

# Detección de Infecciones Mixtas Causadas por Begomovirus y Curtovirus en Plantas de Chile para Secado en San Luis Potosí, México

## Detection of Mixed Infections Caused by Begomovirus and Curtovirus in Chili pepper for drying plants in San Luis Potosi, Mexico

**Luis Roberto Reveles Torres, Rodolfo Velásquez Valle**, INIFAP-Campo Experimental Zacatecas, Km. 24.5 Carretera Zacatecas-Fresnillo. Apdo. Postal # 18. Calera de V. R., Zacatecas, México. CP 98500, México; **Jorge Armando Mauricio Castillo**, Unidad Académica de Agronomía, Universidad Autónoma de Zacatecas. Zacatecas, Zacatecas, México CP 98000, México; y **Silvia Salas Muñoz**, Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, San Luis Potosí, S.L.P., México, CP 78216, México. Correspondencia: velasquez.rodolfo@inifap.gob.mx

(Recibido: Junio 08, 2012 Aceptado: Septiembre 24, 2012)

Reveles Torres, L. R., Velásquez Valle, R., Mauricio Castillo, J. A. y Salas Muñoz, S. 2012. Detección de infecciones mixtas causadas por begomovirus y curtovirus en plantas de chile para secado en San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 30:155-160.

**Resumen.** Las infecciones virales son una de las enfermedades más importantes del chile para secado en el Norte Centro de México. Las infecciones virales mixtas son comunes en plantas de chile a nivel mundial, sin embargo, en San Luis Potosí, México se carece de información acerca de curtovirus y begomovirus infectando plantas de chile, por lo que el objetivo del presente estudio fue obtener información sobre la presencia de geminivirus infectando plantas de chile para secado que mostraban una sintomatología común. Se colectaron diez plantas de chile (*Capsicum annuum* "Mirasol") que mostraban síntomas típicos de amarillamiento y se analizaron mediante técnicas moleculares para detectar la presencia de begomovirus y curtovirus. Con respecto a curtovirus, se encontró al *Beet mild curly top virus* (BMCTV) en todas las muestras analizadas, mientras que los begomovirus *Pepper huasteco yellow vein virus* (PHYVV) y *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV) se encontraron en ocho y diez del total de muestras colectadas respectivamente. Cabe resaltar que en solo dos de las diez muestras la presencia de PepGMV no estuvo relacionada con PHYVV.

Palabras clave adicionales: Amarillamiento, Infección viral mixta, Geminivirus, Detección molecular.

Uno de los principales problemas que afectan al cultivo de chile para secado (*Capsicum annuum* L.) en el Norte Centro de México, que incluye el altiplano del estado de San Luis Potosí, es la incidencia de enfermedades de origen viral.

**Abstract.** Viral infections are one of the most important diseases of chili peppers for drying in north central Mexico. Mixed viral infections are common in chili plants worldwide, however, in San Luis Potosi, Mexico there is no information about curtovirus and begomovirus infecting chili pepper plants; therefore, the aim of this study was to obtain information on the presence of geminivirus infecting chili for drying with a common symptomatology. Ten chili pepper plants (*Capsicum annuum* "Mirasol") with typical yellowing symptoms were collected and analyzed using molecular techniques to detect the presence of begomovirus and curtovirus. As for curtovirus, *Beet mild curly top virus* (BMCTV) was found in all samples analyzed, while as for begomovirus, *Pepper huasteco yellow vein virus* (PHYVV) and *Pepper golden mosaic virus* (PepGMV) were found in eight and ten of the total samples collected, respectively. It is important to mention that in only two of the ten samples PepGMV was present and it was not related to PHYVV.

Additional Keywords: Yellowing, mixed viral infection, geminivirus, molecular detection.

One of the main problems that affect the chili pepper for drying (*Capsicum annuum* L.) crops in north central Mexico, including the highlands of San Luis Potosi state, is the incidence of viral diseases. From an epidemiological point of view, the phenomenon of mixed infections caused by viruses belonging to the same family is particularly important because it favors genetic recombination, which may contribute to the emergence of variants and strains with increased virulence or, like in the geminivirus case, the formation of new species (Ala-Poikela *et al.*, 2005). For the chili crop abundant information exists about infections caused by two or more begomovirus species or combinations of two or more RNA viruses (Abdalla *et al.*,

Desde un punto de vista epidemiológico el fenómeno de infecciones mixtas, causadas por virus pertenecientes a la misma familia, es de particular importancia ya que favorece la recombinación genética, la cual puede contribuir a la aparición de variantes y cepas con mayor virulencia o, en el caso de Geminivirus, nuevas especies (Ala-Poikela *et al.*, 2005). En el caso del cultivo de chile existe abundante información acerca de infecciones producidas por dos o más especies de begomovirus o combinaciones de dos o más virus de ARN (Abdalla *et al.*, 1991; Méndez-Lozano *et al.*, 2002; Velásquez-Valle *et al.*, 2012a). En el estado de Zacatecas, México, Fraire *et al.* (2011) reportaron la infección mixta de plantas de chile por los virus huasteco de la vena amarilla del chile (*Pepper huasteco yellow vein virus*: PHYVV), del mosaico dorado del chile (*Pepper golden mosaic virus*: PepGMV) y del mosaico del pepino (*Cucumber mosaic virus*: CMV). Es notoria la falta de información acerca de infecciones complejas donde intervengan tanto begomovirus como curtovirus, ambos pertenecientes a la familia *Geminiviridae* cuya frecuencia de detección es creciente en México (Velásquez-Valle *et al.*, 2012b; Chen *et al.*, 2011) por lo que el objetivo del presente trabajo consistió en identificar la presencia de begomovirus y curtovirus en plantas de chile para secado que mostraban una sintomatología similar.

A mediados de Junio de 2010 se colectaron muestras de tejido joven de diez plantas de chile para secado tipo Mirasol seleccionadas al azar y que mostraban síntomas conspicuos de la enfermedad denominada amarillamiento del chile (Velásquez-Valle *et al.*, 2011) en una parcela comercial localizada en el altiplano del estado de San Luis Potosí, México.

Para la detección de begomovirus y curtovirus, las muestras se molieron en presencia de nitrógeno líquido en morteros preenfriados a -20 °C. El tejido molido se transfirió a tubos de microcentrifuga de 1.5 mL para extraer DNA total de cada muestra, a continuación se agregaron 600 µl de solución amortiguadora de extracción (1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 2 % CTAB (bromuro de hexacetil trimetil amonio) p/v, 1 % de β-mercaptoetanol) agitando la mezcla hasta homogeneizar. Las muestras se incubaron por 20 min a 65 °C con una leve homogenización cada 3 min. Después de la incubación se agregaron 600 µl de la mezcla cloroformo-alcohol isoamílico (24:1) y se mezclaron con agitación por 15 min. Los tubos se centrifugaron a 13,000 rpm por 15 min y el sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo conteniendo 600 µl de isopropanol frío. A continuación las muestras se mezclaron y se dejaron a temperatura ambiente por 5 min y posteriormente se centrifugaron a 13,000 rpm por 15 min; se descartó el sobrenadante y los tubos se invirtieron por 5 min para secar el DNA precipitado. Posteriormente el DNA se resuspendió en 100 µl de buffer TE (Tris- EDTA 0.01 mM pH 8.0) y 100 µl de etanol al 100 %. El BMCTV fue detectado por PCR usando los oligonucleótidos BMCTV CP4f (5'-CAG TAT CGA CCA GTT GTT T-3') y BMCTV CP6r (5'-CTC TTC GAA TAC GAT AAG TAG-3') (Creamer *et al.*, 2005), los cuales amplifican una porción del gen que codifica la proteína de la cápside del virus. Para la

1991, Mendez-Lozano *et al.*, 2002, Velásquez-Valle *et al.* 2012a). In Zacatecas state, Mexico, Fraire *et al.* (2011) reported mixed infection of chili pepper plants by pepper huasteco yellow vein viruses (*Pepper huasteco yellow vein virus*: PHYVV), chili golden mosaic (*Pepper golden mosaic virus*: PepGMV) and cucumber mosaic (*Cucumber mosaic virus*: CMV). It is notorious the lack of information about complex infections involving both begomovirus and curtovirus, both belonging to the *Geminiviridae* family whose detection frequency is increasing in Mexico (Velásquez-Valle *et al.*, 2012b, Chen *et al.*, 2011); therefore, the aim of this study was to identify the begomovirus and curtovirus presence in dried chili plants showing similar symptomatology.

During mid-June 2010, tissue samples of ten young chili plants for drying, Mirasol type, were randomly collected mostly of those showing prominent symptoms of the disease known as "Yellowing of chili" (Velásquez-Valle *et al.*, 2011) in a commercial lot located in the highlands of the state of San Luis Potosi, Mexico.

For curtovirus and begomoviruses detection, samples were ground in liquid nitrogen in -20 °C precooled mortars. Grounded tissue was transferred to 1.5 mL microcentrifuge tubes for total DNA extraction for each sample, then 600 µl of extraction buffer were added (1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH 8.0, 2 % CTAB (Hexadecyl trimethyl ammonium bromide) w/v, 1% β-mercaptoethanol) and stirred until homogenization. The samples were incubated during 20 min at 65 °C with a slight homogenization every 3 min. After incubation, 600 µl of chloroform-isoamyl alcohol mixture (24:1) were added and mixed during 15 min. The tubes were centrifuged at 13,000 rpm during 15 min and the supernatant was transferred to a new tube containing 600 µl of cold isopropanol. The samples were mixed and left at room temperature during 5 min, then they were centrifuged at 13,000 rpm during 15 min; the supernatant was discarded and the tubes were inverted during 5 minutes to dry the precipitated DNA. Lastly, the DNA was resuspended in 100 µl of TE buffer (0.01 mM Tris-EDTA, pH 8.0) and 100 µl of 100 % ethanol. The BMCTV was detected by PCR using the following oligonucleotides: BMCTV CP4f (5'-CAG TAT CGA CCA GTT GTT T-3') and BMCTV CP6r (5'-CTC TTC GAA TAC GATAAG TAG-3') (Creamer *et al.*, 2005), which are used to amplify a portion of the gene that encodes the protein of the capsid virus. For the reaction, 5-10 ng of the mold and 20 µl of a reaction consisting of 0.250 µM of each primer, 3 units of Taq DNA polymerase (Promega, Madison, USA), 250 µM dNTPs, 2 µl of the buffer for Taq 10X (15 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM Tris-HCl (pH 9), 500 mM KCl, 1.1 % gelatin) and 3 mM MgCl<sub>2</sub> were used. PCR reaction consisted of: 35 consistent cycles at 94 °C during 30 sec, 59 °C during 60 sec and 72 °C during 90 sec and a final extension of 72 °C during 5 min. The amplification products were separated on 2 % agarose gels, stained with ethidium bromide and visualized by ultraviolet light on a SIGMA T1201 instrument. The presence of a 576 bp fragment was considered as a positive detection for BMCTV.

A unique protocol for genomic DNA extraction was,

reacción se utilizaron 5-10 ng del templado y 20 µl de una reacción compuesta por 0,250 µM de cada iniciador, 3 unidades de Taq DNA polimerasa (Promega, Madison, USA), 250 µM de dNTPs, 2 µl de la solución amortiguadora para Taq 10X (15 mM Cl<sub>2</sub>Mg; 100 mM Tris-HCl (pH 9); 500 mM KCl; 1,1 % de gelatina) y 3 mM Cl<sub>2</sub>Mg. La reacción de PCR consistió en: 35 ciclos consistentes de 94 °C por 30 seg, 59 °C por 60 seg y 72 °C por 90 seg y una extensión final de 72 °C por 5 min. Los productos de amplificación se separaron en geles de agarosa al 2 %, se tiñeron con bromuro de etidio y se visualizaron mediante luz ultravioleta en un equipo SIGMA T1201. La presencia de un fragmento de 576 pares de bases se consideró como detección positiva para el BMCTV.

Se adoptó un protocolo de extracción de DNA genómico único basado en una modificación del método de Dellaporta *et al.* (1983) que utiliza nitrógeno líquido y el buffer de extracción "A" compuesto por Tris 100 mM pH8.0, NaCl 50 mM pH 8.0, EDTA 50mM pH-8.0 y agua destilada. La combinación de oligonucleótidos utilizada para identificar la presencia del genoma A de begomovirus fue pRep-DGR / pCP70-Mot (Ascencio-Ibañez *et al.*, 2002); mientras que para el diagnóstico e identificación completa de curtovirus se utilizó la combinación de iniciadores RepQEW-for/CP450-rev (Velasquez-Valle *et al.*, 2012), la composición de la mezcla de reacción para PCR fue la misma y consistió en lo siguiente: Buffer Taq DNA polimerasa 1X, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, dNTPs 0.2mM, oligonucleótidos 1M, Taq polimerasa 2.5 UT, DNA 1g. Las condiciones para la amplificación del ADN viral fueron: desnaturalización inicial a 94C/2min, y 35 ciclos conformados por una temperatura inicial de 94C/1min, una temperatura de alineamiento de 55C/1 min y una extensión a 72C/1min, con una extensión final de 72C/5 min. Los productos de PCR obtenidos se clonaron directamente en el plásmido PGEM-TEasy (Promega, Madison, WI), según las indicaciones del proveedor. La transformación de células competentes de *Escherichia coli* Top 10 y la extracción del DNA plasmídico se realizó de acuerdo al procedimiento modificado de Birnboim (Sambrook y Russell, 2001). Los productos clonados fueron secuenciados, y la secuencia nucleotídica obtenida en cada caso se comparó con las secuencias disponibles en la base de datos del GenBank, utilizando los algoritmos Blast N (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) y ClustalV (MegAlign, DNASTAR Madison, WI).

Las diez muestras analizadas resultaron positivas para la presencia de curtovirus, específicamente BMCTV (Cuadro 1), lo cual concuerda con la sintomatología observada localmente de enanismo, amarillamiento del follaje y ausencia de estructuras reproductivas, entre otros, reportada a nivel mundial para este tipo de infecciones (Creamer *et al.*, 2003; Chen *et al.*, 2011; Velásquez-Valle *et al.*, 2011).

PHYVV se detectó en ocho de las diez muestras analizadas mientras que PepGMV fue detectado en todas las muestras analizadas (Cuadro 1). De acuerdo con Brown (2003a) la infección mixta del Pep GMV y PHYVV es una de las más comunes y económicamente importantes en las

it was based on a modification of Dellaporta *et al.* (1983) method which uses liquid nitrogen and extraction buffer "A" consisting of 100 mM Tris pH 8.0, 50 mM NaCl pH 8.0, 50 mM EDTA pH 8.0 and distilled water. The oligonucleotides combination used to identify the presence of the A genome of begomoviruses was pRep-DGR / pCP70-Mot (Ascencio-Ibañez *et al.*, 2002); while for the diagnosis and complete curtovirus identification the primers combination RepQEW-for/CP450-rev (Velasquez-Valle *et al.*, 2012) was used, the composition of the reaction mixture for PCR was the same and it was consisting of: Taq DNA polymerase 1X buffer, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTPs, 2 oligonucleotides 1M, Taq polymerase 2.5 UT, 1g DNA. The conditions for viral DNA amplification were: initial denaturation at 94C/2 min and 35 cycles consisting of an initial temperature of 94C/1 min, an temperature of alignment 55C/1 min, an extension of 72C/1min, and a final extension of 72C/5 min. The obtained PCR products were cloned directly into the pGEM-TEasy (Promega, Madison, WI) plasmid according to the supplier's directions. The transformation of competent cells of *Escherichia coli* Top 10 and the extraction of the plasmidic DNA was performed according to modified Birnboim method (Sambrook and Russell, 2001). Cloned products were sequenced, and the nucleotide sequence obtained in each case was compared with the available sequences of the GenBank database by using the BLAST N algorithms (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) and Clusta IV (MegAlign, DNASTAR Madison, WI).

The ten tested samples were positive for curtovirus presence, specifically BMCTV (Table 1), which is consistent with the dwarfism symptomatology locally observed, foliage yellowing and absence of reproductive structures, among others, reported worldwide for this type

Cuadro 1. Detección de diferentes virus en plantas de chile para secado tipo Mirasol con síntomas de "amarillamiento del chile" en el altiplano de San Luis Potosí, México.

Table 1. Detection of different viruses in chili pepper plants for drying, Mirasol type, with "yellowing of chili" symptoms in highlands of San Luis Potosi, Mexico.

Muestra	Curtovirus BMCTV <sup>x</sup>	Begomovirus	
		PHYVV <sup>y</sup>	PepGMV <sup>z</sup>
1	Positivo	Negativo	Positivo
2	Positivo	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo	Negativo	Positivo
5	Positivo	Positivo	Positivo
6	Positivo	Positivo	Positivo
7	Positivo	Positivo	Positivo
8	Positivo	Positivo	Positivo
9	Positivo	Positivo	Positivo
10	Positivo	Positivo	Positivo

<sup>x</sup> Beet mild curly top virus.

<sup>y</sup> Pepper huasteco yellow vein virus.

<sup>z</sup> Pepper golden mosaic virus.

parcelas de chile localizadas en los estados fronterizos de México y Estados Unidos de América. La sintomatología causada por la infección de estos virus incluye mosaico amarillo brillante, moteado clorótico, clorosis foliar marginal, enrollamiento foliar, abultamientos o ampollamientos foliares, enanismo, caída de flor, reducción del tamaño o ausencia de frutos (Fraire, 2010), sin embargo también se ha reconocido que la expresión de síntomas puede variar en función de la variedad de chile, condiciones ambientales, cepas o variantes de begomovirus (Khan *et al.*, 2007), por lo que la sintomatología en las enfermedades virales es frecuentemente poco confiable como método de diagnóstico. No obstante lo anterior, se ha reconocido que uno de los síntomas más evidentes de la infección por PepGMV y PHYVV es el mosaico brillante que suelen tomar las hojas y venas de las plantas enfermas, respectivamente (Brown, 2003a; Brown, 2003b) ninguno de los cuales se manifestó en las plantas de chile Mirasol analizadas en el presente trabajo. En las condiciones del Norte Centro de México, la mayoría de las plantas de chile infectadas por BMCTV mueren antes de completar el ciclo de cultivo por lo que es posible que los síntomas más evidentes de enfermedad causadas por ambos begomovirus no alcanzarían a manifestarse en el follaje más joven de las plantas. Es necesario investigar si la co-infección reportada durante este trabajo ocurre simultáneamente como en el caso de PHYVV y PepGMV (Medina-Ramos *et al.*, 2008) o si un patógeno específico al infectar inicialmente una planta es capaz de enmascarar los síntomas causados por otros virus ya que una de las características más importantes desde el punto de vista fitopatológico es que las infecciones mixtas pueden alterar la severidad de los síntomas pues es bien sabido que en plantas de chile infectadas con PepGMV son mucho más agresivos que los observados en plantas infectadas solo con PHYVV pero cuando ambos virus infectan una misma planta de chile se observa antagonismo que reduce los síntomas producidos por PepGMV favoreciendo la interacción con el insecto vector y su diseminación a otras plantas (Méndez-Lozano *et al.*, 2002). Con base en lo anterior es necesario establecer metodologías que permitan evaluar y caracterizar infecciones mixtas como las que se reportan en este trabajo de tal forma que se pueda confirmar si la infección causada por BMCTV en plantas de chile interfiere con la aparición de los síntomas provocados por PHYVV y PepGMV o si dependiendo de la planta hospedera se pudieran producir un incremento en la severidad de los síntomas como consecuencia de la infección causada por BMCTV, PHYVV y PepGMV.

Las muestras analizadas provenían de plantas de chile que mostraban síntomas de la enfermedad denominada amarillamiento entre los que destacan: enanismo, follaje clorótico o amarillo en la planta completa, ausencia total o parcial de estructuras reproductivas (botones, flores o frutos), hojas alargadas y de consistencia gruesa, así como frutos pequeños y deformes; esta sintomatología ya había sido previamente asociada con la presencia del *Beet mild curly top virus* (BMCTV) en el área productora de esta hortaliza en el vecino estado de Zacatecas (Velásquez-Valle *et al.*, 2008, Velásquez-Valle *et al.*, 2011); las zonas

of infections (Creamer *et al.*, 2003 Chen *et al.* 2011; Velásquez-Valle *et al.*, 2011).

PHYVV was detected in eight of the ten samples analyzed, while PepGMV was detected in all samples analyzed (Table 1). According to Brown (2003a) the Pep GMV and PHYVV mixed infection is one of the most common and economically important in chili pepper plots located in the border states of Mexico and the United States of America. The symptoms caused by infection with these viruses includes bright yellow mosaic, chlorotic mottle, marginal leaf chlorosis, leaf rolling, swelling or blistering leaf, stunting, flower drop, reduced fruit size or absence (Fraire, 2010), however it has also been recognized that the expression of symptoms may vary depending on the variety of chili, environmental conditions, strains or begomovirus variants (Khan *et al.*, 2007), so the symptoms in viral diseases is often unreliable as a diagnostic method. Nevertheless, it is recognized that one of the most obvious symptoms of PepGMV and PHYVV infection, is the bright mosaic that often show the leaves and veins of infected plants, respectively (Brown, 2003a; Brown, 2003b), none of which was manifested in Mirasol chili pepper plants analyzed in this work. Under the north central Mexico conditions, the majority of infected pepper plants by BMCTV die before completing the crop cycle, so it is possible that the most obvious symptoms of illness caused by both begomovirus are not shown in the youngest foliage of the plants. It is necessary to investigate whether co-infection reported during this study occurs simultaneously as in the case of PHYVV and PepGMV (Medina-Ramos *et al.*, 2008) or if a specific pathogen, when initially infecting a plant, is able to mask the symptoms caused by other viruses, since one of the most important characteristics from the phytopathological point of view is that mixed infections may alter the severity of the symptoms; it is well known that in chili pepper plants infected with PepGMV the symptoms are much more aggressive than those observed in plants infected with PHYVV, but when both viruses infect the same chili pepper plant antagonism is observed which reduces the symptoms caused by PepGMV encouraging interaction with the vector insect and its spreading to other plants (Mendez-Lozano *et al.*, 2002). Based on the above, it is necessary to establish methodologies to evaluate and characterize mixed infections such as those reported in this work, so that it is possible to confirm whether the infection caused by BMCTV in chili plants interferes with the emergence of the symptoms caused by PHYVV and PepGMV, or if depending on the host plant it could be possible to produce an increase in the severity of symptoms as a consequence of the infection caused by BMCTV, PHYVV and PepGMV.

The samples analyzed were from chili pepper plants showing symptoms of the disease known as "yellowing of chili", among them: dwarfism, chlorotic or yellow foliage in the whole plant, total or partial absence of reproductive structures (buds, flowers or fruits), elongated and thick leaves and small and misshapen fruit; these symptoms had been previously associated with the presence of the *Beet mild curly top virus* (BMCTV) in a vegetable producing area of Zacatecas state (Velásquez-Valle *et al.*, 2008,

productoras de chile para secado de ambos estados no se encuentran físicamente separadas sino que pertenecen a una misma región geográfica perteneciente al norte centro de México. Los reportes sobre la presencia de al menos tres variantes de BMCTV produciendo infecciones simples en cultivos de chile presentes en el Altiplano Potosino (Comunicación Personal Dr. Gerardo Argüello Astorga) por lo que parece probable que esta sintomatología sea producida por un mismo agente (s) causal (es) para ambos estados.

La información con la que se cuenta sobre la presencia de los vectores de estos virus en la región es parcial: la presencia del vector de begomovirus, la mosca blanca (*Bemisia tabaci* Genn.) no ha sido confirmada en la zona productora de chile en el Altiplano Potosino y es probable que esto se deba en gran parte a las bajas temperaturas y al clima semiárido característicos de la región lo cual conlleva a la presencia de bajas poblaciones de este insecto. Con respecto al vector del BMCTV, la chicharrita *Circulifer tenellus* Baker, existen reportes que indican que se distribuye ampliamente en el norte centro del país, incluyendo el área productora de chile para secado del Altiplano Potosino (Velásquez-Valle *et al.*, 2008) ya que el clima semiárido favorece su reproducción y diseminación (Bennett, 1971). Durante este trabajo se logró detectar por primera vez la presencia de dos geminivirus pertenecientes al género de los begomovirus (PepGMV y PHYVV) y uno perteneciente al género de los curtovirus (BMCTV) infectando plantas de chile para secado en México. Es necesario llevar a cabo estudios que confirmen si los síntomas causados por BMCTV son capaces de atenuar a los producidos por PepGMV y PHYVV o si eventualmente y dependiendo del hospedero la presencia de estos tres virus puede producir nuevas sintomatologías cada vez más agresivas.

#### LITERATURA CITADA

- Abdalla OA, Desjardins PR, and Dodds JA. 1991. Identification, disease incidence, and distribution of viruses infecting peppers in California. *Plant Disease* 75:1019-1023.
- Ala-Poikela M, Svensson E, Rojas A, Horko T, Paulin L, Valkonen JPT, and Kvarnheden A. 2005. Genetic diversity and mixed infections of begomoviruses infecting tomato, pepper and cucurbit crops in Nicaragua. *Plant Pathology* 54:448-459.
- Ascencio-Ibáñez JT, Argüello-Astorga GR, Méndez-Lozano J, and Rivera-Bustamante RF. 2002. First report of Rhynchosia golden mosaic virus (RhGMV) infecting tobacco in Chiapas, Mexico. *Plant Disease* 86:692.
- Bennett CW. 1971. The curly top disease of sugarbeet and other plants, Monograph 7. American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- Brown JK. 2003a. Pepper golden mosaic virus. Pp. 31-32. *In: Pernezny K, Roberts PD, Murphy JF, and Goldberg NP (Eds.). Compendium of pepper diseases. The APS Press. USA. 63 p.*
- Brown JK. 2003b. Pepper huasteco yellow vein virus. Pp. 32-33. *In: Pernezny K, Roberts PD, Murphy JF, and Velásquez-Valle et al., 2011); chili pepper for drying producing areas of both states are not physically separated but belong to the same geographical region in the north central Mexico. There are reports of the presence of at least three variants of BMCTV producing simple infections in chili crops at the Altiplano Potosino (Personal Communication Dr. Gerardo Argüello Astorga) so, it might be possible that these symptoms are caused by the same causal agent(s) in both states.*
- Current information about the presence of these virus vectors in the region is partial: the presence of begomovirus vector, the whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) has not been identified in the chili pepper producing area at the Altiplano Potosino, and it is probable that this might be due to the low temperatures and to the semiarid climate typical of the region which leads to the presence of low populations of this insect. Regarding the BMCTV vector, the leafhopper *Circulifer tenellus* Baker, there are reports that this insect is widely distributed in the north central Mexico, including the chili for drying producing area in the Altiplano Potosino (Velásquez-Valle *et al.*, 2008) because the semiarid climate encourages its reproduction and dissemination (Bennett, 1971). During this work it was detected for the first time, the presence of two geminiviruses belonging to the begomovirus gender (PepGMV and PHYVV) and one belonging to the curtovirus genus (BMCTV) infecting chili for drying plants in Mexico. More studies are necessary to confirm whether the symptoms caused by BMCTV are able to mitigate those produced by PepGMV and PHYVV, or if eventually and depending on the host, the presence of these three viruses can produce new symptomatology increasingly aggressive.
- 
- Goldberg NP (Eds.). Compendium of pepper diseases. The APS Press. USA. 63 p.
- Chen L-F, Vivoda E, and Gilbertson RL. 2011. Genetic diversity in curtoviruses: a highly divergent strain of *Beet mild curly top virus* associated with an outbreak of curly top disease in pepper in Mexico. *Archives of Virology* 156:547-555.
- Creamer R, Carpenter J, and Rascon J. 2003. Incidence of the beet leafhopper, *Circulifer tenellus* (Homoptera: Cicadellidae) in New Mexico chile. *Southwestern Entomologist* 28:177-182.
- Creamer R, Hubble H, and Lewis A. 2005. Curtovirus infection of chile pepper in New Mexico. *Plant Disease*. 89:480-486.
- Dellaporta S., Wood J., and Hicks J. 1983. A plant miniprep: Version II. *Plant Molecular Biology Report* 1: 19-20.
- Fraire VS. 2010. Zacatecas. Universidad Autónoma de Zacatecas. Folleto para Productores Agrícolas. Zacatecas, México. 6 p.
- Fraire S, Recendez-Alvarado M, Carrillo-Tripp J, Rivera-Bustamante R, and Alvarado-Rodríguez M. 2011. Geminiviral (PHYVV and PepGMV) and cucumoviral (CMV) co-infection in chili pepper fields: The AC1 gene in PepGMV with a mutation with aminoacid change.

- Phytopathology 101:S54.
- Khan AJ, Al-Saady NA, Al-Mahraki MS, Al-Oufi M, Al-Subhi AM. 2007. Molecular characterization of *Begomovirus* infecting sweet pepper in Oman. *Indian Journal of Biotechnology* 6:45-51.
- Medina-Ramos G, De la Torre-Almaraz R, Bujanos-Muñiz R, Guevara-González RG, Tierranegra-García N, Guevara-Olvera L, González-Chavira MM, and Torres-Pacheco I. 2008. Co-Transmission of *Pepper huasteco yellow vein virus* and *Pepper golden mosaic virus* in chili pepper by *Bemisia tabaci* (Genn.). *Journal of Entomology* 5:176-184.
- Méndez-Lozano J, Torres-Pacheco I, Fauquet CM, and Rivera-Bustamante RF. 2002. Interactions between geminiviruses in a naturally occurring mixture: *Pepper huasteco virus* and *Pepper golden mosaic virus*. *Phytopathology* 93:270-277.
- Sambrook J, and Russell DW. 2001. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 3<sup>rd</sup> Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY, USA. 1112-1118 pp.
- Velásquez-Valle R, Medina-Aguilar MM, and Creamer R. 2008. First report of *Beet mild curly top virus* infection of chile pepper in North-Central Mexico. *Plant Disease* 92:650.
- Velásquez-Valle R, Mena-Covarrubias J y Reveles-Torres LR. 2011. Amarillamientos del chile para secado en el norte-centro de México. Campo Experimental Zacatecas, INIFAP. Folleto Técnico No. 35. Calera de V. R., Zac., México. 40 p.
- Velásquez-Valle R, Reveles-Torres LR y Mena-Covarrubias J. 2012a. Incidencia y sintomatología de cinco virus en parcelas comerciales de chile seco en Aguascalientes, San Luis Potosí y Zacatecas, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3:381-390.
- Velásquez-Valle R, Mena-Covarrubias J, Reveles-Torres LR, Argüello-Astorga GR, Salas-Luévano MA, and Mauricio-Castillo JA. 2012b. First report of *Beet mild curly top virus* in dry bean in Zacatecas, Mexico. *Plant Disease* 96:771.