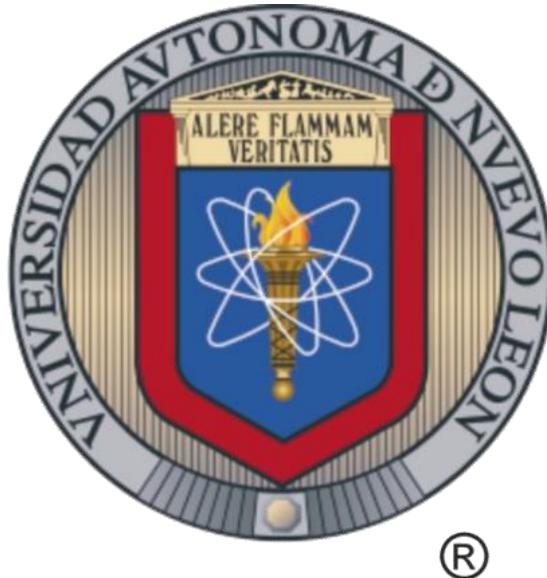


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE PIMIENTO (*CAPSICUM ANNUUM* L.) LIBRE  
DE LOS VIRUS AMV Y CMV EN SAN LUIS POTOSÍ**

**POR**

**M.C. RAPUCEL TONANTZIN QUETZALLI HEINZ CASTRO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**ABRIL, 2016**

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE AGRONOMÍA**



**TESIS**

**PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.) LIBRE DE  
LOS VIRUS AMV Y CMV EN SAN LUIS POTOSÍ**

**POR**

**M.C. RAPUCEL TONANTZIN QUETZALLI HEINZ CASTRO**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**GRAL. ESCOBEDO, NUEVO LEÓN, MÉXICO**

**ABRIL DE 2016**

**PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.) LIBRE DE  
LOS VIRUS AMV Y CMV EN SAN LUIS POTOSÍ**

**Aprobación**

**Comité Particular de Tesis**

**Dr. Omar G. Alvarado Gómez**

DIRECTOR DE TESIS

---

**Dr. Juan Antonio Vidales Contreras**

ASESOR

---

**Dr. José Luis Lara Míreles**

ASESOR

---

**Dr. Jesús Alonso Esparza Rentería**

ASESOR

---

**Dr. Ernesto Javier Sánchez Alejo**

SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS

DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

---

**PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE PIMIENTO (*Capsicum annuum* L.) LIBRE DE  
LOS VIRUS AMV Y CMV EN SAN LUIS POTOSÍ**

**Aprobación**

**Comité de Exámen**

**Dr. Omar G. Alvarado Gómez**

PRESIDENTE

---

**Dr. Juan Antonio Vidales Contreras**

SECRETARIO

---

**Dr. Jesús Alonso Esparza Rentería**

VOCAL

---

**Dr. Jesús Martínez de la Cerda**

VOCAL

---

**Dr. José Luis Lara Míreles**

VOCAL

---

**Dr. Ernesto Javier Sánchez Alejo**

SUBDIRECTOR DE ESTUDIOS

DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

---

## DEDICATORIA

*A Jehova mi Dios por ser luz en todos mis días  
A Giselle y Matthew por ser fuente inagotable de amor y felicidad  
Al amor de mi vida que en diversas ocasiones me alegró a dulce limón*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León por ser la institución que me acogió en mis estudios de Doctorado y a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por ser mi institución de origen.

Agradezco a CONACYT el apoyo para llevar a cabo mis estudios de posgrado.

Agradezco enormemente a mi madre Blanca Estela Castro Muñoz por darme la oportunidad de vivir y cuidar de mi persona hasta donde le fue facultado, a mi hermana Blanca Iris Castro Muñoz que ha sido mi apoyo y ha tenido fe en mí, en todo momento.

A mis asesores Dr. José Marín Sánchez, Dr. Omar Guadalupe Alvarado Gómez, y Dr. José Luis Lara Míreles, por su apoyo, conocimientos transmitidos y amistad invaluable, al paso de los años.

A mi amigo y asesor de la Maestría el Dr. Rabindranath Manuel Thompson Farfan, por ser más que un asesor un amigo y tutor a lo largo de mi posgrado.

A mi asesor Dr. Juan Antonio Vidales Contreras por su apoyo y trato humano en toda circunstancia.

A mis maestros, Dr. Rigoberto Eustacio Vázquez Alvarado y Dr. Emilio Olivares Sáenz, por sus enseñanzas las cuales son parte fundamental en esta nueva etapa y sobre todo por la humanidad de sus palabras y clases invaluable.

A compañeros y amigos del posgrado que me brindaron amistad y apoyo, Milton Torres Cerón, Emanuel Ramos Acevedo, Marcela Ayala Salcedo, Zahidd Meza

Carranco, Carina Almaguer, Jaime Armendáriz, Manuel Quintero, César Guerrero Gámez (QPED), Keren Lazarín, Lizeth López, Janet Guardiola y Alexandro Rivas.

## CONTENIDO

Capítulo	Página
Dedicatoria	V
Agradecimientos	VI
Contenido	VII
Resumen General	VIII
Abstract	IX
Abreviaturas y Simbología	X
Índice de Cuadros y Figuras	XI
Capítulo 1. Virosis y calidad de semilla de chile poblano ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	1
Resumen	1
Summary	2
1.1 Introducción	3
1.2. El cultivo del chile en San Luis Potosí	4
1.3. Virosis en chile	6
1.4. Calidad de semilla	9
1.5. Bibliografía	16
Capítulo 2. Incremento de la calidad sanitaria y fisiológica en semilla de chile poblano ( <i>Capsicum annuum</i> L.)	20
Resumen	20
Summary	21
2.1. Introducción	22
2.2. Materiales y Métodos	24
2.3. Resultados y Discusión	28
2.4. Conclusiones	36
2.5. Bibliografía	37
Capítulo 3. Aplicación de compuestos con actividad antiviral en la producción y calidad de semilla de chile poblano ( <i>Capsicum annuum</i> L.) en invernadero	41
Resumen	41
Summary	42
3.1. Introducción	43
3.2. Materiales y Métodos	45
3.3. Resultados y Discusión	48
3.4. Conclusiones	53
3.5. Bibliografía	54
Resumen Autobiográfico	56

## RESUMEN GENERAL

México es considerado centro de origen, domesticación y diversidad de chile, *Capsicum annuum* L. Actualmente San Luis Potosí tiene problemas fitosanitarios que se reflejan en los rendimientos bajos debido a que el 80 % de la semilla utilizada es criolla, producida por los agricultores la cual no cumple con los requisitos mínimos establecidos por el SNICS. Los virus AMV y CMV afectan gravemente a los cultivos de chile debido a insectos vectores (áfidos), malas prácticas culturales y el empleo de semilla de mala calidad. Por lo anterior se busca obtener desde un inicio semilla libre de estos virus, buena calidad física, fisiológica, genética y sanitaria. Para mejorar las cualidades sanitarias, el empleo de termoterapia tiene como objetivo inactivar estos dos virus, mientras que el acondicionamiento osmótico o priming regenerará la semilla dañada por la exposición a altas temperaturas. En el presente trabajo se evaluó la calidad de las semillas de chile criollo, obtenida de agricultores de Moctezuma y Villa de Arista, S.L.P. la cual no cumplió con los estándares de calidad establecidos por el SNICS. Los resultados indicaron que la aplicación de termoterapia a 90 °C durante 120 min más el acondicionamiento osmótico a -2.02 MPa con KNO<sub>3</sub> durante 48 horas, ocasionaron un porcentaje de germinación del 42 %, mientras que la aplicación de termoterapia a semilla en valores de 50 °C durante 60 min, 90 °C durante 90 min y 90 °C durante 120 min, logró inactivar los virus AMV y CMV. Finalmente se evaluó el efecto de las sustancias antivirales Q-Virus<sup>®</sup>, ácido acetil salicílico y miel de abeja, en plantas de chile criollo inoculadas mecánicamente con los virus AMV y CMV bajo condiciones de invernadero. La aplicación semanal de miel al 0.2 %, presentó mejores resultados en la calidad de semilla, incremento de altura en plantas, número, tamaño y peso de frutos. Las semillas obtenidas en los 3 tratamientos estuvieron libres de los virus AMV y CMV.

**Palabras claves:** *Pimiento, termoterapia, acondicionamiento osmótico, AMV, CMV, porcentaje de germinación y antivirales.*

## ABSTRACT

Mexico is considered origin center, domestication and biodiversity of pepper, *Capsicum annuum* L. San Luis Potosi is currently phytosanitary problems are reflected in the low yields because 80 % of the seed used is Creole, produced by farmers which does not meet the minimum requirements set by the SNICS. The AMV and CMV virus seriously affect chile crops due to insect vectors (aphids), bad cultural practices and the use of poor quality seed. Therefore is desirable from the beginning to have a virus free seed, good physical, physiological, genetic and health quality. To improve health qualities, the use of thermotherapy have an objective to inactivate these viruses, while osmotic conditioning or priming regenerate damaged by exposure to high temperatures seed. In the present work was evaluated the quality of chile criollo seeds obtained from farmers Moctezuma and Villa de Arista, SLP farmers, which did not comply with the quality standards established by the SNICS. The results indicated that the application of thermotherapy at 90 °C for 120 min and osmotic conditioning at -2.02 MPa with KNO<sub>3</sub> for 48 hours caused a higher germination rate of 42 %, while applying thermotherapy to seed values 50 °C for 60 min, 90 °C for 90 min and 90 °C for 120 min, was able to inactivate AMV and CMV virus. Finally the effect of the antivirals Q-Virus<sup>®</sup>, acetylsalicylic acid and honey, in plants inoculated mechanically chile criollo with AMV and CMV virus was assessed under greenhouse conditions, the weekly application of honey to 0.2 %, presented better results in seed quality, increased plant height; number, size and weight of fruits. The seeds obtained in the 3 treatments were free of AMV and CMV virus.

**Keywords:** *pepper, thermotherapy, priming, AMV, CMV, germination percentage and antivirals.*

## ABREVIATURAS Y SIMBOLOGÍA

AAS	Ácido acetil salicílico
ADN	Ácido desoxiribonucleico
ADNc	Ácido desoxiribonucleico complementario
AgNO <sub>3</sub>	Nitrato de plata
AMV	Alfamovirus del mosaico de la alfalfa
Anti-Dig	Anticuerpo de detección de digoxigenina
ARN	Ácido ribonucleico
Atm	Atmósferas
BCIP	5-Bromo-4-chloro-3-indolyl fosfato
°C	Grados centígrados
CMV	Cucumovirus del mosaico del pepino
Ct	Valores umbral
ELISA	Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas
FAO	Organización para la alimentación y la agricultura
Ha	Hectáreas
ha <sup>-1</sup>	Por hectárea
IO <sub>3</sub>	Yodato
ISTA	Asociación Internacional de Pruebas de Semillas
°K <sup>-1</sup>	Por grado Kelvin
Kb	Kilo pares de bases
KNO <sub>3</sub>	Nitrato de potasio
Mg	Miligramos
Min	Minutos
Mm	Milimolar
mol <sup>-1</sup>	Por mol
MPa	Megapascales
Nm	Nanómetros
PepMV	virus del mosaico del pepino
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
Ppm	Partes por millón
RSA	Resistencia sistémica adquirida
RT-PCR	Transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SAS	Sistema de Análisis Estadístico
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
SNICS	Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas
TMV	virus del mosaico del tabaco
TEV	Potyvirus jaspeado del tabaco
T	Toneladas
var.	Variedad
µM	Micromolar
µL	Microlitro

## ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

<b>Cuadro</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Tratamientos de termoterapia y priming empleados en semilla de chile para la inactivación de los virus AMV y CMV.	26
2	Calidad fisiológica en semilla de chile producida por agricultores de Moctezuma y Villa de Arista, S.L.P.	28
3	Porcentajes de germinación y peso seco de plántulas de chile sometidas a termoterapia y osmoacondicionamiento.	30
4	Detección de los virus AMV y CMV en plántulas procedentes de semillas de pimiento sometidas a termoterapia y osmoacondicionamiento.	34
5	Efecto promedio de los tratamientos en el crecimiento y producción de chile poblano con aplicación de antivirales y otras sustancias.	48
6	Efecto de la aplicación de sustancias con actividad antiviral en la calidad fisiológica de semillas de pimiento.	52

<b>Figura</b>	<b>Descripción</b>	<b>Página</b>
1	Amplificación por RT-PCR de los virus CMV y AMV de muestras de semilla de chile poblano sometido a aplicaciones de sustancias antivirales.	50
2	RT-PCR en tiempo real para la detección del virus CMV en muestras de semilla de pimiento sometidas a la aplicación de sustancias antivirales.	51

**CAPÍTULO 1.**  
**VIROSIS Y CALIDAD DE SEMILLA DE CHILE POBLANO**  
**(*Capsicum annuum* L.)**

**RESUMEN**

México es el 2° productor de chile a nivel mundial (FAO, 2012). En el año 2014 se reportaron 148,968 ha sembrada en México (SIAP, 2014). San Luis Potosí participa con el 45% de la producción nacional de chile ancho (*Capsicum annuum* L.), no obstante se tienen rendimientos bajos debido a que el 80 % de la semilla utilizada es criolla, producida por los agricultores, de mala calidad física, fisiológica, genética y sanitaria. Con respecto a la calidad sanitaria, la ocurrencia de virus, en especial el AMV y el CMV representan una limitante para la producción de semilla, de ahí que se requieran 1.2 kg para establecer una hectárea con 30,000 plantas. El empleo de termoterapia puede inactivar virus, mientras que el acondicionamiento osmótico o priming regenerará la semilla dañada por la exposición a altas temperaturas.

**Palabras clave:** *termoterapia, priming, AMV y CMV*

## SUMMARY

Mexico is in the second position as pepper producer in the World (FAO, 2012). In 2014 year it is reported 148,968 ha sowed in the Mexico (SIAP, 2014). San Luis Potosi participate with 45 % of national production of “chile ancho” (*Capsicum annum* L.) but there are bad yields because the 80% of the seed used is creole, produced by agricultures with bad physic, physiological, genetics and sanitary quality. With relation of sanitary quality, the presence of viruses, especially AMV and CMV are limited for seed production and then its requaried 1.2 kg to establishmenth one hectare with 30,000 plants. The use of termoterapy could inactivate virus, and the priming regenerate damage seeds by exposition to high temperatures.

**Key words:** *termoterapy, priming, CMV and AMV*

## 1.1. INTRODUCCIÓN

México es considerado como centro de origen, domesticación y diversidad de chile, *Capsicum annuum* L. (Luna, 2010). En los cultivos hortícolas, las enfermedades constituyen uno de los factores de mayor riesgo para su producción, específicamente, las enfermedades causadas por virus han ocasionado fuertes pérdidas económicas que varían año con año en función de las condiciones climáticas, manejo del cultivo, control químico y cultural de insectos y malezas (Pérez et al., 2004). El cultivo del chile se ha visto afectado por la presencia de virus destacando el Alfamovirus del mosaico de la alfalfa, AMV; el Potyvirus jaspeado del tabaco, TEV y el Cucumovirus del mosaico del pepino, CMV (Hull, 2002). El priming o acondicionamiento osmótico de semillas, es considerada una técnica promisorio para mejorar la germinación porque promueve un rápido y sincronizado establecimiento de plántulas (Marín *et al.*, 2007a, b). La termoterapia es un tratamiento a base de calor, al cual se exponen tejidos vegetales para liberarlos de patógenos; ha sido aplicado como tal para inactivar diversos virus y se puede aplicar en partes vegetales en dormancia, o en crecimiento vegetativo. El objetivo de este capítulo es describir las generalidades que hay sobre el cultivo de chile poblano en San Luis Potosí, la incidencia y daños de los virus AMV y CMV, y su efecto en la calidad sanitaria para la producción de semillas. También se revisan las prácticas de termoterapia y priming como técnicas de saneamiento y regeneración de semilla.

## 1.2. EL CULTIVO DEL CHILE EN SAN LUIS POTOSÍ

En México, el cultivo del chile es importante debido a los ingresos económicos que se obtienen de su comercialización tanto nacional como de exportación, y por el alto consumo del producto. También es importante debido a la gran riqueza natural y la diversidad genética ya que existen una gran variedad de chiles, tipos y subtipos adaptados a diferentes condiciones de clima y suelo (Huerta de la Peña, 2007).

La producción de chile ocupa el 2° lugar a nivel mundial. El país con mayor producción fue China con 16 millones de toneladas, y México se ubicó en el segundo sitio con una producción de 1.12 millones de toneladas sembradas en 15,011 has (FAO, 2012, SIAP, 2014).

Hoy en día México es el segundo exportador de chile verde a nivel mundial y 14° de chile seco; los principales países a donde se exporta son Estados Unidos, Japón, Canadá, Reino Unido y Alemania (FAO, 2012).

San Luis Potosí (S.L.P.) representa el 2.38 % de superficie sembrada de chile poblano a nivel nacional con un rendimiento promedio en verde de 34.24 t ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2014). En S.L.P. los principales municipios productores de chile poblano son Venado, San Ciro de Acosta, Rio Verde, Real de Catorce, Ciudad Fernández, Vanegas, Villa de Guadalupe, Cedral y Matehuala, con un rendimiento promedio estatal de 36.23 t ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2014). S.L.P. es uno de los principales productores de chile en el país destacando las regiones del Altiplano, Media y Huasteca. Se tienen 2,091 productores de chile seco para la Zona Centro y el Altiplano, de los cuales, más del 95 % son ejidatarios y el resto pequeños propietarios. La superficie sembrada corresponde al régimen ejidal en un 81 %, mientras el 19 % al régimen de pequeña propiedad, resultando una superficie promedio por productor a nivel de zona altiplano de 3.4 has (SAGARPA, 2012). La participación proporcional en el año 2014 fue de un 27.67 % en Venado, 19.06 %

en San Ciro de Acosta, 15.99 % en Rio Verde, 11.38 % en Real de Catorce, 11.07 % en Ciudad Fernández, 6.15 % en Vanegas, 4.69 % en Villa de Guadalupe 2.77 % en Cedral y 1.23 % en Matehuala (SIAP, 2014).

El rendimiento promedio de esta especie es de 1.5 t ha<sup>-1</sup> para chile seco y 13.5 t ha<sup>-1</sup> como fruto fresco (Ramiro *et al.*, 2009). Estos bajos rendimientos se atribuyen a diversos factores como la degradación del suelo, manejo inadecuado del cultivo (Lara *et al.*, 2010), presencia de sales altamente solubles en el suelo y agua, fertilización inadecuada (De la Cruz *et al.*, 2009), uso de semillas criollas (Ramiro *et al.*, 2009) y factores socioeconómicos como la falta de recursos y bajo nivel de escolaridad (Luna y Galindo, 1997); por otra parte, los productores no están organizados y carecen de la implementación de buenas prácticas agrícolas que le permitan ingresar a nuevos mercados (Valdés *et al.*, 2007).

### **1.3. VIROSIS EN CHILE**

Las enfermedades virales con frecuencia ocasionan pérdidas considerables al cultivo de chile, en México se han identificado y reportado los virus jaspeado del tabaco, (TEV), virus del mosaico del tabaco (TMV), virus mosaico de la alfalfa (AMV) y virus mosaico del pepino (CMV) los cuales son transmitidos preferentemente por mosquita blanca y pulgón verde. Para evitar y disminuir la presencia de este tipo de virus es conveniente mantener el cultivo libre de insectos vectores (SAGARPA, 2012). Los daños de los virus antes citados, principalmente son en la planta, produciendo los síntomas: mosaicos o jaspeados de color amarillento que evolucionan a una clorosis difusa y distorsión del limbo foliar, deformación de la lámina foliar, enrollamiento de la hoja, acortamiento de entrenudos y aborto de flores. En los frutos los daños que generalmente se observan, están en función del virus que produce la lesión.

#### **1.3.1. Virus del mosaico de la alfalfa (AMV)**

El virus del mosaico de la alfalfa puede infectar más de 232 especies en 48 familias de plantas. Dentro de la familia de las leguminosas existen alrededor de 53 especies que son susceptibles a este virus. El AMV es transmitido por insectos y también por semilla; muchas especies de áfidos lo diseminan en forma no persistente, es decir el insecto pica una planta enferma y en cuestión de segundos lo puede transmitir a una planta sana (Edwardson y Christie, 1991), la transmisión se realiza por medio de inoculación mecánica, semilla, polen y pulgones. Pertenece a la familia Bromoviridae y al género Alfamovirus. Se encuentra constituido por partículas baciliformes de distintas longitudes, la mayor de aproximadamente 60 nm máximo con tres moléculas de ARN monocatenario de sentido positivo de 3.25, 2.25 y 1.95 kb correspondientes a ARN 1, ARN 2 y ARN 3, respectivamente. Existe un ARN 4 de 0.88 kb. Los viriones contienen un 16 % de ácido nucleico (Houwing y Jaspars, 1982).

Los cuerpos de inclusión son amorfos, granulares, pueden verse en el citoplasma y vacuolas de las células de plantas de tabaco infectadas por este virus. Algunos de los principales huéspedes son la alfalfa, papa, pimiento, tomate, apio, judía, chicharo, garbanzo y otras. Los principales síntomas causan enanismo y malformaciones con moteado y mosaico en alfalfa (Delgado y Luna, 1992), y necrosis del tubérculo de papa. En especies hortícolas causa mosaico y necrosis foliar, amarillamiento inicial o bronceado de las yemas terminales, folíolos curvados hacia abajo, necrosis de los nervios de los folíolos, manchas necróticas en hojas confluyendo hasta formar placas, los botones apicales y las hojas más jóvenes pueden llegar a necrosarse, la necrosis puede extenderse a ramas y tallo principal. También provoca ralentización del crecimiento, decoloración marrón-rojiza del floema cerca del cuello y frutos cuajados con manchas necróticas (Díaz y Moreno, 1972).

### **1.3.2. Virus del mosaico del pepino (CMV)**

El virus del mosaico del pepino (cucumber mosaic virus, CMV), miembro tipo del grupo de los Cucumovirus, presenta una gama de hospederos naturales muy amplia, afecta a más de 775 especies de 365 géneros pertenecientes a 85 familias de mono y dicotiledóneas (Blas *et al.*, 2003), principalmente a Crucíferas, Solanáceas, Compuestas, Papilionáceas y Cucurbitáceas. El síntoma más común inducido por CMV es el mosaico; sin embargo, la gravedad de la enfermedad puede variar desde no mostrar síntomas en algunos cultivos, hasta la muerte de la planta hospedera. El genoma está constituido por un ARN monocatenario lineal, el tamaño del genoma total es de 8.621 kb, dividido en tres partes de 3.389 kb, 3.035 kb y 2.197 kb. El ácido nucleico genómico fue aislado por Gould y Symons en 1977. El virus se transmite por numerosas especies de áfidos de forma no persistente, siendo los más comunes *Aphis gossypii* y *Myzus persicae* (Hamilton, 1985). En Guanajuato se ha detectado la presencia de CMV (Pérez *et al.*, 2004) y AMV en semillas y plántulas de chile habanero *Capsicum chinense* Jacq. (Tun *et al.*, 2007). Los virus presentes en la testa y endospermo pueden inactivarse durante el proceso de maduración, almacenamiento y deshidratación de la semilla,

de ahí que la transmisión por este medio está determinada por la invasión directa o indirecta del embrión y por la sobrevivencia del virus durante la formación de la semilla, almacenamiento y germinación (Johansen *et al.*, 1994).

## **1.4. CALIDAD DE SEMILLA**

La calidad de la semilla es un concepto múltiple que involucra todas aquellas características que determinan su valor para la siembra (Hampton, 2002), en donde la calidad genética, física, fisiológica y sanitaria juegan un papel importante (Copeland y McDonald, 2001), estas características se evalúan mediante pruebas serológicas, ácidos nucleicos, pruebas de germinación y viabilidad (Marín *et al.*, 2007a y b). El proceso para la obtención de semilla de alta calidad es una parte importante y costosa del componente tecnológico en la producción, por lo que debe hacerse con cuidado para garantizar la obtención del producto con la calidad requerida por el mercado (Basra, 1995), por lo tanto es de vital importancia conservar y mejorar las variedades criollas ya que representan la base fundamental de los recursos genéticos disponibles *in situ* para el mejoramiento genético de la especie a corto y mediano plazo (Luna, 2010). Las semillas deben satisfacer requisitos de alto grado de germinación, sanidad, pureza varietal y física, mínimo contenido de semillas de hierbas comunes y nocivas. Éstas normas son vigiladas para su cumplimiento por las delegaciones del Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) en todo el país o en algunas entidades donde operan oficinas de certificación particulares, autorizadas para tal función en el reglamento de la Ley sobre Producción, Certificación y Comercio de Semillas (Flores, 2004). Por lo anterior es necesario producir semilla de alta calidad y libre de virus, debido a que se constituye como la fuente primaria de diseminación y perpetuación de estos patógenos, que en combinación con la presencia de insectos vectores puede causar pérdida total de los cultivos. La semilla con óptima calidad, debe germinar rápida y uniformemente bajo diferentes condiciones ambientales, de no ser así, se deben utilizar técnicas que mejoren tales características, como el priming.

### **1.4.1. Proceso de extracción de semilla**

Cuando los primeros frutos alcancen la madurez fisiológica (cambio de coloración a rojo, café, anaranjado u otro color según la variedad) es el momento de

seleccionar y marcar definitivamente las plantas típicas o representativas de la variedad que se desea producir. En cada planta seleccionada deben cortar los frutos en madurez fisiológica y que provengan de plantas sanas y vigorosas. Por regla general, los frutos que maduran primero producen la semilla de mayor calidad (viable, vigorosa y bien desarrollada). Debe evitarse la cosecha de frutos arrugados, descoloridos, inmaduros y/o muy pequeños, ya que estos defectos generalmente resultan en semillas de mala calidad, mal desarrolladas, con baja germinación y de poco vigor (Luna, 2010)

Para la extracción de semillas a gran escala los frutos se cortan y se maceran con máquinas y equipos especiales para procesar grandes volúmenes en húmedo. Dicho macerado se vierte en cedazos rotativos donde se separa la semilla de los fragmentos del fruto, misma que se lavará con agua corriente para separarla de la pulpa, residuos de pedúnculo, y otros fragmentos del fruto y placenta.

Para la extracción de semilla a pequeña escala (desde algunos gramos hasta varios kilogramos), existen varios métodos artesanales. La extracción y desemillado manual de placentas en seco consiste en lavar y secar los frutos antes de remover las placentas, estas se dejan secar con todo y semillas antes del desemillado, el cual se realizará de manera manual (Luna, 2010).

La extracción y desemillado manual de placentas en agua puede hacerse con o sin fermentación. En ambos casos deben lavarse bien los frutos antes de remover las placentas que se extraen en un recipiente con agua limpia usando una navaja o cuchillo desinfectado. El desemillado se hace directamente en el agua usando un cedazo para coleccionar y retener las semillas. Después de la extracción, la semilla se lava varias veces con agua limpia antes de iniciar el secado (Luna, 2010).

La fermentación se induce dejando las semillas con sus placentas y residuos de pulpa en el agua durante un lapso de 24 a 72 horas. Esta condición promueve la fermentación alcohólica con la cual se busca eliminar patógenos y contaminantes de la semilla. Una vez alcanzada la fermentación, la semilla se enjuaga varias veces en agua limpia y posteriormente se inicia el proceso de secado. En ambos casos se extraen las semillas en forma manual.

Después que las semillas han sido cosechadas y desinfectadas, deben secarse para garantizar la mejor germinación y vigor extendiéndolas sobre una malla o papel absorbente a 25 °C y 40 % de humedad relativa durante una semana. Los lotes de semilla pueden secarse en menor tiempo utilizando equipos de secado como hornos secadores y dependerá principalmente del volumen de semilla que se desea procesar, de los recursos y tiempo disponible (Luna, 2010).

#### **1.4.2. Calidad física, sanitaria, genética y fisiológica**

La calidad física involucra diferentes características físicas que indican el grado de contaminación del lote, lo que refleja las condiciones de producción de campo y la eficiencia de la cosecha. Además muestra la efectividad en algunos procesos de acondicionamiento (Flores, 2004). Las características físicas que comúnmente se determinan son el contenido de humedad, la pureza y el tamaño de la semilla, este último se determina por el peso volumétrico y peso de 100 semillas.

La calidad sanitaria es la condición de la semilla en relación con la presencia de microorganismos patógenos (hongos, bacterias, virus, nematodos, etc.), los cuales pueden acompañar a la semilla asociados a la superficie de la misma (capas de esporas de hongos de almacén) o portados internamente. Como los componentes anteriores, también las condiciones de producción en campo influyen en la sanidad de la semilla por lo que el control sobre la elección de la región de producción y de medidas preventivas contra el ataque de plagas y enfermedades debe practicarse desde el inicio de la programación del cultivo y conservarse en el proceso de acondicionamiento.

La calidad genética es el resultado del trabajo de fitomejoramiento y le confiere un valor agronómico a la variedad que se expresa en mayor rendimiento, mayor resistencias a plagas y enfermedades, mayor uniformidad, mayor rango de adaptación, calidad específica en sus productos (Flores, 2004).

La calidad fisiológica es lo que hace a una semilla ser una unidad biológica o unidad de reproducción, esto es que sea viable, que tenga capacidad de germinación y eficiente establecimiento en campo (Flores, 2004). Las pruebas utilizadas para evaluar la calidad fisiológica son: germinación, viabilidad y vigor. La germinación tiene que ver con el porcentaje de semilla pura que produce plántulas normales en el laboratorio e indica el potencial de un lote de semillas para establecer plántulas en condiciones favorables de campo. La viabilidad mide la capacidad de la semilla para germinar y producir plántulas normales. Se utiliza comúnmente para su determinación las sales de tetrazolium, que tiene la característica de reaccionar con tejido vivo (metabolismo activo) de la semilla; y el vigor considera la emergencia y el establecimiento en campo bajo condiciones desfavorables. Mediante las pruebas de vigor se pretende medir el potencial de desarrollo y crecimiento de lotes de semilla en condición estándar de estrés recomendadas al cultivo; entre estas pruebas se tiene la prueba fría, envejecimiento acelerado y otras, las que en ciertos casos estimen también el potencial de almacenamiento de semilla.

### **1.4.3. Termoterapia**

El tratamiento de los materiales de siembra con calor es un método empleado desde hace un siglo, el objetivo desde entonces fue el control de enfermedades, y se ha demostrado la eficacia contra diversos microorganismos patógenos. La termoterapia consiste en el tratamiento térmico de partes de la planta en regímenes de temperatura y tiempo que matan el patógeno y que sólo son ligeramente perjudiciales para el anfitrión. El calor se aplica principalmente por el agua, el aire o vapor (Grondeau *et al.*, 1994). Entre la variedad de partes de la

planta que se pueden tratar con calor suelen ser almácigos, vástagos, vitroplantas, tallos, esquejes, brotes, meristemos, flores, semillas, bulbos, tubérculos, bulbos, o las frutas y hortalizas de almacén. Los microorganismos patógenos de destino son principalmente los hongos, virus y bacterias. Muchos estudios muestran el éxito de la reducción de las enfermedades por el calor. La termoterapia es una técnica utilizada para la desinfección de semillas, sobre todo de hortalizas, siendo altamente recomendada para tomates y pimientos, y su objetivo principal es la eliminación de los virus transmitidos por semilla. El control de varios organismos fitopatógenos ha sido satisfactorio en varias enfermedades bacterianas de tomate, tabaco, arroz, cebada, pepino, calabaza y algodón, principalmente causado por los géneros *Xanthomonas* y *Pseudomonas*.

La termoterapia es más difícil de utilizar en semillas de legumbres, como chícharo, frijol, o soya, debido a la disminución significativa de la germinación. El éxito de la termoterapia se puede mejorar por combinación con los productos químicos en la etapa de semilla, por aerosoles durante el crecimiento de la planta, o mediante la sustitución de agua con líquidos no acuosos (Grondeau *et al.*, 1994). Durante la termoterapia, la semilla es colocada en el interior de una incubadora que le proporciona temperaturas que superan el punto de inactivación térmica de los virus, sin embargo la calidad fisiológica es afectada al reducirse de manera drástica los porcentajes de germinación de ahí el inconveniente de utilizar esta alternativa (Castillo *et al.*, 2003). En un estudio realizado por Jianjun *et al.* (2009) con semilla triploide de sandía, para erradicar *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, el agente causal de la mancha bacteriana del fruto, sólo el uso de agua electrolizada ácida durante 30 min erradicó el patógeno a partir de semillas sin reducir la germinación de semillas o establecimiento de las plántulas. Tratamiento con Clorox<sup>®</sup> a 50 °C durante 20 min, Tsunami 100<sup>®</sup> durante 30 min, o acetato cúprico acidificada a 50 °C durante 20 min erradicó el patógeno, sin embargo, redujo el porcentaje de germinación y el establecimiento de plántulas. Aveling *et al.* (1993) probaron la eficacia de distintos métodos de desinfección de semilla de cebolla,

como la termoterapia y los tratamientos con tiram o hipoclorito sódico, señalando que el más efectivo era la termoterapia.

A todo lo anterior debemos tener conocimientos previos sobre los productos químicos eficaces para controlar una enfermedad, el tratamiento de semillas con calor puede ser de gran interés, sin embargo el método requiere estudios para determinar el tipo más apropiado de calor para emplearlo en semilla, ya que resulta ser una estructura sensible y la combinación óptima de tiempo y temperatura de exposición a utilizar determinará la eficiencia provocando el menor daño.

#### **1.4.4. Acondicionamiento osmótico (priming)**

El priming se ha reportado como un método eficaz para mejorar la calidad fisiológica de la semilla a través de la uniformidad y porcentaje de germinación (Parera y Cantliffe, 1994). Una tecnología de semillas tales como el priming se ha desarrollado y utilizado ampliamente para mejorar la germinación y emergencia de las plántulas en una amplia gama de especies de cultivos (McDonald, 2000). El preacondicionamiento hídrico es el método más simple para hidratar las semillas y para minimizar el uso de materiales químicos (McDonald, 1999), este consiste en remojar las semillas en agua pura, mientras que el priming u osmoacondicionamiento es un tratamiento de presembrado, el cual consiste en la incubación de las semillas en una solución osmótica (Pill, 1995), un ejemplo es el empleo de polietilenglicol comúnmente utilizado por su fácil disponibilidad y su nula reacción fisiológica con semillas. El priming osmótico en semilla antes de la siembra acelera la germinación (Heydecker *et al.*, 1973). Los dos tipos de priming anteriormente mencionados proporcionan una hidratación controlada en las semillas a un nivel que permite la actividad metabólica de pregerminación, pero impide la aparición de la radícula después del priming (Bradford, 1986). Por lo tanto, las semillas tratadas antes de la siembra germinan más rápido que los testigos. Trabajos anteriores en otros cultivos mencionan que el sumergir las semillas con una solución de 0.2 % o 0.5 % de  $\text{KNO}_3$  durante 72 h incrementó la

germinación de *Paspalum vaginatum* Swartz de 34.3 % a 68.0 % bajo condiciones de temperatura de 25-35 °C (Shim *et al.*, 2008). Ali *et al.* (2012) no obtuvieron ningún incremento significativo en la germinación de semillas de níspero con una temperatura de remojo de  $24 \pm 2$  °C utilizando 0.5 % de KNO<sub>3</sub>, seguido de un remojo a  $24 \pm 2$  °C, y posterior aplicación de 250 mg L<sup>-1</sup> de GA<sub>3</sub>. Lo anterior indica que debemos buscar las condiciones, reactivos, hormonas, fertilizantes y cantidades idóneas para obtener un porcentaje de germinación óptimo.

En conclusión, es necesario inactivar los virus transmitidos por semilla en *Capsicum annumm* L., sin perder su calidad fisiológica; debido a que la transmisión por esta vía se constituye como la fuente primaria de diseminación y perpetuación de estos patógenos, que en combinación con la presencia de insectos vectores puede causar pérdida total de los cultivos, sobre todo porque en la actualidad ninguna empresa ofrece semilla libre de virus, aunado a que no se cuenta con variedades resistentes.

## 1.5. BIBLIOGRAFÍA

- Ali, S.G, R.Y. Ali, K. Mehdi, J. Neda, and F. Rozbeh. 2012. Effects of soaking temperature, stratification, potassium nitrate and gibberellic acid on seed germination of loquat trees. *J. of Plant Nutrition* 35:11.
- Aveling, T.A.S., H.G. Snyman, and S.P. Naude. 1993. Evaluation of seed treatments for reducing *Alternaria porri* and *Stemphylium vesicarium* on onion seed. *Plant Disease* 77:1009-1011.
- Basra, A.S. 1995. *Seed Quality: Basic Mechanisms and Agricultural Implications*. Food Products Press. New York, United States of America. 389 p.
- Blas D.B., G. Carazo, S. Castro y J. Romero. 1993. Estudios epidemiológicos sobre el virus del mosaico del pepino en diferentes cultivos y provincias españolas: identificación serológica de los subgrupos DTL y ToRS. *Bol. San. Veg. Plagas* 19:345-353.
- Bradford, K.J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *Hort Science* 21:1105-1112.
- Castillo, R., Gómez, A. y Garcés, F. 2003. Multiplicación masiva de semilla sana en variedades de caña de azúcar mediante cultivo de tejidos vegetales. *Publicación Técnica No 1. CINCAE. El Triunfo, Ecuador.* 10 p.
- Copeland, L.O. and M.B. McDonald. 2001. *Principles of Seed Science and Technology*. Cuarta edición. Kluwer Press. New York, USA. 488 p.
- De la Cruz, T.D.J., V.M. Sandoval, E.L. Zúñiga, R.J.A. Santiago y P.R. Díaz. 2009. Correlación entre área foliar y la producción de materia seca de chile poblano (*Capsicum annuum* L.). *Memorias de sexta convención mundial del chile. Mérida Yucatán, México.* 263-274 pp.
- Delgado E., I. y L. Luna. 1992. Incidencia de las virosis mosaico y "enations" en plantas aisladas de alfalfa. *Pastos* 22: 85-92.
- Díaz-Ruiz, J.R. y R. Moreno. 1972. Características sintomatológicas, morfológicas y ultraestructurales de una raza del virus mosaico de la alfalfa encontrada en España. *Microbiología Española* 25: 125-140.

- Edwardson, J.R. and R.G. Christie. 1991. Handbook of Viruses Infecting Legumes. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA. 504 p.
- FAO. 2012. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Revisado: 26 de enero 2016.
- Flores, H.A. 2004. Introducción a la Tecnología de las Semillas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 160 p
- Grondeau, C., R. Samson, and D. Sands. 1994. A Review of thermotherapy to free plant materials from pathogens, especially seeds from bacteria. J. of Critical Reviews in Plant Sciences 13: 57-75.
- Hampton, J. G. 2002. What is seed quality. Seed Sci. and Technol. 30:1-10.
- Hamilton, R.I. 1985. Virus transmission. In: The Plant Viruses, vol I (R.I.B. Francki ed.). Plenum Press. Pp.245-267.
- Heydecker, W., J. Higgins, and R.L. Gulliver. 1973. Accelerated germination by osmotic seed treatment. Nature 246:42-44.
- Houwing, C.J. and E.M.J. Jaspars. 1982. Biochemistry 21: 3408.
- Huerta de la Peña, A., R.S. Fernández y F.I. Ocampo. 2007. Chile poblano importancia económica y sociocultural. Colegio de Postgraduados Campus Puebla.
- Hull, R. 2002. Matthew's Plant Virology. Academic Press Inc, London UK. 1001 p.
- Jianjun F., L. Jianqiang, R. Parmjit, B. Morris, and W. Schaadc. 2009. Evaluation of seed treatments for the eradication of *Acidovorax avenae subsp. citrulli* from melon and watermelon seeds. Canadian Journal of Plant Pathology 31:180-185.
- Johansen, E.M.C., R. Edwards, and O. Hampton. 1994. Seed transmission of viruses: Current perspectives. Annual Review of Phytopathology 32:363-386.
- Lara, G.C., H.A. Lara, M.J.J. Avelar, M.A.G. Bravo, J. Llamas y M.C. Hernández. 2010. Respuestas del chile Puya (*Capsicum annuum* L.) a las aplicaciones de bacterias (*Azospirillum brasilense*) y Micorrizas (*Glomus intraradices*). En: Memorias de la séptima convención mundial del chile. 150-157 pp.

- Luna, F.M. y G.G. Galindo. 1997. La agricultura de Zacatecas, un estado mexicano. *Agrociencia* 1:77-70.
- Luna, R.J.J. 2010. Producción, Conservación y Evaluación de Semilla de Chile (Manual para Productores). Universidad Autónoma de Aguascalientes y Fundación Produce.
- Marín S., J., J.A. Mejía C., L. Hernández, A. Carballo C., A. Peña L. 2007a. Acondicionamiento osmótico de semillas de cebolla (*Allium cepa* L.). *Agricultura Técnica en México* 33:63-71.
- Marín S., J., J.A. Mejía C., L. Hernández, A., A. Peña L. y A. Carballo C. 2007b. Acondicionamiento osmótico de semillas de tomate de cáscara. *Agricultura Técnica en México* 33: 115-123.
- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science and Technology* 27:177–237.
- McDonald, M.B. 2000. Seed priming. In: *Seed Technology and Its Biological Basis*. M. Black and J.D. Bewley eds. Sheffield Academic Press. Pp. 287–325.
- Parera, A.C. and D.J. Cantliffe. 1994. Pre sowing seed priming. *Horticultural Review* 16:109-141.
- Pérez M., L, J.E. Rico, J.R. Sánchez P., J.T. Ascencio I., R. Díaz P. y R.F. Rivera. 2004. Identificación de virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:187-197.
- Pill, W.G. 1995. Low water potential and pre-sowing germination treatments to improve seed quality. In: *Seed Quality*. A.S. Basra (ed.) Food Products Press, New York. Pp. 319–359.
- Ramiro, C.A., B.C. Delgadillo y J.A. Hernández A. 2009. AM-VR X AM-97-45-21 y AM-98-30014 X AM 97-54-23: Nuevos híbridos experimentos de chile mulato. *Memorias de la sexta convención mundial del chile*. Pp 2-8.
- Shim, S., J.C. Moon, C.S. Jang, P. Raymer, and K. Wook. 2008. Effect of potassium nitrate priming on seed germination of seashore paspalum. *HortScience* 7:2259-2262.

- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2014. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), México. <http://siap.gob.mx>. Revisado: 26 de enero 2016.
- Tun, S.J.M., M.E. Zavaleta, D.L. Ochoa M., G.P. Sánchez, H.M. Soto, y J.C. Alejo. 2007. Incidencia del virus mosaico de la alfalfa en semillas y plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* jacq.) en Yucatán, México. *Fitosanidad* 11:11-14.
- Valdéz, M.S., O.A. Ruiz, V.M. Flores y O.R. Cervantes. 2007. Cuantificación del contenido de aflotoxinas en algunas variedades de chiles secos (guajillo, ancho, pasilla y piquín). *Memorias de cuarta convención mundial del chile* 171p.

**CAPITULO 2.**  
**INCREMENTO DE LA CALIDAD SANITARIA Y FISIOLÓGICA EN SEMILLA DE**  
**CHILE POBLANO (*Capsicum annumm* L.)**

**RESUMEN**

En el presente trabajo se aplicó termoterapia a semillas de chile poblano para inactivar los virus AMV y CMV seguido de un acondicionamiento osmótico. Después de aplicar los tratamientos, las semillas fueron sembradas en un invernadero libre de insectos vectores y se realizó la detección de virus en las plántulas obtenidas. Los resultados indicaron que la aplicación de termoterapia a 90 °C durante 120 min seguido de un acondicionamiento osmótico a -2.02 MPa con KNO<sub>3</sub> durante 48 horas, ocasionaron un mayor porcentaje de germinación, 42 %, comparado con un 12 % en el tratamiento control sin aplicación de KNO<sub>3</sub>, demostrando así la mala calidad fisiológica de la semilla, la cual fue producida por agricultores locales, y tampoco cumplió con las normas establecidas por el SNICS. La aplicación de termoterapia a semilla en valores de 50 °C durante 60 min, 90 °C durante 90 min y 90 °C durante 120 min, logró inactivar los virus AMV y CMV, obteniéndose plantas libres de estos fitopatógenos.

**Palabras claves:** *Termoterapia, acondicionamiento osmótico, AMV, CMV, porcentaje de germinación*

## SUMMARY

In this work thermotherapy and priming was applied to chili pepper seeds to inactivate the AMV and CMV viruses. After these treatments the seeds were sown in a greenhouse free of vectors insects, and virus detection test was performed on seedlings. The results indicated that applying thermotherapy to 90 °C for 120 min and priming at -2.02 MPa with KNO<sub>3</sub> during 48 hours, displayed 42 % of germination versus 12 % of the control without application of priming, showing the poor physiological quality of farmers' seed, which also does not reach the standards set by the SNICS. Thermotherapy applied in the seed with values of 50 °C for 60 min, 90 °C for 90 min, and 90 °C during 120 min, were able to inactivate both viruses AMV and CMV obtaining viruses free plants.

**Key words:** *Thermotherapy, priming, AMV, CMV and percentage of germination*

## 2.1. INTRODUCCIÓN

México es considerado como centro de origen, domesticación y diversidad de *Capsicum annuum* L. (Luna, 2010); la producción de este cultivo ocupa el 8° lugar a nivel nacional y el 2° a nivel mundial (FAO, 2012). Para el año 2012 se reportaron 13,678.02 has sembradas en México (SIAP, 2014), algunas de ellas afectadas por la presencia de enfermedades virales, las que constituyen uno de los factores de mayor riesgo en la producción ocasionando fuertes pérdidas económicas, siendo estas de hasta el 100 % de pérdidas en la producción. En Guanajuato se ha detectado la presencia de CMV (Pérez *et al.*, 2004), y el AMV se ha reportado en semillas y plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) en Yucatán (Tun *et al.*, 2007).

La obtención de semilla de alta calidad es de vital importancia para conservar y mejorar las variedades criollas ya que representan la base fundamental de los recursos genéticos disponibles in situ para el mejoramiento genético de la especie a corto y mediano plazo (Luna, 2010). Las semillas deben satisfacer ciertas normas, las cuales son vigiladas para su cumplimiento por el Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS). La transmisión de virus por semilla es un punto de partida idóneo para el establecimiento y desarrollo epidémico de una enfermedad viral en campo; ya que constituyen reservorios de virus y focos de dispersión secundaria de la enfermedad, bien sea de manera mecánica o por vectores (Córdoba, 2010).

La termoterapia consiste en aplicar temperaturas que superan el punto de inactivación térmica de los virus, sin embargo la calidad fisiológica es afectada al reducirse de manera drástica los porcentajes de germinación, de ahí el inconveniente de utilizar esta alternativa, sin embargo en la actualidad hay técnicas que logran incrementar la calidad fisiológica de las semillas, como el acondicionamiento osmótico.

Por lo anterior es necesario producir semilla de chile de alta calidad y libre de virus, con germinación rápida y uniforme bajo diferentes condiciones ambientales, por ello se deben utilizar técnicas que mejoren características como el acondicionamiento osmótico y la termoterapia. El objetivo del presente trabajo fue producir semilla de chile poblano (*C. annuum*) de buena calidad sanitaria y fisiológica mediante la inactivación de los virus AMV y CMV con termoterapia, y posteriormente reparar y mejorar su calidad fisiológica mediante acondicionamiento osmótico.

## **2.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.2.1. Localización del Experimento**

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología y en el invernadero de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Ejido palma de la Cruz Km. 14.5, Soledad de Graciano Sánchez, San Luis Potosí, a 100°56' de longitud oeste y 22°11' de latitud norte, con una altura de 1,850 metros sobre el nivel del mar.

### **2.2.2. Desarrollo del experimento**

Esta investigación comprende cuatro fases, la primera consistió en realizar pruebas de calidad fisiológica a semillas producidas por los agricultores de Moctezuma y Villa de Arista, S.L.P. En la segunda fase se aplicó termoterapia a las semillas de chile poblano con el propósito de inactivar los virus AMV y CMV; luego se utilizó la técnica de acondicionamiento osmótico para regenerar las estructuras que fueron dañadas por las elevadas temperaturas utilizadas durante la fase anterior. Finalmente, se realizaron pruebas de calidad fisiológica y sanitaria para determinar la calidad de las semillas y plantas, estimando los porcentajes de germinación e incidencia de los virus AMV y CMV.

**2.2.2.1. Pruebas de calidad fisiológica inicial.** Se determinó la calidad fisiológica de la semilla de chile poblano criollo producida por los agricultores de Moctezuma y Villa de Arista, S.L.P. Para tal efecto, se formó un compuesto balanceado con semilla obtenida de ambos municipios y se emplearon 400 semillas colocadas en grupos de 25, en cajas de Petri que contenían papel filtro como sustrato, se regaron con agua destilada, y se colocaron en una cámara de germinación Seedburo® calibrada a 29 °C ± 1 °C. Durante esta prueba de germinación se realizaron dos conteos; el primero se tomó al 7° día y el segundo al día 14. Las variables evaluadas fueron porcentaje de plántulas normales y anormales, y sobre aquellas semillas que no emitieron radícula al finalizar este período de tiempo, se realizó la prueba de viabilidad con tetrazolio para determinar el porcentaje de

semillas muertas y latentes; el proceso consistió en realizar un corte transversal en cada semilla y se colocaron en cajas Petri en una solución de tetrazolio a una concentración de 0.1 % con agua destilada, las cuales se mantuvieron en oscuridad durante 12 horas, las semillas cuyos embriones y cotiledones coloreados por completo se consideraron latentes, y las no teñidas se consideraron muertas (ISTA, 2004).

**2.2.2.2. Termoterapia y acondicionamiento osmótico.** Durante la segunda y tercera fase se aplicó termoterapia y priming sobre un grupo de semillas también extraído del compuesto balanceado conformado por semilla producida en Moctezuma y Villa de Arista, S.L.P. La termoterapia consistió en someter las semillas de chile poblano criollo a 3 temperaturas (50 °C, 90 °C y 120 °C) durante 3 períodos de tiempo (60, 90 y 120 min) en un horno de secado Felisa<sup>®</sup>, para inactivar los virus transmitidos por esta vía y mejorar la calidad sanitaria (Cuadro 1). Una vez finalizada la termoterapia, se aplicó el tratamiento de osmoacondicionamiento o priming, que consistió en sumergir las semillas en soluciones de KNO<sub>3</sub> a -1.01 y -2.02 MPa de presión durante 48 horas en frascos de 25 ml, empleando una bomba de aire para oxigenar las semillas, al término del tiempo se lavaron con agua corriente para eliminar los residuos de los agentes utilizados durante el tratamiento, además se incluyó un testigo absoluto, mismo que no recibió termoterapia, ni priming.

**Cuadro 1. Tratamientos de termoterapia y priming empleados en semilla de chile para la inactivación de los virus AMV y CMV.**

Tratamiento	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Presión osmótica (MPa)
1-3	50	60	0, -1.01 y -2.02
4-6	50	90	0, -1.01 y -2.02
7-9	50	120	0, -1.01 y -2.02
10-12	90	60	0, -1.01 y -2.02
13-15	90	90	0, -1.01 y -2.02
16-18	90	120	0, -1.01 y -2.02
19-21	120	60	0, -1.01 y -2.02
22-24	120	90	0, -1.01 y -2.02
25-27	120	120	0, -1.01 y -2.02
28-29 Testigos	---	---	-1.01 y -2.02
30 Testigo absolu	---	---	0

El cálculo de los potenciales osmóticos se realizó mediante la ecuación propuesta por Wiggans y Gardner (1959).

$$G = (P \cdot V \cdot m) / (R \cdot T)$$

Donde:

G= Gramos de soluto

P= Presión osmótica deseada

V= Volumen en litros

m= Peso molecular del soluto

R= Constante de los gases ideales,  $8.25 \times 10^{-2} \text{ atm K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$

T= Temperatura a la que se prepara la solución (°K).

**2.2.2.3. Pruebas de calidad fisiológica y sanitaria.** Después de aplicar la termoterapia y priming, se realizaron pruebas de calidad fisiológica para lo cual se emplearon 100 semillas de cada uno de los tratamientos generados de la

combinación de termoterapia más osmocondicionamiento, además del testigo absoluto, llevando a cabo el protocolo sugerido por el ISTA (2004).

Las variables evaluadas fueron peso seco por plántula y porcentaje de plántulas normales. Paralelo a las pruebas de germinación, se sembraron cinco semillas de cada tratamiento las cuales fueron confinadas para impedir el acceso de insectos vectores (áfidos) colocadas en el interior de un invernadero. Al término de la termoterapia y priming, y 60 días después de emergidas las plantas se tomaron muestras de tejido vegetal de cada una de ellas y se realizó la detección de los virus AMV y CMV, para lo cual cada muestra se maceró en forma individual en 2 ml de amortiguador de extracción, para la detección de virus mediante la prueba de ELISA con antisueros comerciales y fosfatasa alcalina. Los valores de absorbancia de cada muestra se registraran en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 405 nm. La reacción se consideró positiva cuando la lectura fue mayor al triple del promedio de los controles negativos (Sutula *et al.*, 1986).

### **2.2.3. Diseño experimental**

El diseño experimental para las pruebas de calidad fisiológica fue completamente al azar. Para ello se establecieron 100 semillas por cada tratamiento de termoterapia con 4 repeticiones, colocadas en grupos de 25 en cajas de Petri. Para el empleo de la técnica de priming se establecieron 3 tratamientos de 400 semillas cada uno con 4 repeticiones. Con los datos obtenidos se realizaron análisis de varianza y posteriormente una comparación de medias mediante la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS) o la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) con el paquete estadístico SAS (2004).

### 2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos en las prueba de calidad fisiológica inicial, la semilla de chile poblano criollo producida por los agricultores de Moctezuma y Villa de Arista, S.L.P., fue de mala calidad fisiológica, ya que el porcentaje de germinación no alcanzó el 10 % promedio de las cuatro repeticiones (Cuadro. 2), valor inferior al porcentaje mínimo (80 %) que debe poseer la semilla de acuerdo con el SNICS para este cultivo.

**Cuadro 2.** Calidad fisiológica en semilla de chile producida por agricultores de Moctezuma y Villa de Arista, S.L.P.

Repetición	Germinación (%)	Plántulas anormales	Semillas latentes (%)
1	0	0	100
2	7	1	92
3	22	7	71
4	8	2	90
Promedio	9.25	2.5	88.25

El bajo porcentaje de germinación se puede atribuir a que la cubierta de las semillas constituye una barrera impermeable al agua y a los gases, o ejercen una resistencia física a la expansión del embrión, que impide la germinación (Bewley y Black, 1994); otro factor determinante es la calidad de la semilla, grado de madurez y tiempo de maduración de la semilla después de la cosecha, el cual generalmente coincide con el inicio de cambio de coloración de los frutos (Carrillo *et al.*, 2009), por ello se deben cosechar los frutos cuando toman de una coloración rojiza-café, indicador de haber alcanzado su madurez fisiológica y la semilla su máxima calidad fisiológica, sin embargo la pigmentación que coincide con tal calidad puede variar con el genotipo, condiciones agroclimáticas y el manejo.

La calidad fisiológica de la semilla medida a través de la viabilidad, germinación y vigor, es un factor determinante en la producción (Mora *et al.*, 2004), por ello se realizó la prueba de viabilidad con tetrazolio, cuyo porcentaje de latencia en las 400 semillas fue del 91% (Cuadro. 2) esto es debido a una serie de cambios en el tiempo que afectan funciones vitales y desempeño, hasta causar su muerte (Bradford, 1986), por lo cual la calidad disminuye con el tiempo y la tasa de deterioro varía en diferentes especies y depende de las condiciones ambientales durante el almacenamiento y el tiempo que permanezcan así (Chiu *et al.*, 2002).

En la germinación de semillas de chile inciden diversos factores, destacando la necesidad de humedad y aireación, así como un rango térmico entre 20 y 30 °C (ISTA, 2004), donde la germinación es más rápida a esta última temperatura, mientras que a temperaturas de 35 °C o mayores ya no hay germinación. La presencia o ausencia de luz no es un factor para la germinación (Bosland y Votava, 2000), las semillas son estructuras complejas y la testa resulta ser un componente de protección que controla de cierta forma la germinación (Blasiak *et al.*, 2006).

Con respecto a la segunda fase, referida a la aplicación de tratamientos de temperatura, los mayores porcentajes de germinación se obtuvieron en los tratamientos 18, 5, 12, 11, 29 y 28; mientras que los tratamientos 19, 21, 22, 23, 24, 25 y 26 mostraron 0 % de germinación. Esto es debido a que las semillas estuvieron expuestas a una temperatura de 120 °C comparadas con las primeras entre 50 °C y 90 °C a diferentes intervalos de tiempo (Cuadro 3). Paylan *et al.* (2014) obtuvieron una disminución del 12 % al 27 % en la carga viral de CMV en semillas de chile y otras hortalizas, al ser expuestas a altas temperaturas. Sin embargo también observaron daños en la semilla causando un bajo porcentaje de germinación. Ling (2010) empleó tratamientos térmicos a 48 °C y 80 °C durante 72 horas, lo cual resultó efectivo para reducir la infección de virus del mosaico del pepino dulce (PepMV) sin perjudicar la germinación. En otro estudio se aplicó tanto a semillas como a plántulas una temperatura de 80 °C por 24 horas y 74 °C

durante 40 horas, logrando con ello eliminar el PepMV en plántulas pero no en semillas, no afectando el porcentaje de germinación (Córdoba *et al.*, 2010).

**Cuadro 3. Porcentajes de germinación y peso seco de plántulas de chile procedentes de semillas sometidas a termoterapia y osmocondicionamiento.**

Trata.	Temp. (°C)	Tiempo (min)	Presión (MPa)	Germinación (%)	Peso seco (mg)
18	90	120	-2.02	42 a	30.7 a b
5	50	90	-1.01	40 a b	32.5 a
12	90	60	-2.02	38 a b	29.1 a b c
11	90	60	-1.01	36 b c	22.4 a b c d e f
29	-		-2.02	36 b c	26.1 a b c d
28	-		-1.01	36 b c	8.4 d e f g
17	90	120	-1.01	36 b c	31.5 a
9	50	120	-2.02	32 c	11.0 b c d e f g
4	50	90	0	24 d	9.4 c d e f g
6	50	90	-2.02	22 d e	19.6 a b c d e f g
14	90	90	-1.01	22 d e	13.9 a b c d e f g
3	50	60	-2.02	20 d e f	24.0 a b c d e
2	50	60	-1.01	20 d e f	22.3 a b c d e f
8	50	120	-1.01	18 e f	17.4 a b c d e f g
10	90	60	0	18 e f	8.9 c d e f g
20	120	60	-1.01	16 f g	0.0 g
16	90	120	0	16 f g	20.2 a b c d e f
30	-	-	-	12 g h	2.8 f g
7	50	120	-	10 h i	13.3 a b c d e f g
15	90	90	-2.02	8 h i j	14.2 a b c d e f g
1	50	60	-	8 h i j	11.2 b c d e f g
13	90	90	-	6 i j	13.5 a b c d e f g
27	120	120	-2.02	4 j k	0.0 g
26	120	120	-1.01	0 k	0.0 g
21	120	60	-2.02	0 k	0.0 g
22	120	60	-	0 k	0.0 g
25	120	120	-	0 k	0.0 g
19	120	60	-	0 k	0.0 g
23	120	90	-1.01	0 k	0.0 g
24	120	90	-2.02	0 k	4.2 f g
DMS	0.05			4.5575	20.2

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente ( $\alpha=0.05$ )

DMS: Diferencia mínima significativa

El tratamiento 18 mostró el mayor porcentaje de germinación con un 42 %, lo que indica que la semilla a pesar de haber sido dañada por la termoterapia

aplicada de 90°C durante 120 min fue regenerada por el priming u osmoacondicionamiento con KNO<sub>3</sub> a -2.02 MPa; este tratamiento es promisorio para mejorar la germinación de las semillas, especialmente en las hortalizas (Bittencourt *et al.*, 2004).

Otro buen tratamiento resultó el cinco (50 °C durante 90 min, osmoacondicionada a -1.01 MPa seguido del tratamiento 12 (90 °C 60 min a -2.02 MPa); estos tratamientos resultaron ser buenas alternativas para mejorar la calidad fisiológica en semillas que han recibido termoterapia para inactivar virus transmitidos por esta vía, ya que los porcentajes de germinación se lograron incrementar hasta en un 30 %.

El incremento en la uniformidad y porcentaje de germinación obtenido en la mayoría de los tratamientos, es debido a que el priming regula la velocidad de entrada de agua a la semilla, lo cual permite regeneración de membranas y paredes celulares en semillas dañadas, por lo tanto este gradiente afecta la cinética de la inhibición (Parera y Cantliffe, 1994), y con ello el potencial hídrico en semillas al permitir el paso del agua al embrión a través de las paredes celulares de la cubierta seminal, siempre a favor de un gradiente de potencial hídrico (Camacho, 1994), por lo que a una concentración determinada por un periodo dado; hidrata la semilla, se activa su metabolismo en forma controlada, de tal manera que la germinación no ocurre (Bradford, 1986); con este proceso se logró activación del metabolismo, incremento de la respiración, degradación de tejidos de reserva y asimilación, crecimiento del embrión, inhibición, elongación de células y emergencia de la radícula (López, 2005), sin que ocurriera la protrusión de ésta, ya que de haber ocurrido durante el priming el embrión habría muerto debido a la entrada de iones del agente químico utilizado en esta investigación, KNO<sub>3</sub> (Mora *et al.*, 2004; Parera y Cantliffe, 1994).

Se demostró un aumento en los porcentajes de germinación en semillas osmoacondicionadas con respecto a las semillas sin este tratamiento. Por otra

parte, las semillas osmoacondicionadas post-termoterapia, mostraron mayor calidad fisiológica, ya que se logró reparar el daño provocado por las altas temperaturas (Parera y Cantliffe, 1994) a las cuales fueron sometidas durante la termoterapia para inactivar los virus AMV y CMV.

Los efectos del priming (reparación del ADN y ARN dañados, preparación para la división celular y el aumento de la actividad antioxidante) están involucrados en los resultados del tratamiento en una medida que no está totalmente comprobado en la literatura (Girolamo y Barbanti, 2012). Por ello resulta importante realizar pruebas de calidad fisiológica y sanitaria. Estas pruebas son necesarias, ya que además de producir semilla libre de virus, se debe obtener semilla de calidad que aumente la producción en campo con menor cantidad de semilla, obtener una mayor tolerancia a la desecación, mayor movilidad de sustancias de reserva y la habilidad de programar la fase de germinación en el momento con mejores condiciones ambientales; son factores en la sobrevivencia de muchas especies (Ayala, 2012).

Los análisis de varianza mostraron que los tratamientos de termoterapia y priming tuvieron efectos sobre la calidad fisiológica de la semilla de chile poblano (datos no mostrados), al presentarse diferencias estadísticas en las variables porcentaje de germinación y porcentajes de plántulas libres de los virus AMV y CMV. Los coeficientes de variación en todas las variables evaluadas fueron bajos (15 %), lo cual denota homogeneidad de datos y confiabilidad en los resultados.

La calidad de la semilla comprende varios atributos deseables como su capacidad de establecerse en campo, su poder de germinación y vigor apropiado (Basra, 1995). Kmetz-Gonzalez y Struve (2000) mencionaron que el priming de las semillas generalmente incrementa el porcentaje final de germinación, lo cual ocurrió en este trabajo de investigación, ya que la semilla así tratada supera estadísticamente al porcentaje de germinación del testigo absoluto cuyo valor promedio fué del 36 %, mientras que semillas sometidas a la temperatura de 90 °C

durante 120 min y priming de -2.02 MPa (tratamiento 18), alcanzaron el 42 % de germinación. El tratamiento 18 logró inactivar los virus AMV y CMV, además de generar el mayor porcentaje de germinación con un 42 % y peso seco (Cuadro 3), lo que indica que la semilla a pesar de haber sido dañada por la termoterapia fue regenerada por el osmoacondicionamiento con  $\text{KNO}_3$  a -2.02 MPa.

Se demostró un aumento en los porcentajes de germinación en semillas sometidas a osmoacondicionamiento, respecto de las semillas control. Estas pruebas fueron necesarias, ya que además de producir semillas libre de virus, se deben obtener semillas de calidad que aumenten la producción en campo, mayor tolerancia a la desecación y movilidad de sustancias de reserva, adicionando la habilidad de programar la fase de germinación en el momento con mejores condiciones ambientales (Ayala, 2012).

Aplicar termoterapia a semilla de pimiento en valores de 50 °C 60 min, 90 °C 90 min y 90 °C 120 min logró inactivar los virus AMV y CMV (Cuadro 4). Wang *et al.* (2008) indican que existe una estrecha relación entre la temperatura y el silenciamiento de ARN que parece actuar como un medio para aumentar la degradación de ARN del virus. El osmoacondicionamiento a -2.02 MPa es de bajo costo y riesgo para la semilla, además de mejorar la uniformidad, calidad fisiológica y tolerancia de las plántulas en ambientes estresantes (Ashraf y Foolad, 2005), siendo de fácil adquisición para los productores, además de aumentar el rendimiento de los cultivos y mejorar su tolerancia al estrés abiótico (Nawaz *et al.*, 2013).

**Cuadro 4. Detección de los virus AMV y CMV en plántulas procedentes de semillas de pimiento sometidas a termoterapia y osmocondicionamiento.**

Trata.	Descripción	Detección virus en plántulas (%)		
		AMV	CMV	Libres de virus
3	50 °C/60 min	0.00 c	0.00 d	<b>100.00 a</b>
6	50 °C/90 min	56.66 b	58.33 c	56.66 b
9	50 °C/120 min	0.00 c	50.00 b c	50.00 b
12	90 °C/60 min	83.33 a	100.00 a	0.00 c
15	90 °C/90 min	0.00 c	0.00 d	<b>100.00 a</b>
18	90 °C/120 min	0.00 c	0.00 d	<b>100.00 a</b>
21	120 °C/60 min	50.00 b	50.00 b c	50.00 b
24	120 °C/90 min	83.33 a	83.83 a b	16.66 c
27	120 °C/120 min	0.00 c	43.33 c	56.66 b
Testigo	-	100.00 a	83.33 a b	0.00 c
	DMS 0.05	37.34	38.08	27.44

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente; DMS = Diferencia mínima significativa. CMV: Cucumber mosaic cucumovirus (Virus mosaico del pepino); AMV: Alfalfa mosaic alfamovirus (Virus mosaico de la alfalfa).

La incidencia de semillas infectadas con virus es un factor importante para su dispersión de una región a otra (Johansen *et al.*, 1994), ya que pueden permanecer activos de uno a cinco años (Kado y Agrawal, 1972), lo que es una estrategia para perpetuarse, incluso provocar pérdida total en la producción de chile poblano, sobre todo al considerar que los sistemas de producción de semilla en esta especie se basan en eliminar de los lotes sólo aquellas plantas que muestran síntomas de virosis (Martínez *et al.*, 2004), sin tomar en cuenta la existencia de plantas asintomáticas en alto porcentaje; de ahí que no se garantiza su sanidad, por el contrario se sigue contribuyendo a la dispersión de los virus en forma incontrolada ciclo tras ciclo en las regiones productoras.

De acuerdo con Šutić *et al.* (1999), la infección por AMV retarda el crecimiento de las plantas, reduce la floración y amarre de frutos; lo cual coincide con los daños observados en las plantas de chile poblano. En general, los virus hacen que disminuya la fotosíntesis de la planta al reducir el nivel de la clorofila por hoja, la eficacia que tiene esta molécula fotosintética y el área foliar por planta.

Comúnmente los virus disminuyen la cantidad de sustancias reguladoras del crecimiento (hormonas) de la planta, al inducir un aumento en las sustancias inhibidoras del crecimiento. La disminución de nitrógeno soluble durante la rápida síntesis del virus es un fenómeno común en las enfermedades virales de las plantas, y en el caso de los mosaicos el nivel de los carbohidratos en los tejidos de la planta disminuye en forma drástica (Agrios, 2005).

## 2.4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que la aplicación de termoterapia y osmoacondicionamiento incrementaron la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla de chile poblano, al inactivar los virus AMV y CMV e incrementar el porcentaje de germinación.

El mejor tratamiento para incrementar la calidad fisiológica y sanitaria de la semilla de chile poblano consistió en aplicar termoterapia a 90 °C durante 120 min y posterior priming con KNO<sub>3</sub> a -2.02 MPa de presión osmótica durante 48 horas, al obtener un 42 % de germinación e inactivar el AMV y el CMV, valor que supera estadísticamente al resto de los tratamientos y al testigo absoluto, cuyo porcentaje de germinación obtenido fue del 36 % y resultó infectado por ambos virus. Tres tratamientos de termoterapia, 50 °C durante 60 min, 90 °C durante 90 min y 90 °C durante 120 min a -2.02 MPa con KNO<sub>3</sub>, lograron eliminar de manera simultánea los virus AMV y CMV. Además de influir en la obtención de un 42 % de germinación.

## 2.5. BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, N.G. 2005. Fitopatología. Edit. Limusa, S.A. de C.V. México, D.F. 838 p.
- Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination growth and crop yield under saline and none-saline conditions. *Advan. Agron.* 88:223-271.
- Ayala, V.M.J. 2012. Análisis del crecimiento y calidad de semillas de tres tipos de chile (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Maestro en Ciencias. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.
- Bewley, J.D. and M. Black. 1994. *Seeds: Physiology of Development and Germination.* Plenum Press. New York. 367 p.
- Bittencourt, M.L.C., L.A.S. Dias, and E.F. Araujo. 2004. Efeito do condicionamento osmótico das sementes na germinação e no crescimento das plântulas de aspargo. *Revista Brasileira de Sementes.* 26:50-55.
- Blasiak, J., A. Kuang, C.S. Farhangi, and M.E. Musgrave. 2006. Roles of intra-fruit oxygen and carbon dioxide in controlling pepper (*Capsicum annuum* L.) seed development and storage reserve deposition. *J. of the American Society for Horticultural Science* 131:164-173.
- Bosland, P.W. and E.J. Votava. 2000. *Peppers: Vegetable and Spice Capsicums.* CABI Publishing. New York. 204 p.
- Bradford, K.J. 1986. Manipulation of seed water relations via osmotic priming to improve germination under stress conditions. *Hort Science* 21:1105-1112.
- Camacho, F. 1994. *Dormición de Semillas: Causas y Tratamientos.* Editorial Trillas. 128 p.
- Carrillo E.,P., J.A. Mejía C., A. Carballo C., G. García S., V.H. Aguilar R.y T.T. Corona. 2009. Calidad de semilla en colectas de chile de agua (*Capsicum annuum* L.) de los Valles centrales de Oaxaca, México. *Agricultura Técnica en México* 35:257-266.
- Chiu, K.Y., C.L. Chen, and J.M. Sung. 2002. Effect of priming temperature on storability of primed sh-2 sweet com seed. *Crop Science* 42:1996-2003.

- Córdoba M.C. 2010. El virus del mosaico del pepino dulce (Pepino mosaic virus) afectando al cultivo del tomate (*Solanum lycopersicum*): Caracterización y Epidemiología. 216 p. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.
- FAO. 2012. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Revisado: 20 Enero 2016.
- Flores, H.A. 2004. Introducción a la Tecnología de las Semillas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 160 p.
- Girolamo D.G and L. Barbanti. 2012. Treatment conditions and biochemical processes influencing seed priming effectiveness
- ISTA. 2004. International Rules for Seed Testing. Bassersdorf, CH-Switzerland. 700 p.
- Johansen, E.M., C. Edwards, and R.O. Hampton. 1994. Seed transmission of viruses: Current perspectives. Annual Review of Phytopathology 32:363-386.
- Kado, C.I. and H.O. Agrawal. 1972. Principles and Techniques in Plant Virology. Litton Educational Publishing, Inc. United States of America. 688 p.
- Kmetz, G.M. and D. Struve. 2000. Black gum seed conditioning increases germination: rate, seedling emergence and quality. Seed Science and Technology. 28: 49-57.
- Ling, K.S. 2010. Effectiveness of chemo- and thermotherapeutic treatments on pepino mosaic virus in tomato seed. Plant Disease 94:325-328.
- López R., G.F. 2005. Ecofisiología de Árboles. Universidad Autónoma Chapingo. 218-221 pp.
- Luna R., J.J. 2010. Producción, Conservación y Evaluación de Semilla de Chile (Manual para productores). Universidad Autónoma de Aguascalientes y Fundación Produce.
- Martínez, S.J., A. Peña L. y D.H. Montalvo. 2004. Producción y Tecnología de Semilla de Tomate de Cáscara. Universidad Autónoma Chapingo, México. 36 p.

- Mora A., R.E., J. Rodríguez, A. Peña L., y D.A. Campos. 2004. Acondicionamiento osmótico de semillas de papa (*Solanum tuberosum* L.) con soluciones salinas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10:15-21.
- Nawaz, J., M. Hussain, A. Jabbar, G.A. Nadeem, M. Sajid, and M.I. Shabbir. 2013. Seed priming a technique. *Intl. J. Agri. Crop Sci.*, 6:1373–1381.
- Parera, A.C. and D.J. Cantliffe. 1994. Presowing seed priming. *Horticultural Review* 16: 109-141.
- Paylan, I.C., S. Erkan, N. Cetinkaya, M. Ergun, and S. Pazarlar. 2014. Effects of different treatments on the inactivation of various seedborne viruses in some vegetables, *Ozone: Science & Engineering*.
- Pérez, M.L, J.E. Rico, J.R. Sánchez P., J.T. Ascencio I., P.R. Díaz, and R. Rivera B. 2004. Identificación de virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:187-197.
- SAGARPA (Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2012. Plan Rector del Sistema Producto Chile Seco.
- SAS (Statistics Applied System). 2004.
- SIAP Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2014. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), México. Página web: <http://siap.gob.mx>. Revisado: 20 Enero 2016.
- Šutić, D.D.; R.E. Ford, and M.T. Tošić. 1999. *Handbook of Plant Viruses Diseases*. Edit. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, United States of America. 553 p.
- Sutula, C.L., J.M Gillett, S.M. Morrissey, and D.C. Ramsdell. 1986. Interpreting ELISA Data and Establishing the Positive-Negative Threshold. *The Amer. Phytopathol. Soc.* 70: 722-726.
- Tun, S.J.M., M.E. Zavaleta, D.L. Ochoa M., G.P. Sánchez, H.M. Soto y J.C. Alejo. 2007. Incidencia del virus mosaico de la alfalfa en semillas y plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* jacq.) en Yucatán, México. *Fitosanidad* 11:11-14.

- Wang, Q., W.J. Cuellar, M.L. Rajamaki, and J.P.V. Hirata. 2008. Combined thermo- and cryotherapy for efficient virus eradication: relation of virus distribution, subcellular changes, cell survival and viral RNA degradation in shoot tips. *Mol Plant Pathol* 9:237–250.
- Wiggans S.C. and P.F Gardner. 1959. Effectiveness of various solutions for simulating drought conditions as measured by germination and seedling growth. *Agron. J.* 51:315-318.

**CAPÍTULO 3**  
**APLICACIÓN DE COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIVIRAL EN LA**  
**PRODUCCIÓN Y CALIDAD DE SEMILLA DE CHILE POBLANO (*Capsicum***  
***annuum* L.) EN INVERNADERO**

**RESUMEN**

Se evaluó el efecto de la aplicación del producto antiviral comercial Q-Virus<sup>®</sup>, además del ácido acetil salicílico y miel de abeja, en el crecimiento y producción de frutos y en la calidad de semillas de chile poblano (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones de invernadero. Se inocularon de forma mecánica plantas de chile poblano variedad criolla, con los virus AMV y CMV a partir de plantas infectadas, y se observó la expresión de síntomas durante 3 meses. Con la aplicación semanal de miel al 0.2 %, se obtuvieron los mejores resultados en el incremento de la altura de plantas; número, tamaño y peso de frutos, seguido por el tratamiento a base de Q-Virus<sup>®</sup> al 0.3 %. El ácido acetil salicílico en 500 ppm provocó aborto de flores y una baja producción de frutos. Las semillas obtenidas en los 3 tratamientos estuvieron libres de los virus AMV y CMV. El tratamiento con miel de abeja también influyó en una mejor calidad fisiológica de la semilla comparada con el resto de los tratamientos.

**Palabras clave:** *pimiento, AMV, CMV y antivirales.*

## SUMMARY

The objective of this study was to evaluate the effect of an antiviral commercial product Q-Virus<sup>®</sup>, acetylsalicylic acid (ASA) and honey bee, in the growth, fruit production and seed quality of “poblano” pepper (*Capsicum annuum* L.), under greenhouse conditions. We inoculated mechanically pepper plants with the viruses AMV and CMV from infected plants, and observed their behavior during three months. With weekly application of 0.2 % of honey we had the best results in the plant height increase, and number, size and weight of fruits. The second position was for the 0.3 % of Q-Virus<sup>®</sup>, while 500 ppm of ASA produce flower abortion and a reduction of fruit production. Seeds obtained with the treatments were AMV and CMV free. Honey bee treatment improve physiological quality of the seeds compared with the others treatments.

**Keywords:** *pepper, AMV, CMV and antivirals.*

### 3.1. INTRODUCCIÓN

Dos de los virus más comunes del pimiento (*Capsicum annuum* L.) son el virus del mosaico de la alfalfa (AMV) y el virus del mosaico del pepino (CMV) los cuales son confundidos habitualmente con otros agentes fitopatógenos ya que la expresión visual de sus síntomas depende en gran medida de las condiciones del medio donde se encuentren y del manejo que se le dá al cultivo. Estos virus son transmitidos a través de semillas hasta en un 69 % (Tun *et al.*, 2007). Las enfermedades que ocasionan estos virus reducen el rendimiento de la planta y provocan una pérdida del potencial productivo. El empleo de ácido acetil salicílico (AAS) puede disminuir el daño provocado por agentes virales en las plantas, existen evidencias que indican que actúa como una señal endógena que desencadena la resistencia sistémica adquirida (RSA), incluso aplicado en ausencia del estrés (Ward *et al.*, 1991), por ello han surgido productos comerciales a base de AAS, yodo y miel, entre otros, con el objetivo de combatir y controlar con éxito plantas de Chile infectadas.

El fenómeno RSA confiere resistencia a la planta a una infección secundaria por patógenos biotróficos, necrotrofos y hemibiotrofos; y se presenta en la mayoría de las plantas; sin embargo, el tiempo y nivel de protección depende de la especie vegetal. La inducción de RSA ocurre en dos etapas, en una primera etapa la planta reconoce al patógeno e induce las respuestas locales de defensa a través de cascadas de señalización que conllevan a la acumulación intracelular de ácido salicílico (AS). Esta acumulación induce el aumento de los niveles de especies reactivas del oxígeno y expresión de genes relacionados con la patogenicidad. Esta respuesta local promueve la segunda etapa de RSA que es la inducción de resistencia en el tejido sistémico alejado del punto de infección, en la RSA hay una estrecha relación entre el AS, el ácido jasmónico, las auxinas y el etileno (Díaz, 2012).

El AAS es un agente inductor de resistencia en las plantas; Maldonado *et al.* (2008) evaluaron su efecto en la infección causada por el virus CMV en *Cucurbita pepo* var. Zucchini grey, y observaron que el AAS no afectó la concentración de CMV en plantas de calabacita pero la aplicación foliar incrementó el peso de biomasa fresca.

El Q-Virus® es un producto comercial en el mercado agrícola que incorpora las formas moleculares del yodo que presentan actividad antiviral, hecho con base en yodo libre y extractos orgánicos. De acuerdo con el fabricante (Quimcasa, 2015) los efectos del producto son promover la reacción fisiológica de la planta y además inhibir la replicación viral.

El yodo presenta actividad frente a bacterias, mohos, levaduras, protozoos y muchos virus. De todos los antisépticos recomendados para su uso directo en los seres humanos y animales, el yodo es capaz de matar todas las clases de agentes patogénicos. Se ha comprobado que la aplicación exógena de yodo en programas de biofortificación en forma de  $IO_3^-$ , incrementa la capacidad antioxidante de plantas de lechuga al producir una estimulación de la actividad de las principales enzimas detoxificadoras de especies reactivas de oxígeno (Blasco *et al.*, 2010).

Basado en los antecedentes anteriores, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de productos con actividad antiviral en la producción de fruto y calidad de semilla de pimiento, *C. annuum* L. variedad criolla, infectada con los virus AMV y CMV, utilizando los productos comerciales Q-Virus® al 0.3 %, ácido acetil salicílico 500 ppm y miel de abeja al 0.2 %, bajo condiciones de invernadero.

## **3.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.2.1. Localización del Experimento**

La investigación se desarrolló en el invernadero de Parasitología de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Ejido palma de la Cruz Km. 14.5, de la carretera San Luis Potosí (S.L.P.)–Matehuala a 100°56' de longitud oeste y 22°11' de latitud norte, con una altura de 1,850 metros sobre el nivel del mar, en el municipio Soledad de Graciano Sánchez, S.L.P. En el invernadero se tuvieron condiciones de temperatura variable entre 20 °C y 35 °C.

### **3.2.2. Desarrollo del Experimento**

Se utilizó semilla de chile poblano criollo, adquirida con agricultores de Moctezuma y Villa de Arista, S.L.P., con lo cual se establecieron cuatro tratamientos bajo un diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones. Las plántulas emergidas de las semillas fueron inoculadas de forma mecánica con los virus AMV y CMV, a partir de un macerado de plantas de chile positivas a estos virus. Los tratamientos evaluados fueron la aplicación de miel de colmena Carlota<sup>®</sup> al 0.2 %, Q-Virus<sup>®</sup> al 0.3 % (Qimcasa), 500 ppm de ácido acetil salicílico (AAS) obtenido a partir de aspirinas<sup>®</sup> (Bayer) y el tratamiento control que consistió en no aplicar nada. La frecuencia de las aplicaciones fue semanal durante tres meses. Para la elaboración de cada una de las soluciones se empleó agua destilada. Para la preparación del tratamiento de miel al 0.2 % se emplearon 2 ml en un litro de agua destilada, para el Q-Virus<sup>®</sup> se disolvieron 3 ml en un litro de agua destilada de acuerdo con la recomendación del fabricante, y en el caso del AAS se disolvieron 500 mg en un litro de agua destilada. Previo a la cosecha, se midió la altura de planta, longitud y número de frutos, y luego de la madurez los frutos fueron cortados, contados y pesados para posteriormente ser colocados a temperatura ambiente en condiciones de baja humedad relativa para su secado y extracción de semilla.

Se realizó un análisis de 12 muestras de semilla con 10-20 semillas cada unidad experimental para la detección de los virus AMV y CMV mediante un ensayo de inmunoadsorción ligada a enzima (ELISA), además de RT-PCR y RT-PCR en tiempo real. Para las pruebas ELISA se usaron antisueros comerciales de la compañía Agdia<sup>®</sup> siguiendo el protocolo recomendado por la compañía. Para la prueba de RT-PCR para el virus CMV se adaptó un protocolo utilizando los primers reportados por Panno *et al.* (2012) cuyas secuencias son: CMV-1 5'-att aac cac cca acc ttt g-3' y CMV-2 5'-tgg gaa tgc gtt ggt gct c-3' las cuales amplifican un producto de 480 pares de bases (pb); y en el caso del virus AMV se utilizaron los primers de Xu y Nie (2006) cuyas secuencias son: AMV-F 5'-cca tca tga gtt ctt cac aaa ag-3' y AMV-R 5'-tcg tca cgt cat cag tga gac-3' las cuales amplifican un producto de 351 pb. En ambos casos, las reacciones de RT-PCR se hicieron en dos pasos, en el primero de ellos se calentaron 3 µL de ARN a 65 °C durante 3 minutos y se colocaron en hielo 2 minutos. Se preparó una mezcla con 2 µL de buffer M-MLV (Promega<sup>®</sup>), 0.2 mM de cada uno de los 4 desoxinucleótidos trifosfatados, 5 unidades de RNasin (Promega), 100 unidades de la enzima M-MLV (Promega), 1 µM del primer reverso CMV-2 o AMV-R, según el caso, y se completó a 7.5 µL con agua grado mili-Q. Posteriormente se incubó 42 °C durante una hora y a 94 °C durante 2 min. El segundo paso o PCR consistió en la aplicación de solución amortiguadora de PCR a una concentración 1X, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM de cada uno de los 4 desoxinucleótidos trifosfatados, 1 µM de cada uno de los primers CMV-1/CMV-2 o AMV-R/AMV-F, 1 unidad de la enzima go-Taq DNA polimerasa (Promega), 3 µL de DNA complementario, y se completó a 25 µL con agua grado mili-Q. Las muestras se colocaron en el termociclador a las temperaturas 95-50-72 grados centígrados durante 30 seg en cada una de ellas y el proceso se repitió 40 veces, con una extensión final a 72 °C 5 min para el caso del virus CMV; y 94 °C 5 min seguido de las temperaturas 95-58-72 durante 30"-30"-30" 35 ciclos y una extensión final a 72 °C durante 7 min para el caso de AMV. Se observaron los productos obtenidos en un gel de agarosa al 1.5 % y se observaron en un transiluminador de luz UV (Labnet<sup>®</sup>).

La RT-PCR en tiempo real se realizó utilizando el kit iQ-SYBR-Green supermix<sup>®</sup> (Biorad) a una concentración 1X adicionado de 1  $\mu$ M de cada uno de los primers CMV-1/CMV-2, 2  $\mu$ L de ADN y se completó a 20  $\mu$ L con agua grado mili-Q. Se utilizó el programa térmico 95 °C 5 min, seguido de 35 ciclos de 95-58 durante 10" y 30".

Las pruebas sobre calidad fisiológica de las semillas se hicieron de la siguiente manera: se determinaron los porcentajes de germinación en semilla, para ello se emplearon 400 semillas colocadas en grupos de 10 en cajas de Petri que contenían papel filtro como sustrato y se regaron periódicamente con agua destilada y se introdujeron en una cámara de germinación Seedburo<sup>®</sup> calibrada a 29 °C  $\pm$  1 °C. Durante esta prueba de germinación se realizaron dos conteos, el primero se tomó al séptimo día y el segundo al día 14. Las variables evaluadas fueron porcentaje de plántulas normales y anormales, y sobre aquellas semillas que no emitieron radícula al finalizar este lapso se realizó la prueba de viabilidad con tetrazolio para determinar el porcentaje de semillas muertas y latentes; el proceso consistió en realizar un corte transversal en cada semilla y se colocaron en cajas Petri, en una solución de tetrazolio a una concentración de 0.1 % con agua destilada, las cuales se mantuvieron en oscuridad durante 12 horas, las semillas cuyos embriones y cotiledones colorearon por completo se consideraron latentes, y las no teñidas se consideraron muertas (ISTA, 2004).

Con los datos obtenidos se realizaron análisis de varianza y posteriormente una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, 2004).

### 3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, la aplicación de miel al 0.2 % y Q-Virus<sup>®</sup> al 0.3 %, permitieron un buen desarrollo, crecimiento y floración de las plantas de chile poblano, así como apariencia vigorosa, también fue notoria la reducción de síntomas y disminución de daños y deformaciones en hojas y frutos provocada por la presencia de los virus AMV y CMV.

#### 3.3.1. Crecimiento y producción de chile poblano

En las cuatro variables analizadas, hubo diferencia estadística significativa al nivel  $\alpha=0.05$ . La aplicación de miel al 0.2 % en plantas de pimiento tuvo los mayores efectos en la altura de planta, número, tamaño y peso de frutos, seguido por el Q-Virus<sup>®</sup>. Aunque las plantas en donde se aplicó el tratamiento con AAS tuvieron buen crecimiento (altura de plantas), la producción de frutos fue baja debido a que hubo aborto de flores durante todo el ciclo, y las hojas presentaron quemaduras en comparación con el tratamiento control (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto promedio de los tratamientos en el crecimiento y producción de chile poblano con aplicación de antivirales y otras sustancias.

Tratamiento	Altura de planta <sup>1</sup> (cm)	Número de frutos/planta	Longitud de frutos <sup>1</sup> (cm)	Peso de fruto <sup>1</sup> (g)
Miel al 0.2 %	131 a	12.33 a	13.33 a	33.92 a
Q-Virus <sup>®</sup> 0.3 %	119 c	9.33 b	12.33 a	31.78 b
AAS 500 ppm	124 b	1.00 c	7.16 b	27.21 c
Control	84 d	8.66 b	6.33 b	20.16 d
DMS	2.6147	1.8489	1.36	0.6123

<sup>1</sup> Promedio de 10 repeticiones

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente ( $\alpha= 0.05$ )

DMS = Diferencia mínima significativa.

Se sabe que el Q-Virus<sup>®</sup> bloquea de manera temporal el abasto de sustratos básicos, principalmente aminoácidos, necesarios para la replicación viral y es por ello que una vez que el agente viral ha infectado el tejido vegetal se requiere de un programa de aplicaciones continuo cada ocho días durante todo el ciclo hasta llegar a madurez de frutos con el objetivo de conservar el bloqueo de dichos aminoácidos, lo cual permitiría que las plantas infectadas por AMV y CMV puedan continuar su desarrollo y crecimiento de una manera casi normal, llegando a niveles de producción satisfactorios y generando frutos de buen tamaño y calidad, aunado a que al haber una reducción en la acumulación de iones tóxicos logrados con la aplicación de IO<sub>3</sub>. Leyva *et al.* (2011) obtuvieron un aumento de biomasa significativo a partir de 20 µM de IO<sub>3</sub>. El producto Q-Virus<sup>®</sup> tiene un mejor efecto como preventivo que como curativo, por ello se recomienda su aplicación con cierta periodicidad a partir de etapas tempranas.

Las plantas tratadas con AAS se mantuvieron vigorosas y sanas, debido a que posiblemente desarrollaron una RSA, lo cual le da resistencia en el tejido sistémico alejado del punto de infección (Díaz, 2012), confiriendo una protección a una gran variedad de patógenos. Naylor *et al.* (1998) encontraron que aplicaciones exógenas de AS inhibieron la replicación de CMV e interfirieron en el movimiento de este en la planta; Maldonado *et al.* (2008) observó un incremento en el crecimiento de las plantas. Así mismo la miel de abeja, señala Villegas *et al.* (2001) aplicada al follaje en plantas de jitomate provoca un incremento en la altura de la planta de 48 a 138.4 %. La incorporación de éste producto en los programas fitosanitarios permite bajar el grado de infección de enfermedades de tipo viral.

### **3.3.2. Detección de AMV y CMV**

El ensayo ELISA realizado con antisueros específicos a los virus resultó negativo para las 12 muestras (4 tratamientos con 3 repeticiones) con lecturas de absorbancia que no lograron superar al triple del control negativo (datos no mostrados). Debido a la posibilidad de una baja sensibilidad de la prueba, se realizaron los RT-PCR convencional y en tiempo real con los mismos resultados.

La figura 1 muestra la amplificación por RT-PCR punto final en las muestras. Para el caso del virus CMV (Fig. 1A), a pesar de la observación de un bandeo generalizado en todas las muestras al comparar con el control positivo se nota que los fragmentos amplificados en el resto de las muestras no coincide con la talla esperada de 480 pb, además de que hay bandeo inespecífico. La inespecificidad de los productos de PCR también fue corroborada por secuenciación de ADN. En el caso de la amplificación del ARN del virus AMV todas las muestras salieron negativas (Fig. 1B).

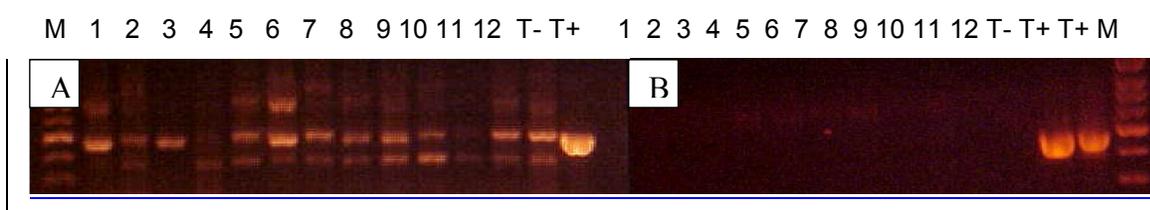


Figura 1. Amplificación por RT-PCR de los virus CMV (A) y AMV (B) de muestras de semilla de chile poblano sometido a aplicaciones de sustancias antivirales.

En la figura 2 se aprecian los resultados del ensayo de RT-PCR en tiempo real para el virus CMV. Todas las muestras resultaron negativas considerando que el control positivo superó el umbral en el ciclo 15, y en nuestro protocolo consideramos muestras positivas aquellas que rebasen el umbral antes del ciclo 25.

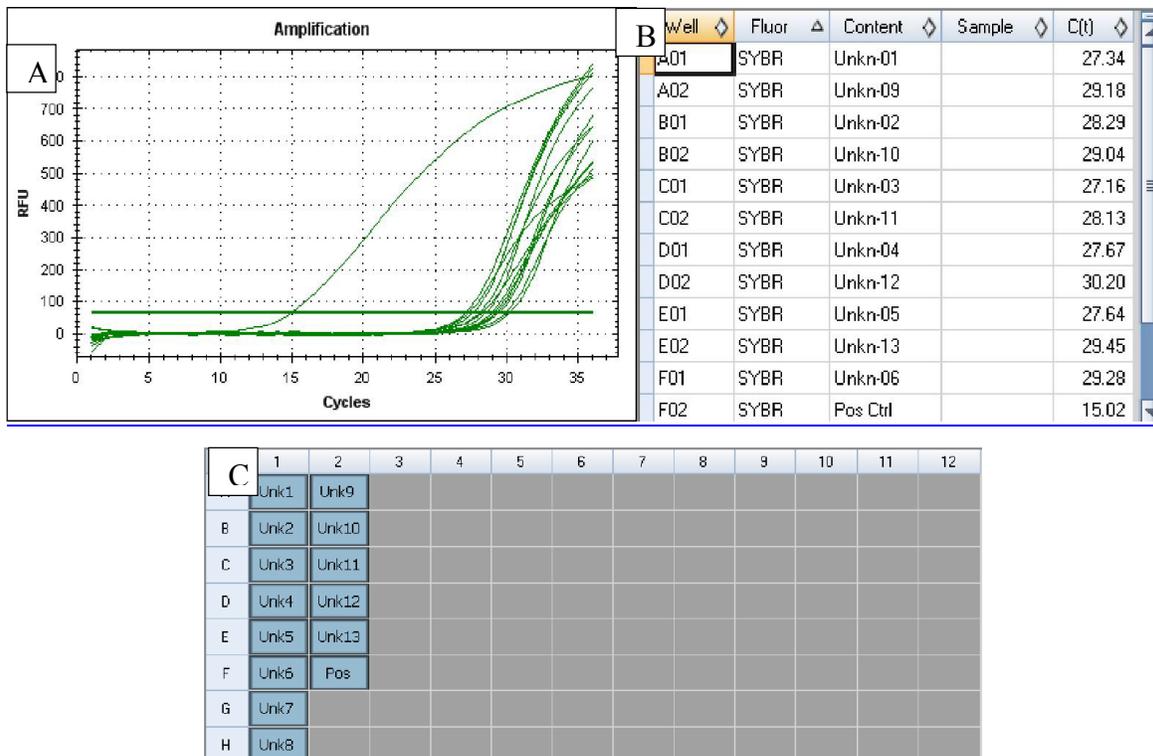


Figura 2. RT-PCR en tiempo real para la detección del virus CMV en muestras de semilla de pimiento sometidas a la aplicación de sustancias antivirales. A. Curva de amplificación con SYBR-Green, B. Valores umbral (Ct) y C. Croquis de distribución de muestras.

Como puede observarse en los resultados anteriores, se logró la obtención de semilla libre de los virus AMV y CMV con la aplicación de los tratamientos utilizados, sin embargo no puede decirse que dichos tratamientos hayan inactivado o eliminado a estos virus debido a que en el tratamiento control, con aplicación de agua solamente, tampoco se detectaron los virus en estudio. A pesar de la inoculación realizada con los virus AMV y CMV, es probable que no hubiera adquisición de los virus por las plantas, ya sea por una deficiente inoculación o por las condiciones ambientales prevalecientes en el invernadero.

### 3.3.3. Calidad Fisiológica de Semillas

Con respecto a las pruebas de calidad fisiológica de la semilla, se obtuvieron resultados favorables con la aplicación de miel al 0.2 % (Cuadro 6). Destaca el peso volumétrico obtenido de 102.25 g y el 87 % de germinación, así como un menor porcentaje de plántulas anormales, semillas muertas y latentes, mientras que el tratamiento control tuvo un menor porcentaje de germinación y mayor porcentaje en plántulas anormales y semillas latentes seguido por el tratamiento con AAS, así mismo se puede observar que la aplicación de Q-Virus<sup>®</sup> tuvo mayor porcentaje de semillas muertas.

**Cuadro 6.** Efecto de la aplicación de sustancias con actividad antiviral en la calidad fisiológica de semillas de pimiento.

Tratamiento	Peso de 1000 semillas (g)	Peso Volumétrico	Germinación (%)	Plántulas anormales (%)	Semillas muertas (%)	Semillas latentes (%)
Miel al 2 %	10.22 a	102.25 a	87.08 a	3.75 d	1.25 c	0.41 c
Q-Virus <sup>®</sup>	7.98 b	79.83 b	62.08 b	14.16 c	21.66 a	2.91 c
AAS 500 ppm	6.09 c	60.91 c	51.66 b	21.66 b	19.16 ab	7.50 b
Control	7.15 bc	71.58 bc	11.00 c	29.08 a	12.83 b	47.08 a
DMS	1.32	13.21	17.05	6.10	8.39	4.48

Medias con la misma letra en sentido vertical son iguales estadísticamente ( $\alpha = 0.05$ );

DMS = Diferencia mínima significativa.

### **3.4. CONCLUSIONES**

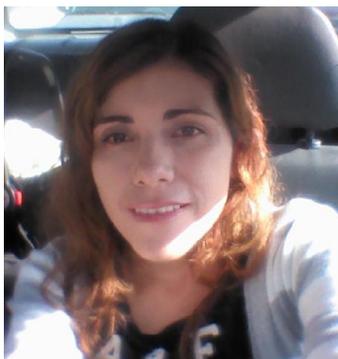
La aplicación de miel al 0.2 % generó un 56 % de mayor crecimiento de plantas de pimiento, y un 70 % más en producción de frutos con respecto al tratamiento control sin aplicación. El AAS tuvo efectos negativos. La semilla obtenida con los 3 tratamientos fue de buena calidad fisiológica y no se detectaron a los virus AMV y CMV.

### 3.5. BIBLIOGRAFÍA

- Blasco, B., J.J. Rios, R. Leyva, L.M. Cervilla, E. Sánchez-Rodríguez, M.M. Wilhelmi-R, M.A. Rosales, J.M. Ruiz, and L. Romero. 2010. Does iodine biofortification affect oxidative metabolism in lettuce plants? *Biol. Trace Elem. Res.*
- Díaz P.L.N. 2012. Resistencia sistémica adquirida mediada por el ácido salicílico. *Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 10:257-267.
- ISTA. 2004. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. Bassersdorf, CH-Switzerland. 700 p.
- Leyva, R., E. Sánchez-Rodríguez, J.J. Ríos, M.M. Rubio-Wilhelmi, L. Romero, J.M. Ruiz, and B. Blasco. 2011. Beneficial effects of exogenous iodine in lettuce plants subjected to salinity stress. *Plant Science* 181:195-202.
- Maldonado, C.E.; Ochoa, M.D.L.; Tlapal, B. 2008. Efecto del ácido acetil salicílico y *Bacillus subtilis* en la infección causada por cucumber mosaic virus en calabacita. *Chapingo Serie Horticultura* 14(1): 55-59.
- Naylor, M.; A.M. Murphy, J.O. Berry, and J.P. Carr. 1998. Salicylic acid can induce resistance to plant virus movement. *Mol. Plant Microbe Interact.* 11: 860-868.
- Panno, S., S. Davino, L. Rubio, E. Rangel, M. Davino, J. García-Hernández, and A. Olmos. 2012. Simultaneous detection of the seven main tomato-infecting RNA viruses by two multiplex reverse transcription polymerase chain reactions. *J. Virol. Methods* 186:152-156.
- Quimcasa. 2015. [http://agrobiosol.com.mx/source/src/prods/q\\_virus.htm](http://agrobiosol.com.mx/source/src/prods/q_virus.htm). Consultado 15 Agosto 2015.
- SAS. 2004. User's Guide of SAS (Statistical Analysis System), SAS Institute Inc. Cary, N.C. U.S.A. 550 p.
- Tun, S.J.M., M.E. Zavaleta, D.L.Ochoa M., G.P. Sánchez, H.M. Soto y J.C. Alejo. 2007. Incidencia del virus mosaico de la alfalfa en semillas y plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* jacq.) en Yucatán, México. *Fitosanidad* 11:11-14.

- Villegas, T.O.G., M.N. Rodríguez M., L.I Trejo T. y G.G. Alcántar. 2001. Potencial de la miel de abeja en la nutrición de plántulas de tomate. *Terra* 19:97-102.
- Ward, E.R., S.J. Uknes, S.C. Williams, S.S. Dincher, D.L. Wiederhold, D.C. Alexander, P.J.P. Ahl-goy, J.P: Metraux, and J.A. Ryals 1991. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell* 3:1085-1094.
- Xu, H., and J. Nie. 2006. Identification, characterization, and molecular detection of *Alfalfa mosaic virus* in potato. *Phytopathology* 96:1237-1242.

## RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO



M.C. Rapuél Toranzo Quetzal Heríz Castro

---

Candidato para el Grado de Doctor en Ciencias Agrícolas

Tesis: **PRODUCCIÓN DE SEMILLA DE PIMIENTO LIBRE DE LOS VIRUS AMV Y CMV EN SAN LUIS POTOSÍ**

Campo de Estudio: Parasitología Agrícola

Lineas de Investigación: Parasitología, Biotecnología

Datos Personales: Nacido en la ciudad Madero, Tamaulipas, el 23 de Enero de 1985

Formación Académica: Egresado de la escuela superior Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí en el 2008

### **Experiencia profesional:**

- Profesor de asignatura de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. Enero 2016.
- Asesoría a profesionista independiente a la Empresa Fungicidas Agropecuarias del Potosí, S.A. DE C.V.: Pruebas preliminares sobre la eficiencia del producto de dióxido de cloro sobre nematodos. Febrero 2014.
- Asesoría a profesionista independiente: Pruebas preliminares sobre la eficiencia del producto de dióxido de cloro sobre *Rhizoctonia sp.* Octubre 2013.
- Colaboración en el Proyecto: Identificación de organismos benéficos para el control biológico del acaro de la negrilla". Dirigido por el Dr. Rabindranath Manuel Thompson Farfán. Mayo 2012
- Servicio social en muestreo de plagas en cultivos de chile a cielo abierto en Villa de Arista, S.L.P. Junio 2008.

### **Publicaciones:**

Revistas científicas indexadas: 2 artículos

Revistas de comunicación universitaria: 1

Resumen en extenso a congresos: 8