño en poblaciones silvestres y criollas del Estado de Sinaloa.....	20

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
1. Distribución de los síntomas 75 días después de la inoculación (ddi) en todo el experimento (n=222).....	13
2. Distribución de los síntomas al virus PHYVV en la población a)Buyubampo, b)El Mahone, c)Lo de Vega, d)Yecorato, e)Cola de Rata, f)Resistente, g)Susceptible.....	15
3. Detección del ADN de PHYVV con el empleo de los oligos específicos 240 y 241, que amplificaron un fragmento esperado de 350 pb. Carril 1, marcador 1 Kb; Carril 2,3 y 4, a partir de ADN extraído de plantas de Chile con síntoma de cero; carril 5, 6, 7 y 8, a partir de ADN extraído de plantas de Chile con síntoma de uno; Carril 9, 10, 11 y 12, a partir de ADN extraído de plantas de Chile con síntoma de dos; carriles 13, 14 y 15, a partir de ADN extraído de plantas de Chile con síntoma de tres.....	21

RESUMEN

Se estudiaron cuatro poblaciones de chiles silvestres y una población de chile criollo del Estado de Sinaloa. Se pusieron a prueba para observar la resistencia al virus huasteco (PHYVV) y su influencia en los cambios morfológicos en la planta. Se utilizó un diseño de 3 bloques al azar. Para la fuente de inóculo se colectaron púas de plantas de chile cultivar Grande[®], que manifestaban síntomas causados por PHYVV y se injertaron en plantas de chile cultivar Maverick[®]. Las plantas injertadas fueron mantenidas en jaulas entomológicas de madera. Se identificó a PHYVV mediante el método de PCR usando los iniciadores 240 y 241. La secuencia obtenida se comparó con las de otros aislamientos de PHYVV registradas en el Gen Bank (NCBI). La inoculación se realizó mediante el método de injerto. Las variables de estudio fueron altura de planta, diámetro de tallo, largo y ancho de hoja, días a floración, días a los primeros síntomas, nivel de daño, número de frutos por planta, número de semillas por fruto, peso de semilla, número de semilla por planta, peso de semilla por planta. Las muestras tomadas de las plantas injertadas con PHYVV resultaron positivas para la amplificación del fragmento esperado de 350 pb. En días a los primeros síntomas, presentaron una media entre 8.72 y 16.33 días. En el nivel de daño, presentaron una media entre 0.89 y 7.54. En la distribución de los síntomas la población Buyubampo obtuvo una media 6.89 El Mahone 4.47, Lo de Vega 7.54, Yecorato 5.85, Cola de Rata, Resistente 0.89, Susceptible 7.11. En altura de planta las poblaciones presentaron una media entre 63.89 y 77.56 cm, diámetro de tallo entre 8.09 y 11.08mm, largo de hoja presentaron una media entre 26.17 y 42.14mm y para ancho de hoja entre 15.16 y 18.32 mm, días a la floración entre 85.88 y 104.37 días, número de frutos entre 4.44 y 23.29 frutos, número de semillas por fruto entre 4.87 y 10.05 semillas, peso de semilla entre 1.46 y 4.18 mg, número de semillas entre 26.13 y 304.04 semillas, peso de semilla por planta entre 0.07 y 1.44 g. En la mayoría de las características medidas la que obtuvo mayor cantidad de variación se distribuyó entre poblaciones. De la variación fenotípica total observada en todas las características medidas, en promedio 50.81% tiene una base genética, de la cual 3.98% se distribuyó entre poblaciones y 3.05% dentro de poblaciones (entre familias). En las correlaciones fenotípicas, el nivel de daño se correlaciono negativamente con los valores de los días de aparición a los primeros síntomas -0.2463, número de frutos -0.4636, altura de planta -0.4576, largo de hoja -0.1490, peso de semilla -0.2482, número de semillas -0.3628, número de semillas -0.4127, peso de semillas por planta -0.3658 y con días a la floración se correlaciono positivamente 0.3847. En las correlaciones genéticas, el nivel de daño se correlaciono positivamente con los valores de días a la floración 0.4843 y negativamente con número de frutos -0.5962, altura de planta -0.5243, peso de semilla -0.4534, número de semillas por fruto -0.6110, número de semillas por planta -0.5686 y peso de semillas -0.5457. Las poblaciones silvestres y criollas del Estado de Sinaloa cuentan con una gran variabilidad genética para encontrar resistencia a PHYVV, la cual puede ser utilizada para programas de mejoramiento genético.

Palabras clave: *Inoculo, Recursos genéticos, Injerto.*

ABSTRACT

Four populations of wild chilies and chili Creole population of the State of Sinaloa were studied. They were tested to observe huasteco virus resistance (PHYVV) and its influence on the morphological changes in the plant. 3 design used random blocks. For the inoculum source barbed pepper plants grow Grande®, who showed symptoms caused by PHYVV and grafted pepper plants growing in Maverick® were collected. Grafted plants were kept in wooden cages entomological. to PHYVV it was identified by PCR method using the primers 240 and 241. The sequence obtained was compared with other isolates PHYVV registered in GenBank (NCBI). The inoculation was performed by grafting method. The study variables were plant height, stem diameter, leaf length and width, days to flowering, days to first symptoms, level of damage, number of fruits per plant, number of seeds per fruit, seed weight, number seed per plant, seed weight per plant. Samples taken from the grafted plants with PHYVV tested positive for amplification of the expected 350 bp fragment. In days of the first symptoms, they showed an average between 8.72 and 16.33 days. At the level of damage, they showed an average between 0.89 and 7.54. In the distribution of the symptoms Buyubampo population had a mean 6.89 4.47 Mahone, Lo de Vega 7.54, 5.85 Yecorato, Rat Tail, resistant 0.89 7.11 Susceptible. Height of plant populations showed a mean between 63.89 and 77.56 cm, stem diameter between 8.09 and 11.08mm, leaf length showed a mean between 26.17 and 42.14mm and blade width between 15.16 and 18.32 mm, days to flowering between 85.88 and 104.37 days, number of fruit between 4.44 and 23.29 fruits, number of seeds per fruit between 4.87 and 10.05 seeds, seed weight between 1.46 and 4.18 mg, seed number between 26.13 and 304.04 seeds, seed weight per plant between 0.07 and 1.44 g. In most of the measured characteristics which obtained greater amount of variation it was distributed among populations. Of that observed in all the characteristics measured on average 50.81% total phenotypic variance has a genetic basis, of which 3.98% was distributed among populations and 3.05% within populations (between families). Phenotypic correlations in the level of damage was negatively correlated with the values of the day of occurrence of the first symptoms -0.2463, -0.4636 number of fruits, plant height -0.4576, -0.1490 leaf length, seed weight -0.2482, seed number -0.3628, -0.4127 number of seeds, seed weight per plant and -0.3658 days to flowering was correlated positively 0.3847. In the genetic correlations, the damage level was positively correlated with the values of 0.4843 days to flowering and negatively with fruit number -0.5962, -0.5243 plant height, seed weight -0.4534, number of seeds per fruit -0.6110, -0.5686 number of seeds per plant and seed weight -0.5457. Wild and native populations of Sinaloa have a large genetic variability for resistance to PHYVV, which can be used for breeding programs.

Keywords: *Inoculated, Genetic Resources, Graft.*

I. INTRODUCCIÓN

El chile es una hortaliza que forma parte del grupo de los principales productos hortofrutícolas de exportación, es el cultivo hortícola más importante en México considerando la superficie que se siembra. De acuerdo con cifras mundiales de comercio, México es el principal exportador de chile verde y sexto lugar en ventas de chile seco (SIAP., SAGARPA., 2013.), parte de la problemática del cultivo son las enfermedades que contribuyen a que haya una disminución en los rendimientos de los cultivares así como la pérdida de la producción (FAOSTAT, 2010).

México es uno de los países con mayor diversidad vegetal y uno de los principales centros de domesticación de plantas en el mundo (Harlan, 1971). En particular el chile (*Capsicum spp.*) fue una de las primeras plantas domesticadas en el Continente Americano (MacNeish, 1974). El género *Capsicum* (Solanácea) está conformado por alrededor de 30 especies distribuidas desde el sur de Los Estados Unidos, hasta el norte de Argentina (Pickersgill, 1984).

Se considera que *C. annuum* ha sido domesticada en México (Pickersgill, 1984) y de todas las especies domesticadas es la de mayor importancia económica y la que presenta mayor variabilidad en tamaño, forma, y color de sus frutos. A ella pertenecen los chiles “de árbol” o “cola de rata”, “anchos”, “serranos”, “jalapeños” y “morrón”, entre otros.

El género está agrupado en la Familia Solanaceae o Solanáceas. Familia de gran importancia económica por incluir cultivos como la papa, el jitomate, tomate, tabaco, así como, varias especies con utilidad medicinal (López-Riquelme, 2003; Cárdenas, 2010). Este género está formado por alrededor de 30 especies (Hernández-Verdugo *et al.*, 1999), de las cuales *C. annuum*, *C. chinense*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens* son domesticadas. De las domesticadas, *C. annuum* es la especie de mayor importancia económica, se cultiva ampliamente en todo el mundo y se considera que fue domesticada en México (Pickersgill, 1971a).

Desde que Cristóbal Colón, en la búsqueda de especias, confundió el chile con la *pimienta negra* y llevó a España un cargamento de lo que él llamó "pimiento", el producto americano cuyo verdadero nombre era el náhuatl *chilly*, cautivó los paladares europeos y asiáticos.

Capsicum es un género descrito por Carlo Linneo, se cree que el nombre asignado deriva del griego *kapto*, que significa "picar" y que es su principal característica (Salazar y Silva, 2004); sin embargo, López-Riquelme (2003) menciona que significa "caja", en alusión a que las semillas están encapsuladas en una especie de caja, aunque de acuerdo a su tipo, el fruto es clasificado como una baya.

De acuerdo con Zapata *et al.*, (1992), su clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino: Vegetal

Tipo: Fanerógama

División: Spermatophyta

Clase: Dicotiledónea

Subclase: Simpétala o Gamopétala

Orden: Solanales o Tubiflorales

Familia: Solanaceae

Género: *Capsicum*

Los principales agentes patogénicos son: hongos, nemátodos, bacterias y virus, siendo estos últimos los de gran importancia, por los daños que causan en la agricultura ya que las pérdidas van del 20 hasta 100% de la producción (Barrera-Pacheco *et al.*, 2008).

El virus huasteco vena amarilla del chile (PHYVV) es una de las principales limitantes del cultivo del chile (*Capsicum* spp.) en México (Holguín-Peña *et al.*, 2007). Este virus pertenece al género *Begomovirus*, (Subgrupo III), perteneciente a la familia *Geminiviridae* (Palmer y Rybicky, 1997). Su genoma bipartita es transmitido por *Bemisia tabaci* G y tiene como hospederos a diferentes dicotiledóneas como

Capsicum spp., *Solanum lycopersicum*, *Nicotiana* spp., *Physalis* spp., *Solanum rostratum*, *Cucurbita* spp., *Helianthus annuus*, *Datura* spp., *Carica papaya*, *Sorghum halepense* y *Melia azedarach* (Méndez-Lozano *et al.*, 2003).

PHYVV fue reportado por primera vez en el estado de Tamaulipas en el norte de México (Garzón-Tiznado *et al.*, 1993). Se encuentra ampliamente distribuido en el país de México y en el sur de Estados Unidos de América (Torres-Pacheco *et al.*, 1996). Los principales síntomas que causa PHYVV en plantas de chile son: amarillamiento de las nervaduras, distorsión, mosaico amarillo y enrollamiento de hojas, detenimiento del crecimiento de la planta y reducción del rendimiento (Garzón-Tiznado *et al.*, 1993).

El manejo de este *Begomovirus* se basa en la aplicación de productos químicos contra los insectos vectores, las cuales son parcialmente efectivas, elevan los costos de producción y biopeligrosas (Borah y Dasgupta, 2012). Una alternativa para el control de este patógeno es el desarrollo de cultivares resistentes para *Begomovirus* (Shankarappa *et al.*, 2008). Los parientes silvestres de las plantas cultivadas son un recurso genético importante que constituye un acervo de genes primario, lo cual puede ayudar a resolver problemas de la agricultura actual, tales como tolerancia o resistencia a plagas y enfermedades, y aumentar la calidad y cantidad de la producción (Hernández-Verdugo *et al.*, 1998).

La falta de conocimiento sobre diversidad genética que conservan los productores en sus parcelas de cultivo, el traspatio o huertos familiares, conlleva al conocimiento limitado de la distribución geográfica del género *Capsicum* en México y de la variabilidad de las especies que se cultivan de forma comercial y para autoconsumo (Latournerie *et al.*, 2002). En ese sentido, los recursos fitogenéticos relacionados con el género *Capsicum*, adquieren gran relevancia por el potencial genético que presentan y por ser la base para obtener variedades mejoradas (Moreno-Pérez *et al.*, 2011). Al respecto, Rodríguez *et al.* (2007) indican que se requiere caracterizar y rescatar la diversidad genética que se encuentra dispersa en las variedades criollas y en los parientes silvestres de *Capsicum* spp., ya que constituyen un arsenal para el mejoramiento genético del cultivo.

La caracterización morfológica de los recursos vegetales, es de utilidad, porque permite definir una serie de descriptores útiles de importancia agronómica o de clasificación e identificación de grupos genéticos. En particular, los estudios realizados sobre la diversidad del género *Capsicum*, se han basado en métodos descriptivos por medio de caracteres morfológicos de planta, flor y fruto (Moreno-Pérez *et al.*, 2011); en los que se ha encontrado variación en caracteres relacionados con la fenología, la arquitectura de la planta, la flor y la forma del fruto (Bosland y Votava, 2012). Siendo los órganos más importantes para la descripción morfológica aquellos que tienen menos influencia del ambiente, como el fruto, las hojas y el tallo (Hernández-Verdugo *et al.*, 1998).

Objetivo general

Identificar

Capsicum

II. JUSTIFICACIÓN

Actualmente es necesario complementar el conocimiento acerca de la resistencia de poblaciones silvestres de México con respecto a PHYVV, ya que éstas pueden ser utilizadas en el mejoramiento de variedades cultivadas que durante los últimos años han sido afectadas por geminivirus.

1. Describir plantas

2. Analizar la presencia

inóculo, insectos

3. Analizar la prevalencia

PHYVV

4.- Estimar la distribución

familias en las comarcas

que han sido

de resistencia

III. HIPÓTESIS

Las variedades silvestres y criollas de *Capsicum annuum* albergan un conjunto de genes que pueden servir y ser utilizados en la resistencia a distintas enfermedades como PHYVV.

IV. OBJETIVOS

Objetivo general

Identificar plantas resistentes a PHYVV en variedades silvestres y criollas de *Capsicum annuum*.

Objetivos específicos

1. Detectar plantas resistentes de *Capsicum annuum* a PHYVV.
2. Analizar la presencia del patógeno molecularmente (PHYVV) en la fuente de inóculo, insectos y genotipos.
3. Analizar la expresión fenotípica de los genotipos de chile infectados con PHYVV.
- 4.- Estimar la distribución de la variación entre poblaciones, entre familias y dentro de familias en las características medidas.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del experimento

El trabajo se estableció en un área aislada con malla antiafidos dentro del invernadero instalado en el campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, situada en el km 17.5 de la carretera Culiacán-Eldorado, geográficamente localizado a 24° 37' 24.40" de latitud Norte y 107° 26' 35.69" de longitud Oeste, a una altitud de 38.54 msnm.

5.2. Germoplasma utilizado

Se utilizaron frutos maduros de cuatro poblaciones de chiles silvestres Yecorato (Y), Lo de Vega (LV), El Mahone (EM), Buyubampo (BY) y una población de chile criollo (CR) del Banco de germoplasma del Laboratorio de Recursos genéticos de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Sinaloa, dichos frutos fueron colectados en el norte del Estado de Sinaloa, se extrajo la semilla y se trató con ácido giberélico a 1000 ppm en agua destilada, dejándolas en reposo durante 30 h.

5.3. Siembra

Se realizó el 22 de abril del 2014 en charolas poliestireno de 200 cavidades las cuales fueron desinfectadas con cloro: en relación 1:1 y después fueron lavadas con agua, posteriormente fueron llenadas con sustrato Peat-Moss donde se depositó una semilla por cavidad y se cubrió con vermiculita para ser regadas con la finalidad de mantener la humedad necesaria para la germinación.

5.4. Trasplante

Este se realizó el 24 de junio del 2014 en bolsas con diez kilogramos de suelo de aluvión, a una separación de 30 cm por bolsas, 130 cm de distancia entre surcos.

5.5. Diseño experimental

Se utilizó un diseño de 3 bloques al azar con respecto a la población y dentro de cada población las familias.

5.6. Fuente de inóculo viral

Se colectaron púas de plantas de chile cultivar Grande[®] (Seminis) con los síntomas causados por PHYVV y se injertaron en plantas de chile cultivar Maverick[®] (United Genetics) para la incrementación y conservación del inóculo viral. Las plantas injertadas fueron mantenidas en jaulas entomológicas de madera a prueba de insectos (40 cm de largo, 40 cm de ancho por 60 cm de altura) y cubiertas con tela de organza.

5.7. Identificación del virus en la fuente de inoculo

Se identificó a PHYVV mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando los iniciadores 240 y 241 que amplifican un fragmento específico de 350 pares de bases de la región intergénica del componente A del virus. La extracción de ADN fue realizada por el método reportado por Dellaporta et al. (1983). Las reacciones de PCR fueron llevadas a cabo por lo descrito por Anaya-López et al. (2003) en un termociclador (Bio-Rad C 1000 TM Thermal Cycler). Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis en agarosa al 1%. El fragmento amplificado fue purificado con el uso de microcolumnas comerciales (PureLink) y posteriormente secuenciado de acuerdo con lo descrito por Sanger et al (1977), en el LANGEBIO (CINVESTAV-Irapuato, México) para confirmar la presencia de PHYVV. La secuencia obtenida se comparó con las de otros aislamientos de PHYVV registradas en el Gen Bank (NCBI). La estimación de la similitud de las secuencias analizadas se hizo con el programa BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>; Altschulf et al (1990).

5.8. Método de inoculación

La inoculación se realizó mediante el método de injerto, para lo cual se hizo un corte superficial en el patrón donde se colocó una púa de las plantas infectadas con el virus, después se envolvió con papel parafilm la zona del injerto y finalmente se atomizó agua cada dos horas para evitar la deshidratación del injerto.

5.9. Variables de estudio

5.9.1. Días a los primeros síntomas y nivel de daño

5.9.1.1. Días a los primeros síntomas: días transcurridos desde el día de la inoculación hasta la aparición de los primeros síntomas.

5.9.1.2. Nivel de daño: Se realizaron cuatro evaluaciones a los 15, 30, 45 y 75 días después de la inoculación (ddi), se evaluaron en base a una escala de 10 puntos (0 a 9) reportada por Torres-Pacheco *et al* (1997) (Cuadro 1), a la cual se le otorgó un valor al nivel de expresión de cada uno de ellos.

Cuadro 1. Escala utilizada para la evaluación de los síntomas observados en plantas de *Capsicum annum*.

- 0 Sin síntomas
- 1 Arrugamiento leve de las hojas apicales y presencia de puntos ligeramente amarillos como de un milímetro de diámetro, solo visible exponiendo las hojas a la luz.
- 2 Aparición de puntos ligeramente amarillos en grupos aislados en las hojas apicales.
- 3 Los grupos de puntos aislados empiezan a observarse como una red, preferentemente en la base de las hojas apicales.
- 4 La red es completamente visible.
- 5 Formación de protuberancias en forma de ínsulas en las partes medias de las hojas que manifestaron los primeros síntomas.
- 6 Las protuberancias empiezan a curvar las hojas ligeramente.
- 7 Las hojas curvadas se empiezan a distorsionar, dejando el envés de las mismas hacia fuera.
- 8 Las hojas se distorsionan completamente.
- 9 Las hojas de las plantas afectadas son de menor tamaño.

5.10. Características vegetativas

5.10.1. Altura de planta (cm): Se determinó con la medición con una cinta métrica desde la superficie del suelo hasta la parte apical de la planta.

5.10.2. Diámetro de tallo (mm): Esta variable se midió con un vernier a una altura de dos centímetros de la base del tallo.

5.10.3. Largo y ancho de hoja (mm): Se tomó una hoja al azar del estrato medio de la planta la cual se midió con un vernier.

5.11. Características reproductivas

5.11.1. Número de frutos: se contaron el total de frutos por planta.

5.11.2. Días a floración: se contó el total de días transcurridos desde el día de la siembra hasta la aparición del primer botón floral

5.11.3. Número de semillas por fruto: Se contabilizaron las semillas de cinco frutos seleccionados al azar y se promediaron.

5.11.4. Peso por semilla (mg): peso de semilla se pesaron con una balanza analítica de la marca Denver Instrument modelo TP-214 hecha en Estados Unidos de América, con un máximo de 210 g y un margen de precisión de 0.1 mg.

5.11.5. Número de semillas por planta: Se multiplico el total de frutos obtenidos por planta por el número de semillas por fruto.

5.11.6. Peso de semillas por planta (g): se multiplico el peso por semilla por el número de semillas por planta.

5.12. Análisis estadístico

Las diferencias entre medias de las poblaciones se determinaron por medio de un análisis de varianza. Las correlaciones se realizaron mediante los coeficientes de correlación de Pearson. Para el porcentaje de variación se utilizó un análisis de

varianza anidado con las poblaciones y las familias dentro de las poblaciones como fuentes de variación. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba de *Tukey* ($\alpha \leq 0.05$).

5.13. Análisis de laboratorio para la detección del patógeno

Para los análisis de extracción de ADN y procedimiento de la técnica de PCR, se llevaron a cabo en las instalaciones de los laboratorios de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

5.13.1. Extracción de ADN

Este proceso se llevó a cabo utilizando el método de (Doyle y Doyle, 1990), en donde se tomaron las muestras de las plantas con síntomas de cero a tres consideradas como resistentes estas fueron maceradas en diferente mortero y pistilo con 500 μ l de buffer de extracción (Tris-HCl 100mMpH8.0, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M, β -mercaptoetanol 0.2 v/v) el cual se colocó a baño maría a 65°C durante 30 M. Después se añadieron 160 μ l de acetato de amonio 10 M y la mezcla se incubo en hielo por 10 min, se agregó un volumen de fenol cloroformo isoamilico (25:24:1) frio y se agito hasta homogeneizar. Se centrifugo a 12000 rpm por 10 min a 4°C. Los acidos nucleicos de la fase acuosa se recuperaron en 0.6Vol de isopropanol frio y se colocaron durante 1 h a -20°C, se centrifugo nuevamente la muestra a 12000 rpm/20 min a 4°C y se decantó el isopropanol, posteriormente se realizaron dos lavados a la pastilla de ácidos nucleicos con 500 μ l de etanol al 70% frio y se centrifugo a 12000 rpm /5min, después se secó la pastillas a temperatura ambiente y una vez que está seco se re suspendió en 35 μ l de agua inyectable.

5.13.2. Identificación del virus.

Se identificó a PHYVV mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se utilizaron los iniciadores 240 y 241 (marca) que amplifican un fragmento específico de 350 pares de bases de la región intergénica del componente A del virus. Las reacciones de PCR fueron llevadas a cabo por lo descrito por Anaya-López *et al* (2003) en un termociclador (Bio-Rad C 1000 TM Thermal Cycler).

5.13.3. Analisis del ADN en gel agarosa al 1.5%

Los productos de PCR fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa al 1.5% con amortiguador TAE 1X (Tris-HCL 100mM pH 8.0, ácido acético al 99.5%, EDTA 0.5M) al cual se le agrego 0.5µl de Gel red (Invitrogen) para teñir el gel. El marcador molecular utilizado fue del tamaño de 1 kilobase (kb) (plus DNA, invitrogen). Se mezclaron 10µl de la reacción de PCR con 2 µl de amortiguador de carga (azul de bromofenol y glicerol) después se depósito la mezcla en los pozos del gel. La separación electroforética se realizó a un voltaje constante (80V) por 45 min. Y los productos amplificados se observaron con luz ultravioleta.

En el nivel de ...
presentaron ...
de Lo de Vega ...
et al (1998) ...
desarrollaron ...
las poblaciones ...

Cuadro 1. ...

Patibón

Tacoma (54)

Moson (8)

Boyalocoy (7)

La de Vega (29)

Cala de Rota (24)

Parícuta (9)

Sacupán (9)

F

F

Los datos ...

México ...

El ...

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Días a los primeros síntomas y nivel de daño

En días a los primeros síntomas hubo diferencias significativas entre poblaciones (0.0015), presentaron una media entre 8.72 y 16.33 días, la población que tardó más días en presentar días después de la inoculación fue la de Cola de Rata (cuadro 2). Estos resultados coinciden con los reportados por Hernández-Verdugo *et al* (2001), quienes encontraron que las plantas infectadas con PHYVV comenzaron a mostrar síntomas a partir de los ocho días después de la inoculación.

En el nivel de daño hubo diferencias significativas entre poblaciones (<0.0001), presentaron una media entre 0.89 y 7.54, a población que más daño presentó fue la de Lo de Vega (cuadro 2). Estos resultados coinciden con los de Hernández-Verdugo *et al* (1998), quien encontró que la mayoría de plantas infectadas por PHV desarrollaron síntomas a la enfermedad pero la severidad de los síntomas varió entre las poblaciones estudiadas.

Cuadro 2. Medias de las características días a los primeros síntomas y nivel de daño en poblaciones silvestres y criollas de *Capsicum*.

Población	Días a los primeros síntomas	Nivel de daño
Yecorato(54)	11.22 (0.98) ab	5.85 (0.34) bc
Mahone(60)	9.77 (0.93) b	4.47 (0.33) cd
Buyubampo(27)	13.59 (1.39) ab	6.89 (0.49) ab
Lo de Vega(39)	8.72 (1.15) b	7.54 (0.41) a
Cola de Rata(24)	16.33 (1.47) a	3.88 (0.52) d
Resistente (9)	11.33 (2.40) ab	0.89 (0.84) e
Suceptible (9)	10.11 (2.40) ab	7.11 (0.84) abc
F	3.7287	14.627
P	0.0015	<.0001

Los errores estándares se presentan entre paréntesis.

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$).

El número de plantas se presenta entre paréntesis después del nombre de la población correspondiente.

6.2. Distribución de los síntomas en el experimento

La distribución de los síntomas a los 75 días después de haber inoculado se comportaron de la siguiente manera para todo el experimento, en el nivel de cero se encontraron cinco plantas(2%) , en el nivel uno 24(11%), el nivel dos y tres se encontraron 21(9%) para cada uno, nivel cuatro 12 (5%), nivel cinco y seis 18(8%) para ambos niveles, nivel siete 28(13%), nivel ocho 17 (8%) y nivel nueve 58(26%) (Figura 2).

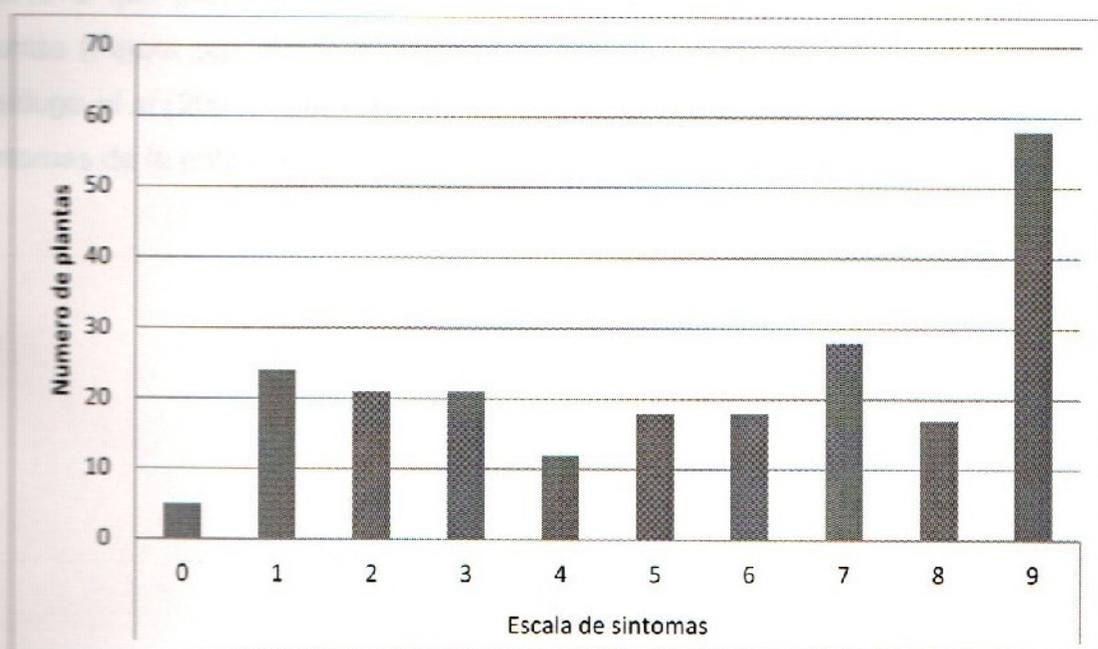


Figura 1. Distribución de los síntomas 75 días después de la inoculación (ddi) en todo el experimento (n=222).

6.3. Distribución de síntomas entre poblaciones

En la distribución de los síntomas para cada población, la población Buyubampo obtuvo una media 6.89 con un rango de uno a nueve, con el mayor número de plantas ubicado en el nivel nueve (Figura 3a). La población El Mahone presento una media de 4.47 con un rango de cero a nueve, una distribución uniforme y el mayor número de plantas se encontró en el nivel uno, aunado a esto fue la única población silvestre que presento 3 plantas en el nivel de cero considerado como resistente (Figura 3b). La población Lo de Vega presento una media de 7.54 con un rango de

dos a nueve, predominando el mayor número de plantas en el nivel nueve con 19 plantas (Figura 3c). La población Yecorato presento una media de 5.85 con un rango de uno a nueve, el nivel donde presento el mayor número de plantas fue el siete con 11 plantas (Figura 3d). En la población Cola de Rata se presentó una media de 3.88 con un rango de uno a nueve, los niveles donde se presentó el mayor número de plantas fue el uno con y tres con cuatro plantas y el dos con siete (Figura 3e). La población Resistente presento una media de 0.89, un rango de cero a dos y el nivel que presento el mayor número de plantas fue el dos con seis plantas (Figura 3f). En la población Susceptible presento una media de 7.11 con un rango de cuatro a nueve y el nivel que presento el mayor número de plantas fue el nueve con cuatro plantas (Figura 3g). Estos resultados coinciden con los reportados por Hernández-Verdugo *et al* (2001), quienes reportaron que la mayoría de las plantas desarrollaron síntomas de la enfermedad a pesar de la gravedad variaron entre poblaciones.



Figura 3
población
d) res...

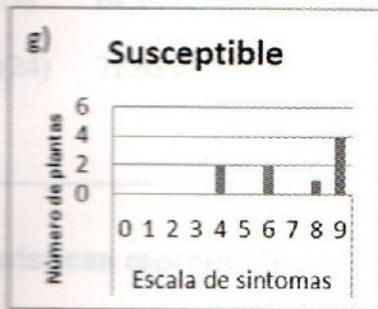
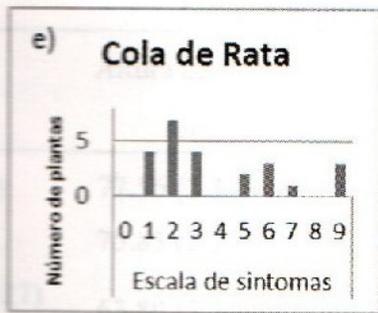
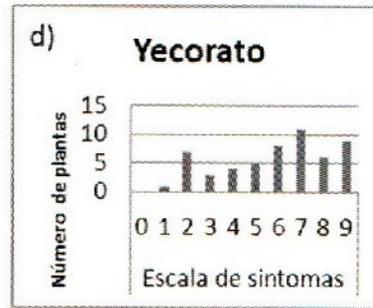
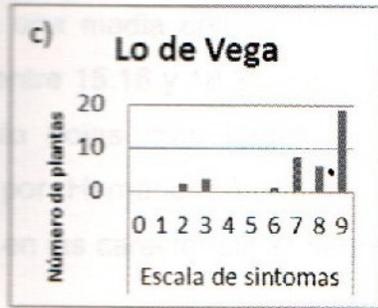
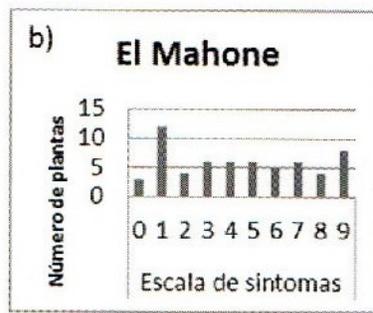
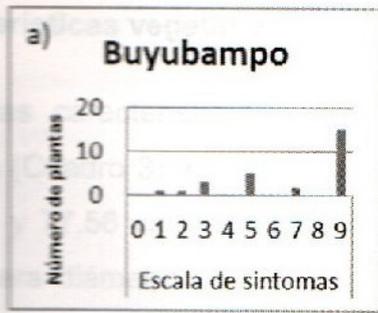


Figura 2. Distribución de los síntomas al virus PHYVV en la población a)Buyubampo, b)El Mahone, c)Lo de Vega, d)Yecorato, e)Cola de Rata, f)Resistente, g)Susceptible.

6.4. Características vegetativas

En todas las características vegetativas hubo diferencia significativa entre las poblaciones (Cuadro 3). En altura de planta las poblaciones presentaron una media entre 63.89 y 77.56 cm, la población donde se presentaron plantas más altas fue Yecorato, para diámetro de tallo presentaron una media entre 8.09 y 11.08mm, la población El Mahone fue la que presentó mayor grosor, para largo de hoja presentaron una media entre 26.17 y 42.14mm y para ancho de hoja presentaron una media entre 15.16 y 18.32 mm, en estas últimas la población Buyubampo fue la que presentó hojas más largas y anchas. Estos resultados coinciden con los reportados por Hernández-Verdugo *et al* (2012), quienes reportaron diferencias significativa en las características vegetativas entes mencionadas.

Cuadro 3. Medias de las características vegetativas de poblaciones silvestres y criollas de *Capsicum annum* del estado de Sinaloa.

Población	Altura de planta (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Largo de hoja (mm)	Ancho de hoja (mm)
Yecorato(54)	77.56 (2.38) a	11.06(0.18) a	30.39(0.97) bc	17.60 (0.48) a
Mahone(60)	75.83 (2.26) a	11.08 (0.18) a	28.31 (0.92) c	16.61 (0.45) ab
Buyubampo(27)	63.89 (3.36) b	10.96 (0.26) ab	26.17 (1.37) c	15.16 (0.67) b
Lo de Vega(39)	64.94 (2.80) b	10.10 (0.22) b	32.54 (1.14) b	18.32 (0.56) a
Cola de Rata(24)	72.65 (3.57) ab	8.09 (0.28) c	42.14 (1.46) a	16.76 (0.71) ab
F	5.13	25.57	20.41	3.89
P	0.0006	<.0001	<.0001	<.0046

6.5. Características reproductivas

En todas las características reproductivas hubo diferencia significativa entre las poblaciones (<.0001) (Cuadro 4). En días a la floración las plantas tardaron entre 85.88 y 104.37 días y fue la población Buyubampo la más tardía. Para el número de frutos por planta presentó una media de entre 4.44 y 23.29 frutos y la población que obtuvo mayor cantidad de frutos fue la de Cola de Rata. En el número de semillas por fruto presentó una media entre 4.87 y 10.05 semillas, la población que presentó

mayor número de semillas por fruto fue la de Cola de Rata. En el peso de semilla las poblaciones presentaron una media entre 1.46 y 4.18 mg, la población Cola de Rata fue la que presentó semilla de mayor peso. En número de semillas por planta las poblaciones presentaron una media de entre 26.13 y 304.04 semillas, la población que obtuvo mayor producción de semillas por planta fue la Cola de Rata. En el peso de semilla por planta presentó una media de entre 0.07 y 1.44 g, la población que presentó mayor peso de semilla por planta fue la Cola de Rata. Estos resultados son consistentes con otros estudios de isoenzimas (Hamrick y Godt, 1997), RAPDs (Bussell, 1999), que han indicado que las especies vegetales con autofertilización muestran diferenciación significativa entre sus poblaciones. También coinciden con lo reportado por Hernández-Verdugo *et al* (2008), quienes observaron diferencias significativas entre poblaciones en las características reproductivas de *Capsicum annuum* silvestre.

Cuadro 4. Medias de las características reproductivas de las poblaciones silvestres y criollas de *Capsicum*.

Población	Días a floración	Número de frutos/planta	Número de sem/fruto	Peso /semilla	Número de sem/planta	Peso sem/planta
Yecorato(54)	98.09 ab (1.68)	7.5 b (2.20)	4.99 b (0.59)	2.12 bc (0.0002)	59.03 b (29.16)	0.18 c (0.09)
Mañone(60)	94.07 bc (1.60)	22.03 a (2.09)	8.65 a (0.56)	2.37 bc (0.0002)	253.11 a (27.66)	0.68 b (0.09)
Buyubampo(27)	104.37 a (2.38)	4.44 b (3.11)	2.7 b (0.84)	1.46 c (0.0003)	26.13 b (41.23)	0.07 c (0.13)
Lo de Vega(39)	100.74 ab (1.98)	8.64 b (2.59)	4.87 b (0.70)	2.56 b (0.0002)	68.54 b (34.31)	0.26 c (0.11)
Cola de Rata(24)	85.88 c (2.53)	23.29 a (3.30)	10.05 a (0.89)	4.18 a (0.0003)	304.04 a (43.73)	1.44 a (0.14)
F	9.0717	11.2443	15.7657	12.0628	12.6114	18.3467
P	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

Las errores estándares se presentan entre paréntesis.

Medias con letras diferentes son significativamente diferentes (Tukey $\alpha \leq 0.05$).

El número de plantas se presenta entre paréntesis después del nombre de la población correspondiente.

6.6. Distribución de la variación

En la mayoría de las características medidas la que obtuvo mayor cantidad de variación se distribuyó entre poblaciones, excepto días a los primeros síntomas, altura de planta, peso por semilla, número de semillas por fruto (Cuadro 5). Las diferencias entre poblaciones se encuentran desde 8.85% (Días a los primeros síntomas) hasta 77.88% (Número de frutos por planta) de la variación total, con una media general de 50.78%. En cambio la de menor variación se encontró entre familias con una media de 2.98% y con un intervalo de variación de 0.00% (Días a los primeros síntomas, Altura de planta, Peso por semilla y Peso de semillas por planta) hasta 9.53% (diámetro de tallo). El promedio de variación dentro de familias fue de 46.76%, con una variación desde 19.8% (número de frutos) hasta 93.81% (días a los primeros síntomas). Estos resultados difieren con los resultados obtenidos por Rice y Mack (1991) en *Bromus tectorum* y Hernandez-Verdugo *et al* (2008) en *Capsicum annuum* Var. *Glabriusculum* quienes encontraron que la estructura de varianza en el número de semillas por plantas, peso individual de semilla y número de semillas por planta fue dominada por la varianza dentro de familia.

De la variación fenotípica total observada en todas las características medidas, en promedio 50.81% tiene una base genética, de la cual 3.98% se distribuyó entre poblaciones y 3.05% dentro de poblaciones (entre familias) (Cuadro 3). Estos resultados indican que las poblaciones silvestres y criollas de *C. annuum* del estado de Sinaloa mantienen niveles sustanciales de variación genética estimada en caracteres cuantitativo, y la mayor parte de la variación se distribuye entre poblaciones. Estos resultados coinciden con los publicados por Hernandez-Verdugo *et al* (2001a) y Oyama *et al* (2006), quienes mediante isoenzimas y marcadores moleculares RAPDs mostraron que las poblaciones silvestres de *C. annuum* del Noroeste de México mantienen elevados niveles de variación genética dentro y entre sus poblaciones.

Cuadro 5. Porcentaje de variación entre poblaciones (VEP), entre familias (VEF) y dentro de familias. Variación genética total ($VGT=VEP+VEF/(VEP+VEF+VDF)$), variación genética entre poblaciones ($VGP=VGP/VGP+VGF$) y variación genética entre familias ($VGF=VGF/VGP+VGF$) para doce de los caracteres medidos en las poblaciones de *C. annuum* silvestres y criollos del estado de Sinaloa, México

Carácter	VEP	VEF	VDF	VGT	VGP	VGF
Nivel de daño	42.33	0.81	56.87	42.33	1.81	0.82
Días a los primeros síntomas	8.85	0.00	91.15	8.85	1.00	0.00
Días a la floración	69.12	6.50	24.38	69.18	7.50	6.60
Número de frutos	77.88	2.32	19.80	77.91	3.32	2.35
Altura de planta	23.20	0.00	76.80	23.20	1.00	0.00
Diámetro de tallo	53.57	9.53	36.90	53.67	10.53	9.71
Largo de hoja	69.12	1.19	29.69	69.13	2.19	1.20
Ancho de hoja	62.55	2.49	34.97	62.57	3.49	2.53
Peso por semilla	37.40	0.00	62.60	37.4	1.00	0.00
Numero de semillas/fruto	26.01	8.56	65.44	26.09	9.56	8.88
Numero de semillas/planta	66.20	4.38	29.42	66.24	5.38	4.45
Peso de semillas/planta	73.13	0.00	26.87	73.13	1.00	0.00
Media	50.78	2.98	46.24	50.81	3.98	3.05

6.7. Correlaciones fenotípicas

En las correlaciones fenotípicas, el nivel de daño se correlaciono negativamente con los valores de los días de aparición a los primeros síntomas -0.2463, las plantas con nivel de daño menor retrasaron significativamente el tiempo a la aparición de los síntomas; con días a la floración se correlaciono positivamente 0.3847, las plantas que tienen niveles de daño bajo llegan a la etapa de floración en menos días; con el número de frutos se correlaciono negativamente -0.4636, las plantas que tienen nivel de daño alto presentan menor número de frutos; con altura de planta se correlaciono negativamente -0.4576, las plantas que tienen un alto nivel de daño tienen una menor altura; con el largo de hoja se correlaciono negativamente -0.1490, las plantas con nivel de daño alto presentan hojas más cortas; con el peso de semilla se correlaciono negativamente -0.2482, las plantas con nivel de daño alto producen frutos con semillas de bajo peso; con el número de semillas por fruto se correlaciona negativamente -0.3628, las plantas con nivel de daño alto producen frutos con menor número de semillas; con el número de semillas por planta se correlaciona negativamente -0.4127, las plantas con nivel de daño alto producen menor número

de semillas; con el peso de semillas por planta se correlaciona negativamente -0.3658, las plantas con nivel de daño alto producen semillas con menor peso (Cuadro 6).

6.8. Correlaciones genotípicas

En las correlaciones genéticas, el nivel de daño se correlaciono positivamente con los valores de días a la floración 0.4843, las plantas que tienen niveles de daño bajo llegan a la etapa de floración en menos días; con el número de frutos se correlaciono negativamente -0.5962, las plantas que tienen nivel de daño alto presentan menor número de frutos; con altura de planta se correlaciono negativamente -0.5243, las plantas que tienen un alto nivel de daño tienen una menor altura; con el peso de semilla se correlaciono negativamente -0.4534, las plantas con nivel de daño alto producen frutos con semillas de bajo peso; con el número de semillas por fruto se correlaciona negativamente -0.6110, las plantas con nivel de daño alto producen frutos con menor número de semillas; con el número de semillas por planta se correlaciona negativamente -0.5686, las plantas con nivel de daño alto producen menor número de semillas; con el peso de semillas por planta se correlaciona negativamente -0.5457, las plantas con nivel de daño alto producen semillas con menor peso (Cuadro 6).

Cuadro 6. Correlaciones fenotípicas y genéticas con el nivel de daño en poblaciones silvestres y criollas del Estado de Sinaloa

	Fenotípicas		Genéticas	
	r	P	r	P
Días a los primeros síntomas	-0.2463	(0.0002)	-0.1904	(0.1145)
Días a la floración	0.3847	(0.0000)	0.4843	(0.0000)
Número de frutos	-0.4636	(0.0000)	-0.5962	(0.0000)
Altura de planta	-0.4576	(0.0000)	-0.5243	(0.0000)
Diámetro de tallo	-0.0575	(0.3941)	-0.0277	(0.8197)
Largo de hoja	-0.1490	(0.0264)	-0.1546	(0.2011)
Ancho de hoja	-0.0047	(0.9451)	0.0981	(0.4191)
Peso por semilla	-0.2482	(0.0002)	-0.4534	(0.0001)
Numero de semillas/fruto	-0.3628	(0.0000)	-0.6110	(0.0000)
Numero de semillas/planta	-0.4127	(0.0000)	-0.5686	(0.0000)
Peso de semillas/planta	-0.3658	(0.0000)	-0.5457	(0.0000)

6.9. Identificación del virus

Las muestras tomadas de las plantas injertadas con PHYVV resultaron positivas para la amplificación del fragmento esperado de 350 pb (Figura 1). La secuencia del fragmento amplificado mostró 99% de identidad nucleotídica con el aislado HE967657 del GenBank.

Es muy importante para cualquier programa de mejoramiento genético el aislamiento e identificación de cualquier agente patógeno, ya que influye en la selección de cualquier programa de resistencia genética en cualquier cultivo. De acuerdo con los análisis moleculares por PCR y la secuenciación de las muestras tomadas en plantas de chile estudiadas, el virus aislado en este estudio pertenece a la especie PHYVV, al género *Begomovirus* identificado por primera vez en el norte de México, en el estado de Tamaulipas por Garzón-Tiznado *et al* (1993) y reportado en el estado de Sinaloa en el 2003 por Mendez-Lozano (2003). Este *Begomovirus* es el que se encuentra distribuido más ampliamente en el cultivo de chile (*Capsicum* spp.) en la república Mexicana y es una de las principales limitantes de este cultivo (Torres-Pacheco *et al.*, 1996; Holguín-Peña *et al.*, 2007).

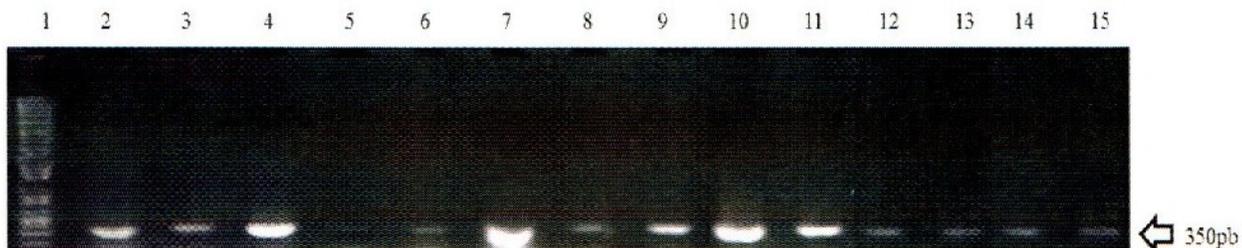


Figura 3. Detección del ADN de PHYVV con el empleo de los oligos específicos 240 y 241, que amplificaron un fragmento esperado de 350 pb. Carril 1, marcador 1 Kb; Carril 2,3 y 4, a partir de ADN extraído de plantas de chile con sintoma de cero; carril 5, 6, 7 y 8, a partir de ADN extraído de plantas de chile con sintoma de uno; Carril 9, 10, 11 y 12, a partir de ADN extraído de plantas de chile con sintoma de dos; carriles 13, 14 y 15, a partir de ADN extraído de plantas de chile con sintoma de tres.

VII. CONCLUSIONES

Las poblaciones silvestres y criollas del Estado de Sinaloa cuentan con una gran variabilidad genética para encontrar resistencia a PHYVV, la cual puede ser utilizada para programas de mejoramiento genético, por lo cual esta especie se convierte en un recurso genético muy valioso que se debe seguir estudiando para mejorar su uso y conservación. El método de injerto que se utilizó para inocular PHYVV, es un método confiable.

Se encontró correlación entre las características morfológicas y vegetativas con el nivel de daño causado por el virus en la planta, afectando la mayoría de las características evaluadas.

VIII. LITERATURA CITADA

- Anaya-López, J. L., Torres-Pacheco, I., González-Chavira, M., Garzón-Tiznado, J. A., Pons-Hernández, J. L., Guevara-González, R. G., Muñoz-Sánchez, C. I., Guevara-Olvera, L., Rivera-Bustamante, R. F., and Hernández-Verdugo, S. (2003). Resistance to geminivirus mixed infections in Mexican wild peppers. *HortScience* 38:251-255.
- Barrera-Pacheco, A., Joaquín-Ramos, A.J., Torres-Pacheco, I., González Chavira, M., Pérez-Pérez, M., Guevara-Olvera, L. y Guevara-González, R. (2008). Análisis de la expresión transcripcional inducida bajo condiciones de estrés biótico y abiótico en *Capsicum chinense* BG-3821. *Agrociencia* 42:95-106.
- Bosland, P. W. y Votava, E. J. (2012). Peppers: vegetable and spice capsicums. 2nd (Ed.). Cabi publishing. London UK. 230 p.
- Borah, B. K. y Dasgupta, I. (2012). Begomovirus research in India: a critical appraisal and the way ahead. *Journal of Bioscience* 37, 791-806.
- Bussell, D (1999). The distribution of random amplified polymorphic DNA (RAPD) diversity amongst populations of *Isotoma petraea* (Lobeliaceae). *Plant Molecular Ecology Reporter* 88:775-789.
- Cárdenas. (2010) TDI, HOM, F. La Materia médica homeopática: La familia de las solanáceas. Disponible en: <http://www.homeoint.org/articles/cardenas/solanaceas.htm>. Fecha de consulta: [30/ 10/ 2014]
- Dellaporta, S. L., Woods, J., and Hicks, J. B. (1983). A plant mini preparation, Version II. *Plant Molecular Biology Reporter* 1:19-21.
- Doyle, J. J., and Doyle J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- FAOSTAT. (2010). Base de datos de estadísticas agrícolas <http://faostat.fao.org> [18/08/2014].
- Garzón-Tiznado, J.A., Torres-Pacheco, I., Ascencio-Ibañez, J.T., Herrera-Estrella, L., and Rivera-Bustamante, R.F. (1993). Inoculation of peppers with infectious clones of a new geminivirus by a biolistic procedure. *Phytopathology* 83:514-521.
- Hamrick, J.T. y Godt, M.J.W. (1997) Allozyme diversity in cultivated crops. *Crop Science* 37:26-30.

- Harlan, J.R., (1971). Agricultural origins: centers and no centers. *Science* 174:468-474.
- Hernandez-Verdugo, S., Dávila-Aranda, P. y Oyama, K. (1999) Síntesis del conocimiento taxonómico, origen y domesticación del genero *Capsicum*. *Boletín Sociedad Botánica de México* 64:65-84.
- Hernández-Verdugo, S., Guevara-González, R. G., Rivera-Bustamante, R. F. y Oyama, k. (1998). Los parientes silvestres del chile (*capsicum* spp.) como recursos genéticos. *Boletín Sociedad Botánica de México* 62:171-181.
- Hernández-Verdugo, S., Guevara-González, R. G., Rivera-Bustamante, R..F., and Oyama, K. (2001). Screening wild plants of *Capsicum annuum* for resistance to *Pepper huasteco virus* (PHV): Presence of viral DNA and differentiation among populations. *Euphytica* 122:31-36.
- Hernández-Verdugo, S., López-España, R.G., Sánchez-Peña, P., Villarreal-Romero, M., Parra-Terraza, S., Porras, F. y Corrales-Madrid, J.L. (2008). "Variación fenotípica entre y dentro de poblaciones silvestres de chile del noroeste de México". *Revista Fitotecnia Mexicana* 31:323-330.
- Hernández-Verdugo, S., Porras, F., Pacheco-Olvera, A., López-España, R G., Villarreal-Romero, M., Parra-Terraza, S. y Osuna Enciso, T. (2012). Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* Var. *Glabriusculum*) silvestre del Noroeste de México *Polibotánica*, núm. pp. 175-191
- Holguín-Peña, R. J., Rivera-Bustamante, R. F., and Carrillo-Tripp, J. (2007). *Pepper golden mosaic virus* and related geminiviruses affecting tomato crops. In: *Characterization, Diagnosis and Management of Plant Viruses. Vol. 3: Vegetable and Pulse Crops*. G. P. Rao, P. L. Kumar, and R. huasteco virus in *Capsicum chinense* plants with resistance to in Mexican wild peppers. *HortScience* 38:251-255.
- Latournerie, M. L., Chavéz, S. J. L., Pérez, P. M., Castañón, N. G., Rodríguez, H. S. A., Arias, R. L. M. y Ramírez, V. P. (2002). Valoración in situ de la diversidad morfológica de chiles (*Capsicum annuum*L. y *Capsicum chinense*Jacq.) en Yaxcabá, Yucatán. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25:25-33.
- López-Riquelme, O. G. (2003). Chilli: La especia del nuevo mundo. *Ciencias. Méx.* 069: 66-75.
- MacNeish, R.S. (1964). Ancient Mesoamerican civilization. *Science*, 143:531-537.
- Méndez-Lozano, J., Torres-Pacheco, I., Fauquet, C. M., and Rivera-Bustamante, R. F. 2003. Interactions between geminiviruses in a naturally occurring mixture:

- Moreno-Pérez, E. C., avendaño-Arrazate, C. H., Mora-Aguilar, R., Cadena-Iñiguez, J., Aguilar-Rincón, V., H. y Aguirre-Medina, J. F. (2011). Diversidad morfológica en colectas de chile guajillo (*Capsicum annuum* L.) del centro-norte de México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17: 23-30.
- Oyama, K., Hernández-Verdugo S., Sánchez, C., González-Rodríguez A., Sánchez-Peña, P., Garzón-Tiznado, J.A. and Casas, A. (2006). "Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum*(Solanaceae) from Mexico as revealed by RAPD". *Genetic Resources and Crop Evolution* 53: 553-562.
- Palmer, E.K. and E.P. Rybicky, 1997. The use of geminiviruses in biotechnology and plant molecular biology with particular focus on mastreviruses. *Plant Science* 129: 115-130.
- Pickersgill, B. (1984). Migration of chili peppers, *Capsicum* spp. in the Americas. *Papers of the Peabody Museum of Archeology and Ethnology*. Ed. for Stone D. vol. 76. Harvard University Press, pp. 105-123.
- Rice, K.J., Mack, R.N. (1991). "Ecological genetics of *Bromus tectorum*. I. A hierachical analysis of phenotypic variation". *Oecologia* 88: 77-83.
- Rodríguez, J., Peña, O. B. V., Gil, M. A., Martínez, C. B., Manzo, F. y Salazar, L. L. (2007). Rescate in situde chile "Poblano" en Puebla, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 30: 25-32.
- Salazar L, Silvia C. (2004). Efectos farmacológicos de la Capsaicina, el principio pungente del chile. *Biología Scripta*. 1(1): 7-4.
- Sanger, F., S. Niklen and Coulson, A. R.. (1977). DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proceeding National Academy Sciences. USA* 74:5463-5467.
- Shankarappa, K. S., Sriharsha, Rangaswamy, K.T., Aswathanarayana, D. S., Prameela, H. A., Kulkarni, R. S., Muniyappa, V., Rao, A. M. y Maruthi, M. N. 2008. Development of tomato hybrids resistant to tomato leaf curl virus disease in South India. *Euphytica* 164, 531-539.
- SIAP., SAGARPA. 2013. Boletín. Producción. México es primer lugar mundial en la producción de chile verde.
- Torres-Pacheco, I. (1997). Geminivirus involucrados en el 'rizado amarillo del chile': interacción entre el PHV y TPV. Tesis Doctoral. CINVESTAV, IPN. Mexico.

Torres-Pacheco, I., Garzon-Tiznado, J. A., Brown, J. K., Becerra-Flora, A., and Rivera-Bustamante, R. F. (1996). Detection and distribution of geminiviruses in Mexico and the southern United States. *Phytopathology* 86:1186-1192.

Zapata N., Bañon, S. y Cabrera, P. (1992). *El pimentón*. Ediciones Mundiprensa, Madrid, España Pag. 88-91.