



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias Biológicas

“EFECTO DE LA NUTRICIÓN NITROGENADA EN LA
RESPUESTA A LA INFECCIÓN CON BEGOMOVIRUS
EN *Capsicum chinense* Jacq.”

Tesis que presenta:

ADRIANA CHACÓN LÓPEZ

En opción al título de

MAESTRA EN CIENCIAS

(Ciencias Biológicas: Opción Bioquímica y Biología
Molecular de Plantas)

Mérida, Yucatán, México

2021

CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Adriana Chacón López** titulado “**Efecto de la nutrición nitrogenada en la respuesta a la infección con begomovirus en *Capsicum chinense* Jacq**”, fue realizado en la **Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas**, en la línea de investigación Interacción Patógeno-Ambiente, en los laboratorios USF10 y 07 del **Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.** bajo la dirección del **Dr. Oscar Alberto Moreno Valenzuela y la Dra. Ileana de la Caridad Echevarría Machado**, dentro de la opción de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, perteneciente al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas de este Centro.

Atentamente



Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 8 de noviembre de 2021

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en la sección de Materiales y Métodos, los Resultados y Discusión de este documento proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que a razón de lo anterior y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y en el mismo tenor, reconozco que si derivaren de este trabajo productos intelectuales o desarrollos tecnológicos, en lo especial, estos se registrarán en todo caso por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley de la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Adriana Chacón López', is written over a horizontal line.

Adriana Chacón López

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, por haberme otorgado una beca nacional con número (CVU/Becario): 927147.

A mi casa de estudios, el Centro de Investigación Científica de Yucatán, A. C., por haberme aceptado en el programa Maestría en Ciencias: Ciencias Biológicas; y a la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, por permitirme el uso de sus equipos; además de regalarme invaluable memoria en sus instalaciones (tendrían tanto que contar los pasillos, salones, laboratorios y cafetería).

Gracias a mi estimado Comité revisor de tesis: Al Dr. Oscar Alberto Moreno Valenzuela y a la Dra. Ileana Echevarría Machado; quienes fueron mis directores de tesis. Al Dr. Manuel Martínez Estévez, al Dr. Emiliano Loeza Kuk y al Dr. Felipe Sánchez Teyer, por haber sido mis revisores. Sin duda alguna, ustedes me enseñaron más de lo que procuraron. Igualmente, al Comité General de Posgrado por permitirme el tiempo para alcanzar este fin.

También debo mencionar a la química Yereni Minero y a la maestra Fátima Medina, que fueron un valioso apoyo para realizar el trabajo y que formaron parte de este gran equipo.

Debo aprovechar estas líneas para hacer mención de aquellos que están detrás de bambalinas, pero son un brazo incalculable de soporte y auxilio; mis compañeros de laboratorio y ahora mis amigos de vida. Gracias equipo Lab 07, Lab USF10 y amigos de la Unidad de Bioquímica. Para ellos reservé este poco espacio para no extenderme mucho; total, tenemos una vida para agradecerlos. Ellos se dan por aludidos.

Siguiendo, quiero agradecer a mi familia y dedicarles este momento que permanecerá plasmado como prueba de nuestro amor. A mi madre, mis hermanos, mis cuñados y sobrinos: gracias, por tanto. Gracias mamá por nunca cortarme las alas; a ti todo cuanto pueda. Mis hermanos, uno para todos y todos para uno. Mis tíos Omi y Cachi, mis amigos y brothers (choque de puños).

A todos ustedes, mi profundo y leal agradecimiento: "Hechos son amores y no buenas razones".

Para finalizar con broche de oro, como dicen; quiero agradecer a Dios. Sólo tú sabes lo que esto ha costado y lo que significa lograrlo. Gracias por estar desde el comienzo hasta el fin, te amo.

Añadiendo a este broche de agradecimientos, no podía dejar pasar a mi abuela. Ahora está en otro nivel, inmortalizada en mi memoria y en mi vida; gracias mami. No alcanzaste a leerlo, pero gracias a la vida alcancé a demostrártelo; “por fin nena...” El amor nunca dejará de ser.

Por último, como buena mexicana que se despide y no se va; quiero utilizar nuevamente esta oportunidad para decirle a TODOS los que atravesaron conmigo este proceso (los que me regalaron abrazos, ánimo, fuerza, regaños, café, comida, pastillas para la alergia, el dolor de cabeza o cuerpo, los que me dieron golosinas, artículos, y cuanta cosa inimaginable):
¡GRACIAS!

**"They say that the best blaze burns brightest when circumstances are at their worst." —
Howl's Moving Castle.**

DEDICATORIA

A mi abuela, mi raíz, mi Flor.

Te

extrañaré

siempre.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
ANTECEDENTES.....	3
1.1 EL CHILE HABANERO	3
1.2 LOS GEMINIVIRUS	4
1.2.1 Begomovirus.....	5
1.2.2 Transmisión e infección de los begomovirus	6
1.2.3 <i>Pepper golden mosaic virus (PepGMV)</i>	8
1.2.4 Manejo y control de los begomovirus	9
1.3. LA NUTRICIÓN MINERAL.....	10
1.3.1 Nutrición Nitrogenada	12
1.4 SISTEMAS DE DEFENSA EN PLANTAS	15
JUSTIFICACIÓN.....	16
HIPÓTESIS	17
OBJETIVO GENERAL.....	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	18
CAPÍTULO II.....	19
“CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE <i>Capsicum chinense</i> VAR. JAGUAR EN DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO Y RELACIONES DE NITRATO/AMONIO”	19

2.1 INTRODUCCIÓN.....	19
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
2.2.1 Área de estudio.....	20
2.2.2 Material vegetal.....	20
2.2.3 Tratamientos de nitrógeno	20
2.2.4 Análisis fisiológicos	21
2.2.5 Análisis de datos.....	22
2.3 RESULTADOS.....	22
2.3.1 Evaluación de las características físico-químicas de los tratamientos nitrogenados.....	22
2.3.2 Crecimiento y desarrollo de <i>Capsicum chinense</i> var. Jaguar expuestas a diferentes concentraciones de nitrógeno y relaciones de nitrato/amonio	24
2.4 DISCUSIÓN.....	27
2.5 CONCLUSIÓN.....	29
CAPÍTULO III.....	31
“RESPUESTA DE PLANTAS DE <i>Capsicum chinense</i> VAR. JAGUAR EXPUESTAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO Y RELACIONES DE NITRATO/AMONIO CONTRA INFECCIONES DEL <i>PepGMV</i> ”.....	31
3.1 INTRODUCCIÓN.....	31
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.2.1 Material vegetal y Tratamientos de Nitrógeno	33
3.2.2 Preparación de clonas infectivas e inoculación	34
3.2.3 Sintomatología de la infección durante el curso temporal	35

3.2.4 Extracción de ADN y detección molecular del <i>PepGMV</i>	35
3.2.5 Análisis de datos.....	37
3.3 RESULTADOS.....	38
3.3.1 Infección del <i>PepGMV</i>	38
3.3.2 Detección molecular del <i>PepGMV</i>	44
3.4 DISCUSIÓN.....	45
3.5 CONCLUSIÓN	45
CAPÍTULO IV	47
CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS	47
4.1 CONCLUSIONES GENERALES.....	47
4.2 PERSPECTIVAS	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Organización genómica de los begomovirus.....	6
Figura 1.2. Transmisión de los begomovirus por <i>B. tabaci</i>	7
Figura 1.3. Ciclo de vida de los begomovirus.....	8
Figura 1.4. Captación, translocación, asimilación y movilización del Nitrógeno.....	13
Figura 1.5. Sistema de defensa de las plantas.....	14
Figura 2.1. Efecto del crecimiento de <i>C.chinense</i> en diferentes concentraciones de nitrógeno...25	
Figura 2.2. Raíces de <i>C.chinense</i> en diferentes concentraciones de nitrógeno a los 14 días.....25	
Figura 2.3 Plantas de <i>C.chinense</i> en diferentes concentraciones de nitrógeno a los 14 días....26	
Figura 3.1 Interacción entre la defensa de las plantas y la nutrición nitrogenada.....30	
Figura 3.2 Representación del dispositivo artesanal para la inoculación de las plantas por biobalística.....33	
Figura 3.3 Síntomas de la infección del <i>PepGMV</i> en plantas control de <i>C.chinense</i> en tierra a los 21 días después de inocular.....37	
Figura 3.4. Diagnóstico por PCR de la infección del <i>PepGMV</i> en plantas control de <i>C.chinense</i> en tierra a los 21 días después de inocular.....37	
Figura 3.5. Plantas de <i>C.chinense</i> inoculadas con <i>PepGMV</i> a los 7 días.....27	
Figura 3.6. Plantas de <i>C.chinense</i> inoculadas con <i>PepGMV</i> a los 14 días.....40	
Figura 3.7. Plantas de <i>C.chinense</i> inoculadas con <i>PepGMV</i> a los 21 días.....41	

Figura 3.8. Diagnóstico por PCR de la infección del *PepGMV* en plantas control de *C.chinense*
a los 21 días después de
inocular.....42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Elementos minerales.....11

Tabla 2.1 Tratamientos de Nitrógeno usados en plantas de *C.chinense* en condiciones controladas de crecimiento20

Tabla 2.2 Medición del curso temporal de las características físico-químicas de los tratamientos nitrogenados.....21

Tabla 3.1 Tratamientos de Nitrógeno usados en plantas de *C.chinense* en condiciones controladas de crecimiento32

Tabla 3.2 Perfiles de oligonucleótidos usados para la detección del *PepGMV*.....35

Tabla 3.3 Perfiles de amplificación para la detección del *PepGMV*.....35

Tabla 3.4 Representación del diseño experimental y número de plantas usadas en ensayo de infección del *PepGMV*.....35

ABREVIATURAS

AAP: Acquisition access period

ABA: Abscisic acid

AMT/MEP/RH (AMT): Ammonium transporter/methylammonium permease/Rhesus factor

AUX: Auxin

AzA: Azelaic acid

BR: Brassinosteroids

CK: Cytokinins

CP: Coat protein

CR: Common regions

DIR1: Defective in induced resistance 1

dsDNA: double-stranded DNA

ET: Ethylene

ETI: Effector triggered immunity

ETS: Effector triggered susceptibility

G3P: Glycerol-3-phosphate

GA: Gibberellic acid

GDH: Glutamate dehydrogenase

GS/ GOGAT: Glutamine synthetase/Glutamine oxoglutarate aminotransferase

HATS: High-affinity transport system

ICTV: International Committee on Taxonomy of Virus

IR: Intergenic region

ISR: Induced systemic resistance

JA: Jasmonic acid

LATS: Low-affinity transport system

LIR: Long intergenic region

MeSA: Methyl salicylate

MP: Movement protein

NHP: N-hydroxy pipelicolic acid

NiR: Nitrite reductase

NPF: Nitrate transporter 1/peptide transporter

NPR1: Nonexpressor of *pr* genes1

NR: Nitrate reductase

NRT2: Nitrate transporter 2

NSP: Nuclear shuttle protein

ORF: Open reading frame

PAMP/MAMP: Pathogen-associated molecular patterns/microbe-associated molecular pattern

PepGMV: *Pepper golden mosaic virus*

PepGMV-D: *Pepper golden mosaic virus* -Distorsión

PepGMV-Mo: *Pepper golden mosaic virus*-Moteado

PepGMV-Ser: *Pepper golden mosaic virus*-Serrano

PHYV: *Pepper huasteco yellow vein virus*

Pip: Pipelicolic acid

PR: Pathogenesis-related proteins

PRR: Pattern recognition receptors

PTI: Pattern-triggered immunity

R: Plant resistance proteins

RCR: Rolling circle replication

REn: Replication enhancer protein

Rep: Replication-associated protein

SA: Salicylic acid

SAR: Systemic acquired resistance

SIR: Short intergenic region

ssDNA: single-stranded DNA

TrAP: Transcriptional activator protein

RESUMEN

Los begomovirus causan pérdidas agrícolas que van del 30 al 100% de la producción. En la Península de Yucatán se ha detectado al *Pepper golden mosaic virus* (*PepGMV*), afectando principalmente a *Capsicum sp* y aún no se tiene un tratamiento adecuado para su control. La nutrición nitrogenada induce tolerancia al ataque de patógenos y existen estudios acerca de los efectos contrastantes del nitrato y el amonio sobre la respuesta de defensa de las plantas a hongos y bacterias, pero no en virus. Para conocer el efecto de la nutrición nitrogenada en la respuesta de plantas de chile habanero al (*PepGMV*), se evaluaron dos concentraciones de nitrógeno (1.25 mM y 5 mM), cada una con tres relaciones diferentes de NO_3^- : NH_4^+ (100, 80:20 y 50:50, respectivamente). Se observó que a la concentración de nitrógeno a 5 mM las plantas presentan un mejor crecimiento y desarrollo, que las relaciones NO_3^- : NH_4^+ al 50% tuvieron menor valor en todos los parámetros evaluados y que *C.chinense* en nuestro sistema de estudio es mejor una nutrición combinada de NO_3^- : NH_4^+ en 80:20%. Para evaluar la infección y la respuesta de las plantas con la nutrición, se inocularon las plantas con clones infectivos del *PepGMV* por medio de biobalística y se realizó un curso temporal de 21 días para observar la sintomatología. Los resultados obtenidos no mostraron alguna respuesta de las plantas infectadas con el *PepGMV* en los tratamientos de nitrógeno.

ABSTRACT

Begomoviruses cause agricultural losses ranging from 30 to 100% of production. *Pepper golden mosaic virus* (*PepGMV*) has been detected in the Yucatan Peninsula, affecting mainly *Capsicum sp.*, and there is still no adequate treatment for its control. Nitrogen nutrition induces tolerance to pathogen attack and there are studies about the contrasting effects of nitrate and ammonium on plant defense response to fungi and bacteria, but not on viruses. To determine the effect of nitrogen nutrition on the response of habanero pepper plants to *PepGMV*, two nitrogen concentrations (1.25 mM and 5 mM) were evaluated, each with three different $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ ratios (100, 80:20 and 50:50, respectively). It was observed that at the 5 mM nitrogen concentration the plants presented better growth and development, that the $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ ratios at 50% had lower values in all the parameters evaluated and that *C.chinense* in our study system is better with a combined nutrition of $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ at 80:20%. To evaluate the infection and the response of the plants with the nutrition, the plants were inoculated with infective clones of *PepGMV* by biobalistics and a time course of 21 days was carried out to observe the symptomatology. The results obtained did not show any response of *PepGMV*-infected plants to nitrogen treatments.

INTRODUCCIÓN

Capsicum sp. es uno de los cultivos de importancia económica mundial que se ve afectado por los begomovirus. Estos virus patógenos de plantas inducen al retraso en el crecimiento de la planta, clorosis y arrugamiento en las hojas y son causantes importantes de pérdidas económicas (Barchenger *et al.*, 2019). Algunas estrategias de control integrado se basan en el monitoreo de las poblaciones del insecto vector (*Bemisia tabaci*, mosquita blanca), el uso de pesticidas, saneamiento del sitio y la erradicación de maleza que puedan servir de reservorio. El mayor problema de los begomovirus reside en la frecuencia y evolución con la que aparecen, generando enfermedades que pueden resultar devastadoras, lo que hace que sean difíciles de controlar (Kumar *et al.*, 2017).

Existen plaguicidas químicos y biológicos que ayudan a controlar las poblaciones del insecto vector. Entre los insecticidas químicos más utilizados en México se encuentran los organofosforados como el paratión metílico, el metamidofós y el malatión; en cuanto a los insecticidas biológicos están los de origen vegetal, que abarcan al menos doce familias de especies vegetales (Zepeda-Jazo, 2018) y los bioinsecticidas formulados a base de hongos entomopatógenos (*Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Verticillium lecanii*). Estos bioinsecticidas presentan baja residualidad y en el caso de los hongos, su uso se ve limitado por las condiciones ambientales requeridas, esto hace desfavorable su empleo pese a la eficiencia en reducir las poblaciones del vector (Faria y Wraight, 2001). En el caso de los insecticidas químicos, los reportes demuestran la falta de perfiles toxicológicos, la posible inducción de resistencia en los insectos vectores, daños al ambiente y a la salud por riesgos de ingesta y exposición (Fao y Who, 2019).

López y colaboradores (2010), sugieren el uso racional y selectivo de insecticidas, integrado a la producción y liberación masiva de parasitoides (*Eretmocerus sp.*, *Encarsia sp.*). Sin embargo, ha resultado difícil de lograr en Latinoamérica.

La Ingeniería Genética es otra medida empleada para reducir la pérdida agrícola. Se han generado plantas transgénicas capaces de reducir los síntomas ocasionados por virus y se ha demostrado su eficiencia, durabilidad y seguridad (Prins *et al.*, 2008). A pesar de ello, existe un constante rechazo de la sociedad, de grupos y gobiernos hacia la manipulación genética, que por falta de información crea miedo y mitos; el control de las semillas por compañías

transnacionales y la falta de aplicación de tecnologías también juegan un papel fundamental referente a este tema, por mencionar algunas razones (Bolívar-Zapata, 2017).

En el control cultural, la nutrición mineral además de estar implicada con el crecimiento, el desarrollo, el rendimiento y la producción de las plantas también está relacionada con la resistencia y susceptibilidad ante las enfermedades. Algunos nutrientes esenciales como el N, K, P, S, Cl, B, Mn y Zn están involucrados en este mecanismo. En el caso del nitrógeno, se han reportado resultados contradictorios en su papel durante la interacción planta-patógeno (Dordas, 2008; Gutierrez, 2012).

Desde los 90's se encontró que existe una relación estrecha entre el hospedero, el patógeno y la forma de administrar el nitrógeno; la respuesta de la planta ante una enfermedad puede variar dependiendo de estos componentes (Huber y Watson, 1974). Zimmerman-Lax y colaboradores (2016), demuestran la reducción de la Mancha bacteriana del fruto causada por *Acidovorax citrulli* utilizando fertilización nitrogenada sólo con nitrato, en comparación con la fertilización combinada de nitrato y amonio. De igual manera, Abro y colaboradores (2013) demostraron la disminución en la patogenicidad del hongo *Botrytis cinerea* cuando se les administra a las plantas nitrógeno en forma de nitrato.

CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

1.1 EL CHILE HABANERO

Los chiles pertenecen a la familia Solanaceae y de acuerdo a Trópicos (2018), se clasifican taxonómicamente en:

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Superorden: Asteranae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Capsicum*

Se originaron en la región tropical de Sudamérica y después de las exploraciones al Nuevo Mundo se diversificaron mundialmente hasta las variedades que se conocen actualmente. El género *Capsicum* (del griego “*kapto*”, que significa morder), comprende entre 28 y 30 especies, siendo las más cultivadas: *Capsicum annum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum* y *C. pubescens*. México es el principal centro de diversidad genética y principal productor mundial (Missouri Botanical Garden, 2018; Silvar y García-González, 2016).

El chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) es un cultivo demandado por el mercado nacional e internacional por la diversidad de características que posee (Borges-Gómez *et al.*, 2014). En México se estima una producción anual de 20,829.61 t; Sinaloa es el principal estado productor (33%), seguido de Yucatán (12%) y Quintana Roo (10%) (SIAP, 2019).

Es consumido en fruto fresco, deshidratado y encurtido para el acompañamiento de platillos; en la industria se utiliza como material para la elaboración de una amplia variedad de productos como colorantes, resinas, salsas y pastas. Por las propiedades antiinflamatorias que posee la capsaicina se utiliza para fabricar ungüentos, lociones y cremas (Ruiz-Lau *et al.*, 2011;

SAGARPA, 2017).

En la Península de Yucatán el chile habanero es el más cultivado y distribuido de los chiles en general, se encuentra en diferentes variedades de formas, tamaños y colores. La variedad Jaguar es la más cultivada a nivel nacional (Meneses-Lazo *et al.*, 2018) y cubre el 80% de las siembras de chile habanero en el país (INIFAP, 2019).

Crece desde 90 cm en condiciones de campo hasta 1.8 m en invernadero, posee frutos uniformes de color verde esmeralda en estado sazón y anaranjado brillante en madurez total (ambos son muy atractivos para el mercado). Esta variedad está adaptada a las condiciones ambientales adversas del trópico (alta temperatura y humedad) y se desarrolla satisfactoriamente en suelos arcillosos (Ramírez *et al.*, 2018). De acuerdo a Macías y colaboradores (2013), los productores recomiendan las condiciones de 33°C y 80% de temperatura y humedad relativa, respectivamente, en el sistema de invernadero para una productividad ideal.

La producción del chile habanero puede afectarse por plagas como el picudo del chile (*Anthonomus eugeni*), el minador de hojas (*Liriomyza spp.*), el ácaro blanco (*Polyphagotarsonemus latus*), la araña roja (*Tetranychus sp.*) y la mosca blanca *Bemisia tabaci* (vector de Begomovirus) (Berny-Mier y Teran *et al.*, 2013; Pimentel *et al.*, 2015). También se afecta la producción por enfermedades como el damping-off (*Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia sp.*, *Fusarium sp.*, *Verticillium sp.*, *Alternaria sp.*) y la cenicilla (*Oidiopsis sp.*) que son ocasionadas por hongos; enfermedades como la mancha bacteriana (*Xanthomonas campestris*); las agallas originadas por nematodos (*Meloidogyne incognita*) y las infecciones por fitoplasmas y virus (Velásquez-Valle *et al.*, 2013).

1.2 LOS GEMINIVIRUS

"Tal vez se escarcha/ En este pueblo mañana a mañana/ Porque la hierba que vi en el campo del verano/ Ya se ha vuelto amarilla".

Este poema japonés de la emperatriz Koken (752 a.C.) se atribuye como el posible primer registro de una enfermedad vírica en plantas causada por los geminivirus (Saunders *et al.*, 2003).

Geminiviridae es una familia de virus patógenos de plantas, pertenecientes al Orden: *Glepafuvirales* y Clase: *Repensiviricetes*. Infectan cultivos de importancia mundial como frijol, yuca, tomate, papa, arroz, cítricos y chiles. Posee 483 especies., comprendidas en 9 géneros: *Becurtovirus* (3 spp.), *Begomovirus* (424 spp.), *Capulavirus* (4 spp.), *Curtovirus* (3 spp.), *Eragrovirus* (1 sp.), *Grablovirus* (3 spp.), *Mastrevirus* (41 spp.), *Topocuvirus* (1 sp.) y *Turncurtovirus* (3 spp.) (Cantú-Iris *et al.*, 2019; ICTV, 2020). Los geminivirus se caracterizan por la estructura única de partículas gemelas simétricas (geminadas) en forma de icosaedros incompletos, formados por proteína de la cápside y se clasifican de acuerdo al vector, al rango del hospedero y la organización de su genoma (Hipp *et al.*, 2017).

Son virus pequeños, con un tamaño aproximado del virión de 22 x 38 nm, una cápside proteica sin envoltura y el genoma (monopartita o bipartita) de 2,5 a 5,2 kb. Se replican por círculo rodante (RCR) y por replicación dependiente de la recombinación; no codifican ADN polimerasa, por lo que dependen de factores del hospedero para llevar a cabo la infección. Como se mencionó anteriormente, infectan gran diversidad de plantas (monocotiledóneas y dicotiledóneas) de importancia económica mundial y principalmente causan enfermedades en las regiones tropicales y subtropicales. Los insectos del orden Hemiptera (mosca blanca, chicharritas y pulgones) son los responsables primarios de la transmisión de los geminivirus (Zerbini *et al.*, 2017).

1.2.1 Begomovirus

Begomovirus es el género más extendido y diverso mundialmente; causa pérdidas agrícolas que van del 30 al 100% de la producción. Son transmitidos de manera circulativa persistente por la mosquita blanca *Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera: Aleyrodidae) y se dividen principalmente en virus monopartitas y bipartitas del Viejo Mundo (hemisferio oriental, Europa, África, Asia) y los virus bipartitas del Nuevo Mundo (hemisferio occidental). Su genoma es de ADN y puede ser monocatenario (2.7 – 5.4 kb) o bicatenario (ADN-A y ADN-B, 2.7 kb c/u). Algunos begomovirus presentan satélites de 1.3 a 1.4 kb) (Khan *et al.*, 2012; Hesketh *et al.*, 2018).

El componente A es esencial para replicación y encapsidación; posee cinco marcos de lectura abiertos (ORF): *V1/AV1* en sentido del virión codifica para la proteína de la cápside (CP); los siguientes en antisentido del virión, *C1/AC1* para la proteína iniciadora de la replicación (Rep),

C2/AC2 para la proteína activadora de la transcripción (TrAP), *C3/AC3/Rep* para la proteína potenciadora de la replicación (REn) y *C4/AC4* asociado al desarrollo de síntomas e infección. El componente B es requerido para el movimiento y la producción de síntomas; este componente de virus bipartitas tiene dos ORF: *BV1* en sentido del virión que codifica para la proteína nuclear de traslado (NSP) y *BC1* en antisentido para la proteína de movimiento (MP). Los begomovirus del Nuevo Mundo no poseen el gen *av2*, también involucrado en el movimiento (Snehi *et al.*, 2017; Torres-Herrera *et al.*, 2019; ICTV, 2020. Figura 1.1).

Ambos componentes (A y B) comparten alguna similitud de secuencia (~ 200 nt) en la región común (CR) dentro de la región intergénica (IR), la cual se utiliza para diferenciar entre especies e identificar los componentes. Conforme a esto, los begomovirus se dividen en virus del Viejo Mundo, Nuevo Mundo, sweepovirus y legumovirus. Para algunos de estos virus (mayormente del Viejo Mundo) existe una asociación con satélites pequeños de ADN (alfasatélites, betasatélites y deltasatélites) (Fiallo-Olivé *et al.*, 2020).

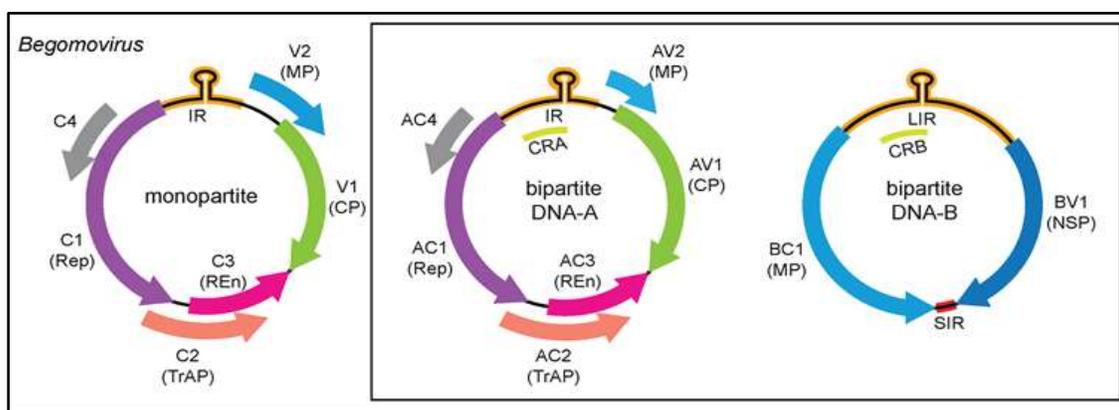


Figura 1.1. Organización genómica de los begomovirus.

Los ORF en sentido del virión se representan con "V", aquellos en sentido complementario o antisentido con "C". CR, regiones comunes (A y B); IR, región intergénica (corta-SIR, larga-LIR). Proteínas codificadas: CP, proteína de la cubierta; Rep, proteína asociada a la replicación; TrAP, proteína activadora de la transcripción; REn, proteína potenciadora de la replicación; MP, proteína de movimiento; NSP, proteína lanzadera nuclear (Fuente: ICTV, 2020).

1.2.2 Transmisión e infección de los begomovirus

Los begomovirus son transmitidos por *B. tabaci* de manera persistente, circulativa y no propagativa. El período de acceso de adquisición (AAP), es el proceso desde la obtención de las partículas virales por el estilete hasta la translocación de las mismas hacia el esófago, el

intestino medio y la cámara de filtrado del insecto (15 a 60 min). Durante el período de latencia (la circulación del virus en el cuerpo del vector) las partículas virales interactúan con proteínas chaperonas (HSP70) y proteínas de bacterias endosimbiontes (GroEL), para atravesar el epitelio de intestino medio hacia la hemolinfa y protegerse de la degradación (8 h). Los virus llegan a las glándulas salivales primarias por endocitosis para volverse a inocular en el siguiente período de alimentación (15-30 min) (Varun y Saxena, 2017; Rana *et al.*, 2019; Fiallo-Olivé *et al.*, 2020; Figura 1.2).

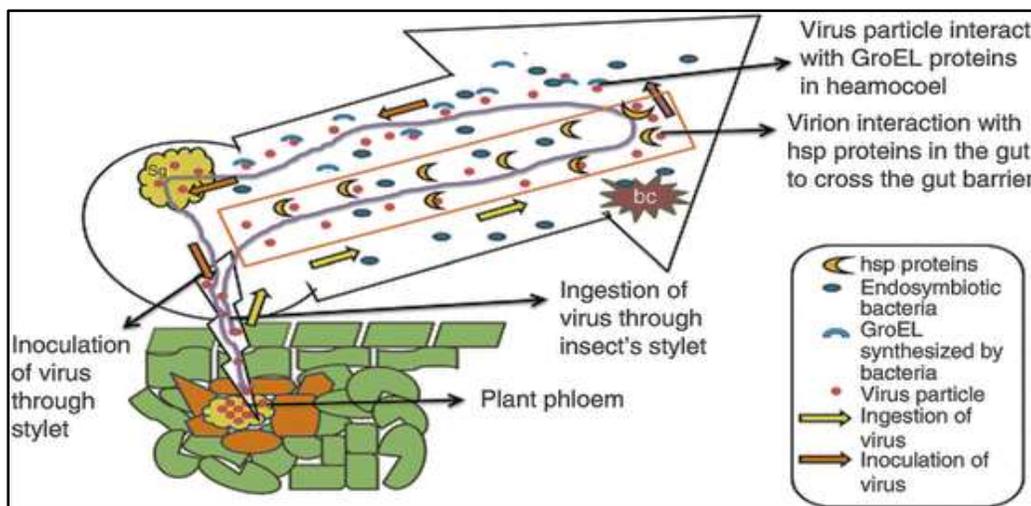


Figura 1.2. Transmisión de los begomovirus por *B. tabaci*.

Bacterias simbióticas de *B. tabaci*, bc; glándulas salivales, Sg (Fuente: Varun y Saxena, 2017).

El ciclo de vida de estos virus se desarrolla por replicación de círculo rodante (RCR) y replicación dependiente de la recombinación. Para llevarlo a cabo, el virus requiere proteínas propias, así como proteínas y factores celulares del hospedero. La infección comienza en las células del floema con la liberación del material genético (ssDNA) en el citoplasma, su movimiento al núcleo y la síntesis del dsDNA, quien se replica y empaqueta en las histonas del hospedero. La RNA polimerasa II del hospedero se utiliza para transcribir los genes virales. La proteína Rep se une a la secuencia de origen en la región CR, corta el ADN y se asocia con factores del hospedero. Rep aumenta la replicación viral e interactúa con Rep (Figura 1.3). TrAP es responsable de la patogenicidad y suprime el silenciamiento génico (transcripcional y postranscripcional). La proteína CP es esencial para la especificidad del vector, la importación nuclear y el desarrollo de síntomas. La proteína NSP se encarga de la importación nuclear (por medio de la unión del ssDNA) y la MP se requiere para la propagación viral (Hanley-Bowdoin *et al.*, 2013; Pradhan *et al.*, 2017; Beam y Ascencio-Ibáñez, 2020).

Ambas proteínas son indispensables para que se realice la infección sistémica y al interactuar entre ellas contribuyen al movimiento inter e intracelular del ADN viral. De acuerdo a Martins y colaboradores (2020), ahora se sabe que la proteína NSP transloca de forma nucleocitoplasmática al ADN viral a través de los poros nucleares, en tanto que la proteína MP lo hace de célula a célula a través de los plasmodesmos.

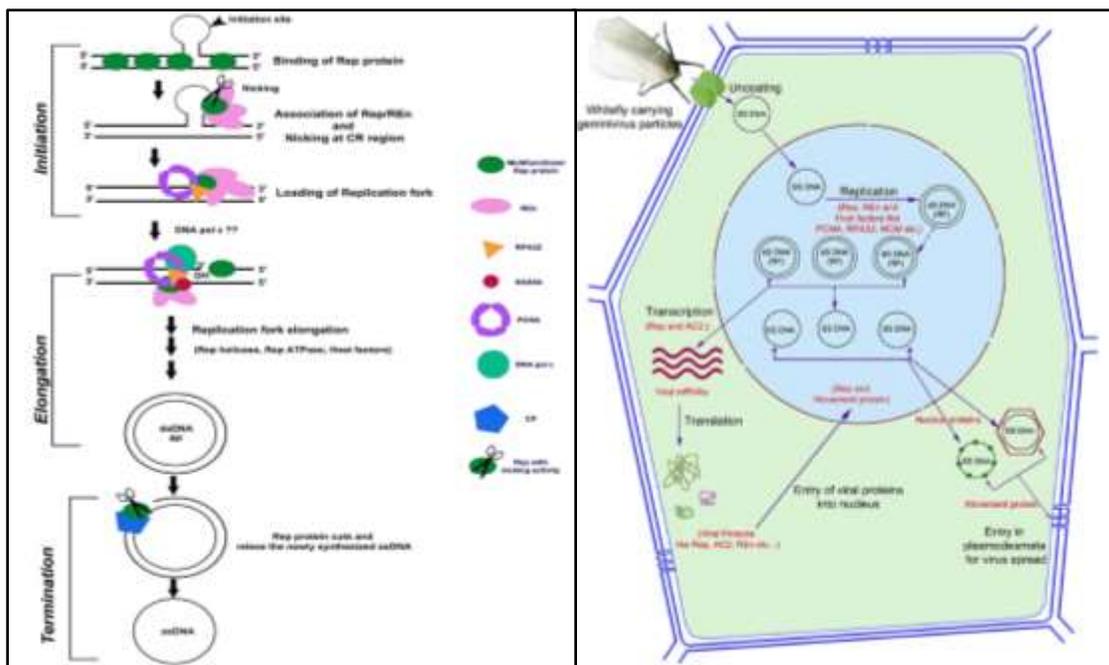


Figura 1.3. Ciclo de vida de los begomovirus

A) Pasos de la replicación viral. Inicialización: Reconocimiento de Rep con los iterones de CR y asociación de Ren. Unión de proteínas a la secuencia de origen y formación de la horquilla de replicación (TAATATT↓AC; ↓ sitio de corte). Alargamiento: Asociación de factores del hospedero con Rep para la RCR. Terminación: Liberación del ssDNA vírico. B): Inoculación del virus a la célula vegetal por *B. tabaci*; liberación del material genético viral y replicación; movimiento intra e intercelular para propagar la infección viral. Fuente: Modificado de Pradhan et al., 2017).

1.2.3 Pepper golden mosaic virus (PepGMV)

A través de la secuenciación de los componentes genómicos, el rango de hospederos, los síntomas y el tipo de transmisión se han caracterizado a dos begomovirus como principales

patógenos de chiles que se encuentran ampliamente distribuidos en México y que pueden estar presentes en la planta de forma individual o juntos causando una infección mixta: el *Pepper huasteco yellow vein virus (PHYVV)* y el *Pepper golden mosaic virus (PepGMV)* (Mejía-Teniente *et al.*, 2015). Este último, designado primeramente como *Serrano golden mosaic virus (SGMV)* y después renombrado por el ICTV (International Committee on Taxonomy of Virus), fue el primer begomovirus descrito como patógeno de *Capsicum sp* después de diversos aislamientos en Sonora, Sinaloa, Texas, Tamaulipas y Costa Rica a finales de los 80's y principios de los 90's, durante la epidemia de enfermedades víricas causadas por la mosquita blanca en el suroeste de los Estados Unidos, México, el Caribe y América Central (Brown *et al.*, 2005).

El *PepGMV* se encuentra distribuido en el Continente Americano (Estados Unidos de América, México, Guatemala, Honduras, Nicaragua y Costa Rica) y es un virus bipartita del Nuevo Mundo que codifica para seis proteínas. Las plantas hospederas reportadas son chile, tomate, tabaco y otras solanáceas. Los síntomas típicos inducidos por *PepGMV* en chile son mosaicos amarillos, arrugamiento de la hoja y atrofia de la planta (Carrillo-Tripp *et al.*, 2007; EPPO, 2018).

El tipo de mosaico que se produce en las plantas puede variar dependiendo la cepa del virus; siendo así: Mosaico dorado-clorótico para la cepa *PepGMV-Ser* (Serrano), mosaico verde-amarillo para la cepa *PepGMV-Mo* (Moteado) y mosaico leve-distorsionado para la cepa *PepGMV-D* (Distorsión) (Sastry *et al.*, 2019). Las condiciones ambientales, la variedad del cultivo y la infección simultánea con otros virus también pueden alterar la sintomatología; se ha observado en chiles que el *PepGMV* es más agresivo cuando se encuentra de forma individual en la planta que cuando está acompañado del *PHYVV*, lo que ocasiona una reducción de sus síntomas (Torres- Reveles *et al.*, 2012).

1.2.4 Manejo y control de los begomovirus

El amplio rango de hospederos y la distribución mundial de los begomovirus, así como, la diversidad biológica, los hábitos polífagos y el aumento de las poblaciones del vector, son algunos de los factores que hacen a estos virus patógenos serios para la agricultura. Las interacciones coevolutivas con sus plantas hospederas y la mosquita blanca, ocasionan que su

control no sea tan simple, logrando incrementar su virulencia y la devastación de los cultivos (Seal *et al.*, 2006).

Es importante conocer la biología del vector y el patógeno para planear un manejo integrado más eficiente. Las estrategias fitosanitarias que se usen también dependerán de la región y el tipo de producción, se recomienda como primera medida el uso de cultivares resistentes (reproducción tradicional o transgénicos), tanto a begomovirus como al vector (Leke *et al.*, 2013; Jones, 2020).

El empleo de plantas transgénicas resistentes es útil para el manejo de los begomovirus, sin embargo, su uso es controversial por la falta de aprobación social. Para las especies de *Capsicum* no hay cultivares resistentes disponibles comercialmente, por lo que se sugieren, campos libres de mosquita blanca, eliminación temprana de malezas y plantas que presenten síntomas, monitoreo del vector y evitar el cultivo consecutivo (Rojas *et al.*, 2018).

1.3. LA NUTRICIÓN MINERAL

La fertilización surge a principios del siglo XIX como un recurso para optimizar la producción agrícola y satisfacer las necesidades alimentarias de la población. Dentro de sus objetivos se encuentran la nutrición de las plantas y la protección del medio ambiente (McGrath *et al.*, 2014). Desde sus inicios, la fertilización ha logrado un incremento en los rendimientos de producción de los cultivos y cambios en la composición bioquímica de las plantas (aumento en el contenido de proteínas, cambios en la composición de aminoácidos, defensa ante patógenos, entre otros) (Burriss, 1959). Sin embargo, el uso excesivo de fertilizantes (principalmente sintéticos), ha resultado contraproducente, logrando aumentar la contaminación ambiental y el deterioro de los suelos (Han *et al.*, 2015). Por eso, es importante entender las interacciones entre los cultivos (genotipo, fisiología, bioquímica), el ambiente en el que se encuentran (fertilidad del suelo, recursos bióticos y abióticos) y los nutrientes minerales; integrando estos factores se mejoran las prácticas agrícolas y los estudios de nutrición vegetal (Osvalde, 2011).

En cuanto a la nutrición mineral, se denomina así al proceso de absorción y asimilación de los elementos minerales que se encuentran disponibles en el ambiente para ser utilizados en los procesos metabólicos necesarios para el buen funcionamiento de las plantas. Los elementos

minerales se clasifican según su requerimiento (Tabla 1.1) en macronutrientes (0.2 – 4.0 % peso seco) y micronutrientes (menos de 0.2 % peso seco) (Pandey, 2015). Se designa como elemento mineral esencial si cumple los siguientes criterios: (a) posee un efecto positivo en el crecimiento y reproducción, (b) no sea reemplazable, (c) que tenga una acción directa o indirecta en el metabolismo de las plantas. La presencia e interacción de estos nutrientes proporciona un desarrollo óptimo de las plantas y suministrarlos de forma controlada ha permitido una buena cantidad y calidad de cosecha en los cultivos (Marschner, 1983; Mikkelsen, 2016). Como ejemplo, Islam y colaboradores (2018), observaron un mejor desarrollo en el crecimiento, tamaño y producción de frutos en *Capsicum sp* integrando N y P.

Tabla 1.1 Elementos minerales

Clasificación	Mineral	Forma disponible	Función en plantas	Síntomas de deficiencia
Macronutrientes	Nitrógeno (N)	NO_3^- NH_4^+	Crecimiento y desarrollo; principal constituyente de proteínas, ácidos nucleicos y aminoácidos.	Atrofia; clorosis.
	Fósforo (P)	HPO_4^{2-} H_2PO_4^-	Almacenamiento de energía y transporte; desarrollo de raíz, flores, semillas y frutos; constituyente de nucleótidos.	Atrofia; coloración oscura a azul verdosa en hojas viejas.
	Potasio (K)	K^+	Activador de enzimas, síntesis de proteínas; balance osmótico.	Clorosis en los bordes de las hojas; crecimiento lento.
	Calcio (Ca)	Ca^{2+}	Funcionamiento de membranas celulares; activador de enzimas.	Color marrón en puntas de raíces en crecimiento; plegamiento entre hojas.
	Azufre (S)	SO_4^{2-}	Principal constituyente de coenzimas, vitaminas y proteínas	Clorosis en hojas jóvenes; retraso en crecimiento y madurez.
	Magnesio (Mg)	Mg^{2+}	Involucrado en la fotosíntesis; activador de enzimas; estructura del ribosoma.	Clorosis en hojas viejas; tejido amarillo, bronce o rojo entre las venas.
Micronutrientes	Hierro (Fe)	Fe^{2+} Fe^{3+}	Síntesis de clorofila; metabolismo de fotosíntesis y respiración; activador de enzimas	Clorosis en venas de hojas jóvenes; coloración blanca en hojas nuevas.
	Manganeso (Mn)	Mn^{2+} Mn^{3+}	Involucrado en la fotosíntesis; activador de enzimas.	Clorosis en tejidos jóvenes
	Zinc (Z)	Zn^{++}	Activador de enzimas; síntesis de proteínas.	Clorosis basal en hojas jóvenes.
	Cobre (Cu)	Cu^{++}	Asociado a reacciones redox, respiración, síntesis y estabilidad de clorofila.	Crecimiento reducido; distorsión de hojas jóvenes.
	Boro (B)	H_3BO_3	Estabilidad de la pared celular; crecimiento de raíz; formación de semillas.	Retraso en el crecimiento; engrosamientos de hojas.
	Molibdeno (Mo)	MoO_4	Involucrado en el metabolismo del nitrógeno; constituyente de enzimas.	Clorosis en hojas viejas; enrollamiento y necrosis en el margen de las hojas; atrofia.

	Cloro (Cl)	Cl^-	Involucrado en el balance osmótico y la fotosíntesis.	Clorosis en hojas jóvenes; marchitamiento de la planta.
	Niquel (Ni)	Ni^{2+}	Constituyente de enzimas	Necrosis en hojas

Fuente: (Miller, 2014; Silva y Uchida, 2000; Vatansever et al., 2017).

1.3.1 Nutrición Nitrogenada

El nitrógeno (N) es uno de los elementos más absorbidos por las plantas (de forma natural) y el más utilizado para fertilizar en las prácticas agrícolas. Es responsable del desarrollo del área foliar (número y tamaño de hojas) y es el principal componente de aminoácidos, proteínas y ácidos nucleicos; además, interviene en la promoción de la fotosíntesis (Torres-Olivera *et al.*, 2014).

Se encuentra disponible en el suelo por medio de diversas fuentes: a) principalmente nitrógeno molecular de la atmósfera (fijado biológicamente por microorganismos), b) combinado como materia orgánica y mineral, y c) administrado externamente a través de fertilizantes para la implementación de cultivos (Stevenson y Stevenson, 1982).

La variación en la disposición del nitrógeno en el suelo está relacionada a factores bióticos (microorganismos) y abióticos (la temperatura, el pH y los microorganismos presentes); estos pueden convertir el nitrógeno inorgánico en nitrógeno orgánico (inmovilización) y el nitrógeno orgánico en inorgánico (mineralización). La pérdida de este mineral en los suelos ocurre mayormente por procesos como la lixiviación, la desnitrificación, la volatilización y la remoción de cultivos (Mosaic Crop Nutrition, 2020.).

En su forma inorgánica se encuentra principalmente como nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+). En promedio la concentración en los suelos varía de 2-5 mM y de 20-200 μM . Su captación, translocación, asimilación y movilización se rige por múltiples interacciones de factores genéticos y ambientales. El NO_3^- se reduce primero a nitrito (NO_2^-) por la nitrato reductasa (NR) en el citoplasma y después a NH_4^+ por la nitrito reductasa (NiR) en plástidos y la vía glutamina sintetasa/glutamina-2 oxoglutarato aminotransferasa (GS / GOGAT) en plástidos y citoplasma (Owen y Jones, 2001; Xu *et al.*, 2012, Figura 1.4).

El sistema de transporte para NO_3^- y NH_4^+ se divide en sistema de baja afinidad (LATS) y sistema de alta afinidad (HATS). El NO_3^- es captado por dos familias de transportadores; NPF

(NITRATE TRANSPORTER 1 / PEPTIDE TRANSPORTER) y NRT2. El NH_4^+ es transportado por la superfamilia AMT / MEP / Rh (AMT). La actividad de LAST y HAST depende del suministro de nitrógeno y el gradiente electroquímico, pudiendo actuar algunos transportadores con doble afinidad (Fan *et al.*, 2017; Kiba y Krapp, 2016).

El N es incorporado al metabolismo de los aminoácidos durante la transaminación y re-asimilación. Las enzimas GS / GOGAT sintetizan aminoácidos a partir de glutamina (L-Gln) y glutamato (L-Glu), el cuál es desaminado por la glutamato dehidrogenasa (GDH) para liberar NH_4^+ . La asimilación del N también está relacionada con el metabolismo del carbono, ya que se requieren esqueletos carbonados para la producción de aminoácidos y proteínas necesarios para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Carlsson *et al.*, 2017). El metabolismo de aminoácidos, azúcares, recirculación de nutrientes y transportadores de nitrato hacen posible la movilización del nitrógeno. Por ejemplo, durante la senescencia se recicla el N para el desarrollo de hojas nuevas, flores y frutos (Bieker y Zentgraf, 2013).

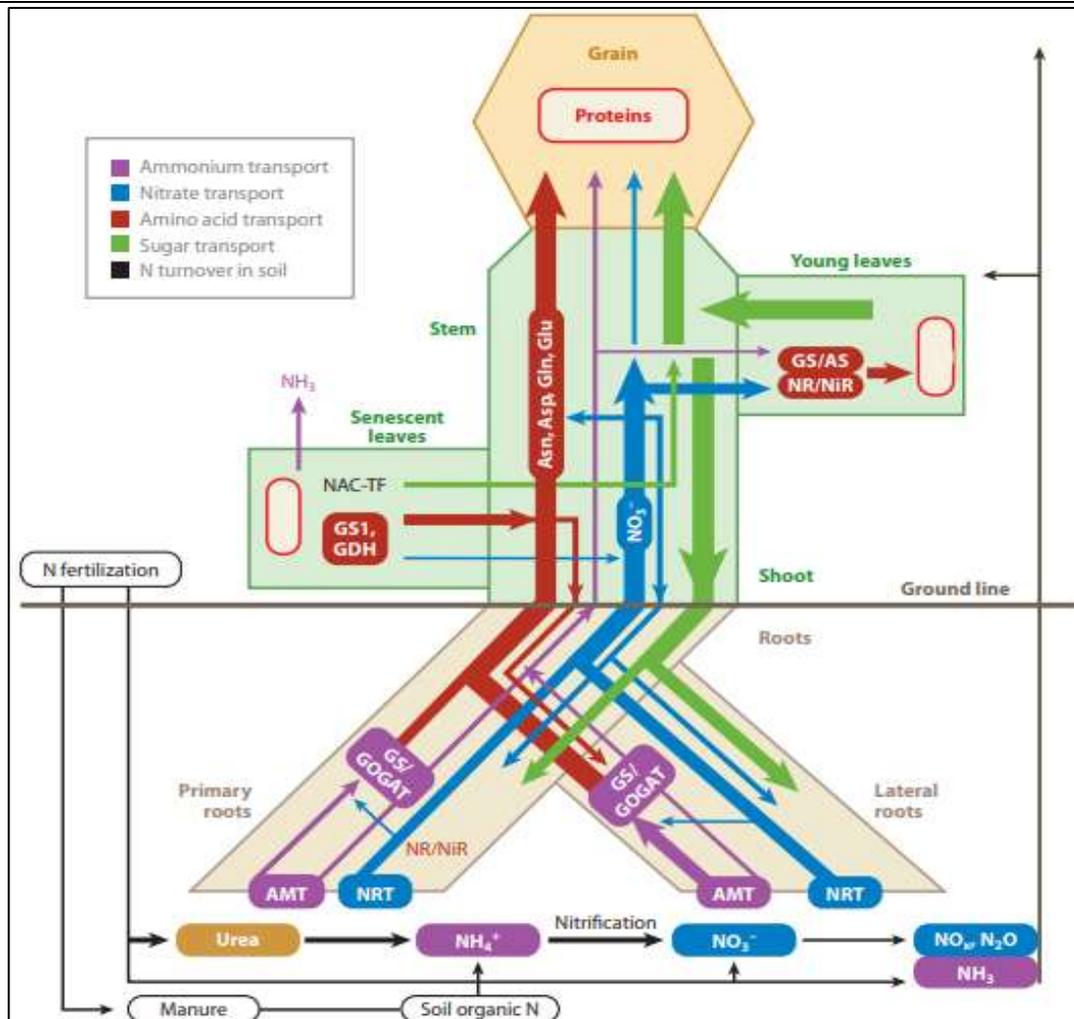


Figura 1. 4. Captación, translocación, asimilación y movilización del Nitrógeno.

Fuente: Xu et al., 2012

Una relación óptima de este mineral satisface las necesidades de nutrición y producción, su déficit retrasa el crecimiento y genera clorosis en hojas (inferiores y viejas); por el contrario, un exceso causa una coloración verde intensa y plantas altas con tallos débiles, por la acumulación del mineral. El exceso de NH_4^+ causa toxicidad exponiendo lesiones en tallos, raíces y márgenes de la hojas (Mccauley *et al.*, 2011). Si hablamos de efectos negativos por excedentes de nitrógeno, se reconoce que el 60% de la contaminación mundial por nitrato se debe a la agricultura; por tanto, es indispensable encontrar soluciones que mitiguen esta problemática (Shukla y Saxena, 2019).

1.4 SISTEMAS DE DEFENSA EN PLANTAS

El sistema de defensa de las plantas presenta dos tipos de mecanismos: formación de barreras mecánicas y metabolitos de defensa (Schumann *et al.*, 2010). La respuesta inmune basal de las plantas se llama Inmunidad Activada por PAMP (PTI) y comienza con el reconocimiento de los Patrones Moleculares Asociados a Patógenos/Microbios (PAMP/MAMP). Para bloquear esta defensa, los patógenos activan proteínas efectoras que modulan la inmunidad y permiten la infección (Bolton, 2009). Esta interacción se observa como una batalla coevolutiva entre las plantas por defenderse, las cuales activan los Receptores de Reconocimiento de Patrones (PRR), dando inicio a diversos eventos de señalización. Los patógenos adquirieron moléculas que suprimen la PTI y promueven su virulencia, resultando una Susceptibilidad Activada por el Efector (ETS). A la par, las plantas adquirieron proteínas de Resistencia (R) que reconocen a estos efectores y emiten como consecuencia una respuesta inmune secundaria llamada Inmunidad Activada por el Efector (ETI) (Pieterse *et al.*, 2009, Figura 1.5).

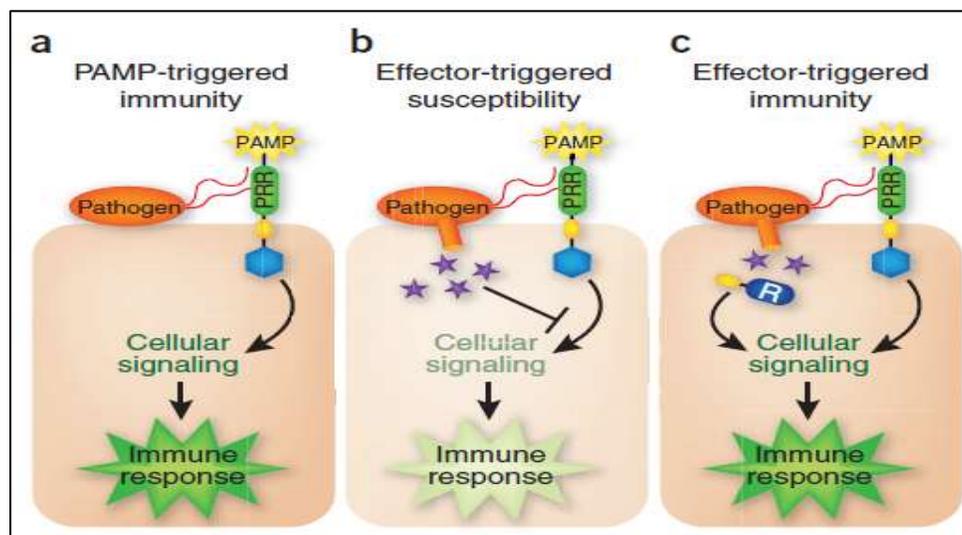


Figura 1.5. Sistema de defensa en las plantas.

Respuesta inmune basal: a) Inmunidad Activada por Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMP), b) Susceptibilidad Activada por el Efector (ETS) y c) Inmunidad Activada por

el

Efector (ETI). Fuente: Pieterse *et al.*, 2009.

Después del reconocimiento del patógeno, comienza una reacción en cascada de señalización en la planta para activar las vías de resistencia sistémica que iniciarán la expresión de los genes de defensa. La Resistencia Sistémica Inducida (ISR) se encuentra mediada por Etileno

(ET) y Ácido Jasmónico (JA) y la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) comienza con la producción del Ácido Salicílico (SA) e induce la activación de las proteínas reguladoras NPR1, que coactivarán las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR) (Samaniego *et al.*, 2017).

Las dos vías de resistencia sistémica intervienen en la defensa ante virus; sin embargo, la vía de ISR se asocia en la defensa contra patógenos necrotróficos y organismos herbívoros (para infecciones virales podría afectar positiva y negativamente a las plantas), mientras que la respuesta mediada por SAR suele ser negativa ante patógenos víricos restringiendo la infección (Ghosh y Chakraborty, 2021). Además, es reconocida por su estabilidad, eficiencia a largo plazo (transgeneracional) y por controlar un amplio rango de patógenos biotróficos y hemibiotróficos. La respuesta de SAR inicia con la generación de señales en las primeras hojas infectadas y su movimiento a través de moléculas señal hacia tejidos distantes libres de patógenos (Ádám *et al.*, 2018).

Durante el inicio de la infección vírica ocurre un cambio en el potencial redox de las plantas (inducido por acumulación de SA) y se rompen los puentes disulfuro de la proteína NPR1 (que en condiciones basales permanece en el citoplasma como un oligómero); la proteína se traslada al núcleo en forma monomérica y ahí interactúa con el factor de transcripción TGA para promover la expresión de genes PR (Backer *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2018). Las proteínas PR actualmente se clasifican en 17 familias según sus propiedades y funciones (Ebrahim *et al.*, 2012).

JUSTIFICACIÓN

Se han utilizado diferentes estrategias de control químico, biológico y genético para el manejo de begomovirus; no obstante, estas estrategias presentan algunas desventajas. Como parte del manejo cultural, la nutrición nitrogenada es una herramienta de control agrícola estudiada para

inducir tolerancia al ataque de patógenos. Existen estudios acerca de los efectos contrastantes del nitrato y el amonio sobre la respuesta de defensa de las plantas a hongos y bacterias, pero no en virus; por tanto, este trabajo tiene como objetivo establecer el efecto de la relación nitrato/amonio en respuesta a la infección por el *Pepper golden mosaic virus* (*PepGMV*) en plantas de chile habanero.

HIPÓTESIS

Las plantas de *Capsicum chinense* var. Jaguar fertilizadas con mayores concentraciones de nitrato inducirán tolerancia hacia el *PepGMV*.

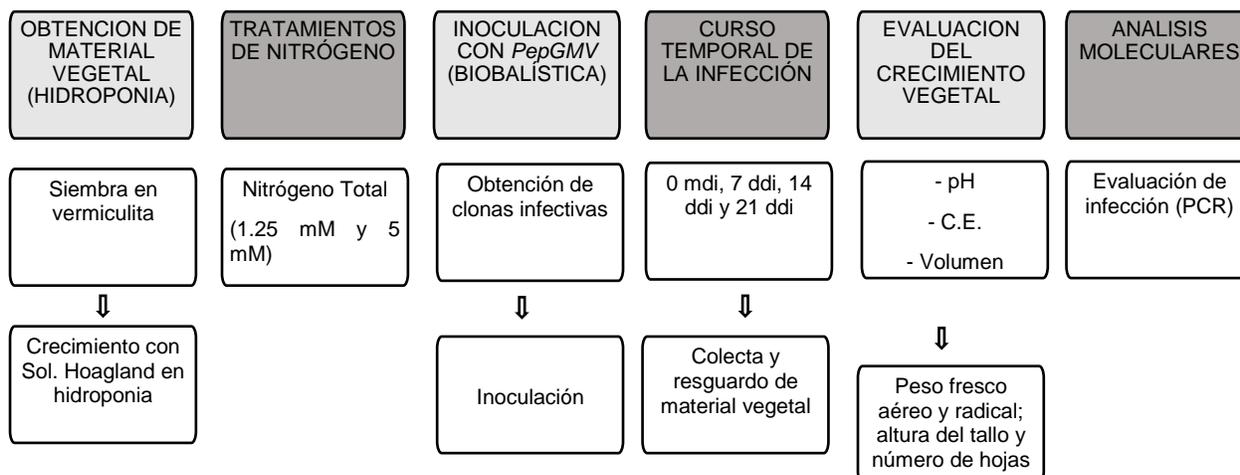
OBJETIVO GENERAL

Establecer el efecto de la relación nitrato/amonio en la respuesta de plantas de chile habanero al *Pepper golden mosaic virus* (*PepGMV*).

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el crecimiento y desarrollo de *Capsicum chinense* var. Jaguar expuestas a diferentes concentraciones de nitrógeno y relaciones de nitrato/amonio.

Determinar la infección del *PepGMV* en plantas de *Capsicum chinense* var. Jaguar expuestas a diferentes concentraciones de nitrógeno y relaciones de nitrato/amonio.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL


Se germinaron semillas de *C.chinense* var. Jaguar; posteriormente se realizó un tratamiento inicial en hidroponia con solución nutritiva Hoagland durante 2 semanas. Seguido, se les proporcionó a las plantas durante 1 mes los tratamientos nitrogenados con diferentes concentraciones de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+). Después de este tiempo, las plantas se inocularon con el *PepGMV* y se realizó un curso temporal de la infección durante 21 días. Las plantas que se evaluaron tenían 3-4 pares de hojas verdaderas y 2 meses de edad.

CAPÍTULO II

“CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE *Capsicum chinense* VAR. JAGUAR EN DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO Y RELACIONES DE NITRATO/AMONIO”

2.1 INTRODUCCIÓN

El uso de la nutrición nitrogenada favorece el rendimiento de los cultivos; el empleo del nitrato y el amonio como fertilizantes inorgánicos ha logrado aumentar la productividad agrícola. Además se ha propuesto su papel como moléculas señal involucradas en distintas vías fisiológicas de las plantas (Gojon, 2017).

Los factores fisiológicos de las plantas pueden variar según el cultivar y la forma de la fuente nitrogenada. La fuente de nitrógeno puede suministrarse por sí sola (nitrato o amonio) o en una nutrición combinada, la cual se ha observado proporciona mejor crecimiento, desarrollo y rendimientos en la producción (Carlisle *et al.*, 2012). El uso de amonio como fuente única es contradictorio, aunque algunos cultivos como el arroz o el té pueden preferirlo; en concentraciones elevadas, la acumulación de amonio en los tejidos vegetales resulta tóxico y reduce el tamaño y biomasa de la planta (Jian *et al.*, 2018).

La reacción de la planta ante estas dos formas puede ser común y a la vez diferente; la disponibilidad en la que se encuentren regulará la fluctuación de nutrientes, las respuestas a estrés y la arquitectura en las raíces (Ravazzolo *et al.*, 2020). Eid y colaboradores (2020), refieren que al usar el nitrato en cultivos de papa el crecimiento de brotes y tubérculos fue eficiente y después de este proceso las plantas preferían el amonio.

Un estudio realizado por Alejo-Santiago y colaboradores (2015), menciona que la biomasa en *Capsicum chinense* incrementa cuando se administra mayor concentración de nitrógeno, especialmente en forma de nitrato. Por su parte, Houdusse y otros (2007) señalan que la nutrición nitrogenada mixta es más eficiente en *Capsicum annuum*. Estas observaciones sugieren que para *Capsicum sp.*, la información acerca de los requerimientos nutricionales no es clara, pero se considera que para mejorar la producción con nutrición nitrogenada influyen factores como la variedad del cultivo, el ambiente, el sistema de cultivo, entre otras (Salazar-Jara y Juárez-López 2013).

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1 Área de estudio

El trabajo se realizó en los laboratorios BBMP 07, USF10 y en el cuarto de crecimiento BBMP 35 de la Unidad de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas (UBBMP) pertenecientes al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. (CICY).

2.2.2 Material vegetal

Se desinfectaron semillas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) var. Jaguar con etanol al 80% (v/v) y cloro diluido al 30% (v/v, CLORALEX®); se sometieron a imbibición con agua destilada estéril durante 24-72 h a 4°C en oscuridad (Celis-Arámbaro *et al.*, 2011). Posteriormente se sembraron en contenedores plásticos (500 ml) con vermiculita exfoliada estéril (AgroliTA® Accimin, S.A. de C.V.) a una profundidad aproximada de 1 cm.

Después de la germinación, se regaron cada siete días durante dos semanas con solución nutritiva base Hoagland (1/5 de fuerza iónica (I) y pH 6.8) que contenía los micronutrientes: 50 µM CaCl₂, 12.5 µM H₃BO₃, 1 µM MnSO₄, 1 µM ZnSO₄, 0.5 µM CuSO₄, 0.1 µM (NH₄)₆MoO₂₄, 0.1 µM NiCl, 10 µM Fe-EDTA y los macronutrientes: 1.2 mM KNO₃, 0.8 mM Ca(NO₃)₂, 0.2 mM KH₂PO₄, 0.2 mM MgSO₄ (Ruiz-Lau *et al.*, 2016, modificada). Comenzando la tercera semana, se removieron de la vermiculita y se transfirieron a hidroponía en contenedores plásticos con solución de Hoagland (14 días). Los primeros 4 días se mantuvieron en solución Hoagland completa, el día 5 y el día 12 se cambió la solución, suprimiendo las fuentes de N de los macronutrientes (se retiró el Ca (NO₃)₂ y se sustituyó el KNO₃ por KCl a 1 mM). Al día 14 las plantas se cambiaron a frascos individuales para comenzar los tratamientos de N.

Durante todo el experimento, desde la germinación hasta el curso temporal de la infección se mantuvo el material vegetal en un cuarto de crecimiento a una temperatura de 25 ± 2°C y con un fotoperiodo de 16/8 h de luz/oscuridad con iluminación artificial (intensidad promedio de 398 µM/m²/s).

2.2.3 Tratamientos de nitrógeno

Se transfirieron las plantas a vasos de vidrio individuales cubiertos con aluminio y se usaron 100 ml de las soluciones de nitrógeno durante un mes (las soluciones se cambiaron cada 4-5 días). Se evaluaron dos concentraciones de nitrógeno: 1.25 mM y 5 mM, cada una con tres relaciones de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ (100, 80:20 y 50:50, respectivamente); las mezclas se prepararon modificando los macronutrientes de la solución Hoagland descrita anteriormente. En todos los tratamientos se igualó la concentración de K (3.2 mM) y Ca (1 mM). Los tratamientos de 5 mM se designaron como T1 y los tratamientos de 1.25 mM como T2. Las relaciones de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ están señaladas con base al primero (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Tratamientos de Nitrógeno usados en plantas de *C.chinense* en condiciones controladas de crecimiento.

Tratamientos	[N Total] mM	$\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$	$\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ (mM)	Concentración de Macronutrientes (mM)						
				KH_2PO_4	MgSO_4	KNO_3	$\text{Ca} (\text{NO}_3)_2$	NH_4NO_3	KCl	CaCl_2
T1:N100	5	100:0	5:0	0.2	0.2	3	1	-	-	-
T1:N80	5	80:20	4:1	0.2	0.2	3	-	1	-	1
T1:N50	5	50:50	2.5:2.5	0.2	0.2	-	-	2.5	3	1
T2:N100	1.25	100:0	1.25:0	0.2	0.2	0.75	0.25	-	2.25	0.75
T2:N80	1.25	80:20	1:0.25	0.2	0.2	0.75	-	0.25	2.25	1
T2:N50	1.25	50:50	0.625:0.625	0.2	0.2	-	-	0.625	3	1

2.2.4 Análisis fisiológicos

Para saber si la concentración de nitrógeno y la forma inorgánica de suministro influye en el crecimiento y desarrollo de las plantas se realizaron dos evaluaciones. En la primera evaluación se determinaron las características físico-químicas pH y C.E. (Conductividad Eléctrica) de los medios nutritivos (tratamientos); así como la solución remanente durante un curso temporal desde el primer día de administración de los tratamientos (nominado como tiempo 0, T0) hasta la tercera semana después de suministrarlos a las plantas. Esto con el objetivo de conocer si existe diferencia entre los medios. Los valores de pH y C.E se tomaron con medidores de bolsillo HANNA® (HI9812/HI98312) y el valor del volumen residual es la solución remanente (ml) que se encontró en el frasco.

La segunda evaluación inició un mes después del suministro de los tratamientos con un curso temporal de 0,7,14 y 21 días; el tiempo 0 (T0) corresponde al primer día de muestreo después

de 4 semanas de administración de los medios. Se midieron los siguientes parámetros: Peso fresco aéreo, altura del tallo y peso fresco radical.

2.2.5 Análisis de datos

Para la evaluación de las características físico-químicas pH, C.E y la solución remanente, se seleccionaron diez plantas al azar por tratamiento de nitrógeno; y para las mediciones de peso fresco aéreo, altura del tallo y peso fresco radical se seleccionaron cinco plantas por tratamiento de nitrógeno, se tomaron en cuenta plantas que visiblemente no estén dañadas y se observen similares en el crecimiento (estas mismas plantas se usaron para el experimento descrito en el Capítulo III).

Los datos fueron evaluados con una prueba estadística de Kruskal-Wallis (nivel de significancia de 0.05) usando el Software InfoStat® ver. 2020 y graficados con SigmaPlot® ver.11.0.

2.3 RESULTADOS

2.3.1 Evaluación de las características físico-químicas de los tratamientos nitrogenados

En todas las características físico-químicas (pH, C.E y volumen residual) se encontró una diferencia significativa con valor de $p < 0.0001$. El T0 (Tiempo 0) fue el día de la administración de los medios nutritivos (tratamientos).

Tabla 2.2. Medición del curso temporal de las características físico-químicas de los tratamientos nitrogenados.

T0: Tiempo cero (valor inicial); T1: 5 mM, T2: 1.25 mM; 100, 80 y 50 se refiere a la relación de NO₃⁻ : NH₄⁺.

VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS	TRATAMIENTO	T0	SEMANA 1	SEMANA 2	SEMANA 3
pH	T1:N100	6.55 _{efgh}	7.61 _i	7.74 _i	7.76 _i
	T1:N80	6.58 _{fgh}	6.08 _{defg}	5.73 _{def}	4.73 _{cde}
	T1:N50	6.48 _{defg}	4.20 _{abc}	3.77 _a	3.16 _{ab}
	T2:N100	6.64 _{ghi}	6.85 _{hi}	6.54 _{fgh}	6.26 _{def}
	T2:N80	6.58 _{fgh}	4.95 _{bcd}	4.91 _{abcd}	5.12 _{cde}
	T2:N50	6.59 _{fghi}	4.23 _{abc}	4.18 _{abc}	4.11 _{abc}

C.E. (mS)	T1:N100	0.88 ^{efgh}	0.76 ^{defg}	0.51 ^{cdef}	0.36 ^{abc}
	T1:N80	0.99 ^{ghij}	0.80 ^{defgh}	0.47 ^{cde}	0.41 ^{bcd}
	T1:N50	1.22 ^{ij}	1.31 ^{ij}	1.50 ^j	1.10 ^{ghij}
	T2:N100	0.28 ^{abc}	0.11 ^{ab}	0.05 ^a	0.06 ^a
	T2:N80	0.48 ^{cde}	0.41 ^{bcd}	0.26 ^{abc}	0.32 ^{abc}
	T2:N50	0.92 ^{fghi}	1.04 ^{ghij}	0.88 ^{efgh}	1.10 ^{nij}
Volumen residual (ml)	T1:N100	100 ^f	61.24 ^{cde}	45.70 ^{abcd}	27.50 ^a
	T1:N80	100 ^f	63.14 ^{de}	36.90 ^{abc}	24.80 ^a
	T1:N50	100 ^f	53.72 ^{abcd}	41.90 ^{ab}	37.00 ^{ab}
	T2:N100	100 ^f	60.16 ^{bode}	61.90 ^{de}	64.70 ^{de}
	T2:N80	100 ^f	59.23 ^{bode}	60.40 ^{bode}	
	T2:N50	100 ^f	67.96 ^e	67.80 ^e	69.40 ^{ef}

El promedio inicial de pH para todos los tratamientos fue de 6.5. La relación de NO_3^- al 100% presentó el pH más alcalino y la relación 50:50% de NO_3^- : NH_4^+ el más ácido. Para el tratamiento de 5 mM de nitrógeno (T1), se observó una alcalosis consecutiva hasta la tercera semana en el medio nutritivo con la relación de NO_3^- al 100%, diferente a las relaciones de 80:20% y 50:50% de NO_3^- : NH_4^+ donde se observó acidosis (Tabla 2.2).

El tratamiento de 1.25 mM de nitrógeno (T2) presentó variaciones en la relación de NO_3^- al 100%; la semana 1 aumentó el valor de pH, pero las siguientes semanas bajó. Contrario a la relación 80:20% de NO_3^- : NH_4^+ donde los valores bajaron la primer y segunda semana y en la última semana subieron. Para la relación 50:50% se presentó acidosis desde la semana 1 hasta la semana 3.

Respecto a la Conductividad Eléctrica (C.E.), fue menor en la relación de NO_3^- al 100% y mayor en la relación 50:50% de NO_3^- : NH_4^+ . El tratamiento de nitrógeno a 5 mM (T1) disminuyó su C.E. en las relaciones de 100% de NO_3^- y 80:20 % de NO_3^- : NH_4^+ y varió en la relación de 50:50%. Las relaciones NO_3^- : NH_4^+ en el tratamiento de nitrógeno a 1.25 mM (T2) variaron, con excepción del NO_3^- al 100% que disminuyó consecutivamente durante las tres semanas.

Como se mencionó anteriormente, el volumen residual es la cantidad (ml) de solución remanente que se encontró en el frasco antes de hacer el cambio de medio. Se usaron 100 ml de solución inicial (T0) para cada planta. Todas las relaciones de NO_3^- : NH_4^+ del tratamiento de nitrógeno de 5 mM (T1) disminuyeron el volumen de solución durante las tres semanas,

opuesto al tratamiento de nitrógeno de 1.25 mM en el cual todas sus relaciones de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ aumentaron el volumen de solución residual de la semana 1 a la semana 3. Las relaciones de 50:50% en ambos tratamientos de nitrógeno presentaron mayor volumen remanente de solución al final del curso temporal.

2.3.2 Crecimiento y desarrollo de *Capsicum chinense* var. Jaguar expuestas a diferentes concentraciones de nitrógeno y relaciones de nitrato/amonio

En relación al crecimiento y desarrollo de las plantas, se observaron las diferencias del crecimiento durante el curso temporal comparando los tratamientos por día de colecta.

Para la variable de peso fresco aéreo existió diferencia significativa entre los tratamientos durante todo el curso temporal: $p < 0.0001$ día cero, $p < 0.0002$ día siete, $p < 0.0001$ día catorce y $p < 0.0001$ al día veintiuno. En cada tratamiento de concentración total de nitrógeno (1.25 mM y 5 mM), las relaciones de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ fueron iguales estadísticamente en todos los tiempos (Figura 2.1, A). La concentración de 5 mM presentó los valores más altos y el tratamiento T1:80 tuvo mayor peso fresco aéreo; diferente a la concentración de 1.25 mM que presentó valores bajos. Para esta concentración, la relación de 80:20 % de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ 80 fue la de menor peso el día veintiuno. Los tratamientos T1:50, T2:100, T2:50 en el día cero y veintiuno; T1:50, T2:100, T2:80 en el día siete; T1:100, T1:50 y T2:50 en el día catorce fueron iguales.

La altura del tallo fue diferente significativamente en todos los tiempos: día cero ($p < 0.0001$), día siete ($p < 0.0001$), día catorce ($p < 0.0001$) y día veintiuno ($p < 0.0001$). A partir del día siete hasta el veintiuno las plantas sometidas a la concentración de nitrógeno de 5 mM presentaron mayor altura del tallo comparadas con las plantas sometidas a 1.25 mM (Figura 2.1, B).

En orden descendente de la altura del tallo en el día cero, los tratamientos iguales estadísticamente fueron: T1:100 y T1:80, seguidos por los tratamientos T1:50 y T2:100; por último, T2:80 y T2:50 con los valores más bajos. Para el día siete y catorce, T1:100, T1:50 y T2:100 fueron iguales significativamente, siendo este último el de menor altura entre ellos; sin embargo, T2:80 y T2:50 tuvieron la menor altura de las dos concentraciones de nitrógeno, mientras que T1:80 fue el de mayor altura. Al día veintiuno, se observa en la gráfica como los valores de la altura del tallo van de mayor a menor de acuerdo a los tratamientos; T1:100 y T1:80 presentaron igualdad estadística, así como T1:50, T2:100 y T2:80, siendo el segundo el de mayor valor; y el tratamiento T2:50 fue el de menor altura.

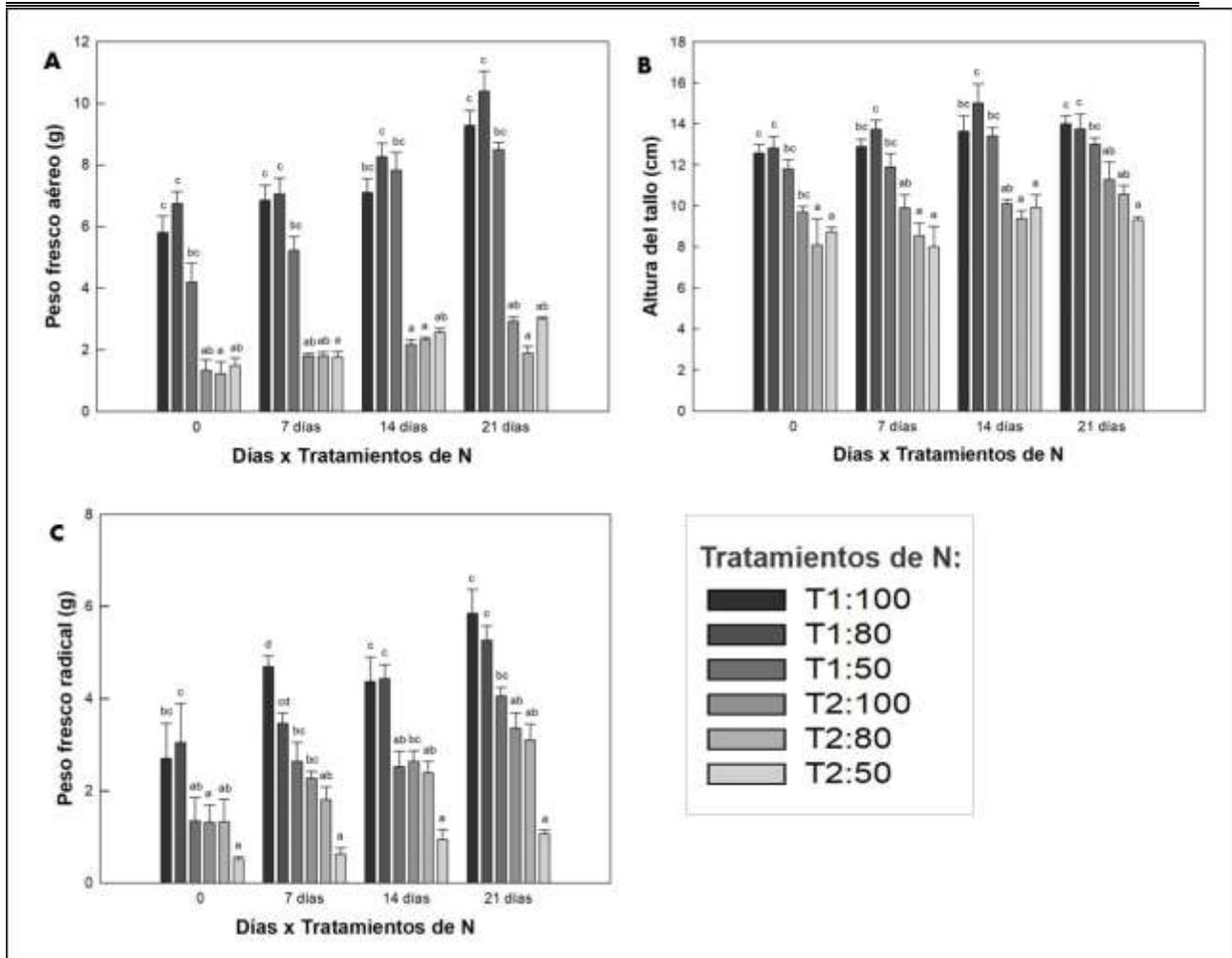


Figura 2.1. Efecto del crecimiento de *C. chinense* en diferentes concentraciones de nitrógeno.

Parámetros fisiológicos evaluados en un curso temporal de 21 días: A) Peso fresco aéreo (g), B) Altura del tallo (cm) y C) Peso fresco radical (g). T1: 5mM, T2: 1.25 mM. 100, 80 y 50 se refiere a la relación de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$.

En cuanto al peso fresco radical, también existió diferencia significativa durante el curso temporal de este experimento. Siendo los valores para el día cero, siete, catorce y veintiuno los siguientes: $p 0.0004$, $p < 0.0001$, $p 0.0002$ y $p 0.0001$, respectivamente.

Los tratamientos T1:100 y T1:80 demostraron los valores más altos estadísticamente durante los días cero, siete y catorce. Para el día veintiuno, las raíces de las plantas sometidas al tratamiento de 5 mM de nitrógeno presentaron los valores de mayor peso, y los tratamientos de 1.25 mM fueron de menor valor (Figura 2.1, C).

Durante el curso temporal (excepto el día veintiuno), los valores de T1:50, T2:80, T2:100 y T2:50 en el día cero; T2:80 y T2:50 en el día siete; T1:50, T2:80 y T2:50 en el día catorce fueron iguales estadísticamente con los valores más bajos de peso fresco radical. Entre todos ellos, el tratamiento T2:50 obtuvo el menor valor. Se puede apreciar en la Figura 2.2 que las raíces de las plantas con amonio al 50% lucen amarillas y menos desarrolladas que aquellas con amonio al 20%.

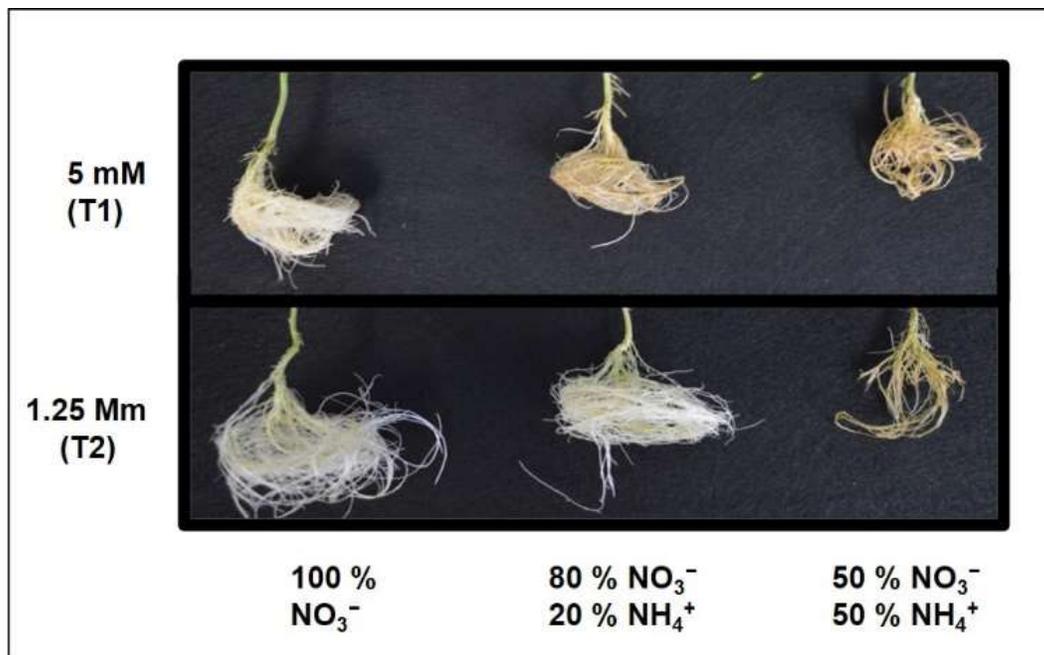


Figura 2.2. Raíces de *C.chinense* en diferentes concentraciones de Nitrógeno a los 14 días.

Al comparar las dos concentraciones de nitrógeno, se observa la diferencia que se produjo en el crecimiento de las plantas. Las que se sometieron a 5 mM tuvieron hojas más grandes y robustas que las sometidas a la concentración de 1.25 mM; también se puede ver diferencia en la altura del tallo y la formación de raíces (Figura 2.3).

Después de las evaluaciones realizadas con el sistema de hidroponía, se observó que con las concentraciones de nitrógeno que administramos, las plantas de *C.chinense* var. Jaguar presentaron mayor crecimiento y desarrollo bajo un régimen nutricional con 5 mM de nitrógeno.

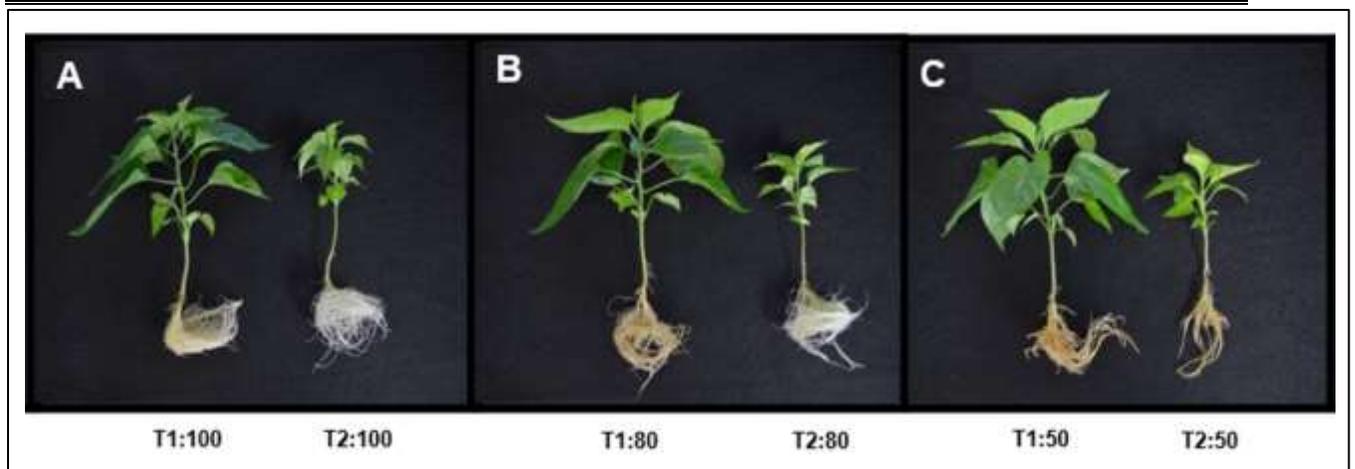


Figura 2.3. Plantas de *C.chinense* en diferentes concentraciones de Nitrógeno a los 14 días.

Tratamientos de concentración de Nitrógeno y relaciones NO_3^- : NH_4^+ . A: 100 % NO_3^- ; B: 80:20 % NO_3^- : NH_4^+ ; C: 50:50% NO_3^- : NH_4^+ . T1: 5mM, T2: 1.25 mM. 100, 80 y 50 se refiere a la relación de NO_3^- : NH_4^+ .

2.4 DISCUSIÓN

En el transcurso de los años se ha observado que la concentración y la forma de administrar el nitrógeno ha sido responsable de los cambios y fluctuaciones en el crecimiento y desarrollo de las plantas.

La absorción de amonio acidifica el medio por la liberación de protones que ocurre, mientras que la absorción de nitrato lo alcaliniza por la liberación de hidroxilos (Bloom *et al.*, 2002). Esto también se observó durante nuestro experimento en los medios nutritivos evaluados al presentar la relación de NO_3^- al 100% el pH más alcalino y la relación 50:50% de NO_3^- : NH_4^+ el pH más ácido; esto ocurre por el intercambio iónico entre las plantas y los nutrientes del medio exterior.

Un estudio de Tadesse y Nichols (2003) en *Capsicum annuum* concluyó que en una solución nutritiva con C.E. elevada se reduce el consumo de agua por planta y la producción de materia seca. Aunque en nuestro experimento no se evaluó la materia seca ni la absorción de nutrientes, se observó mayor volumen residual de la solución cuando aumentó la C.E., especialmente en aquellos tratamientos que contenían mayor concentración de amonio. Esto

puede sugerir una reducción en el consumo de la solución. Guo y colaboradores (2007) sugieren que el amonio influye desfavorablemente en la absorción de otros cationes y la regulación osmótica de la planta, generando este efecto negativo en la absorción de agua.

Por su parte, Boudsocq y otros (2012) mencionan que la flexibilidad e interacción en la absorción del nitrógeno y sus formas inorgánicas por las plantas está relacionado a diversos factores, entre ellos, la especie y la variedad vegetal, la disponibilidad del mineral en el medio, el ambiente (pH, temperatura) y los microorganismos presentes (entre otros).

Tanto la concentración de nitrógeno, como la relación de NO_3^- : NH_4^+ que se administra a las plantas influye en su crecimiento y desarrollo. En nuestro estudio, se observó que la parte aérea de las plantas de *C.chinense* var. Jaguar aumentaron su peso y tamaño con la concentración de nitrógeno a 5 mM y con la relación de NO_3^- : NH_4^+ en 80:20. Estos resultados son similares a los obtenidos por Xu y colaboradores (2001) con plantas de *Capsicum annuum*, quienes concluyeron que usando entre 6-9 mM de nitrógeno con relaciones mixtas de NO_3^- : NH_4^+ entre 70:30 y 85:15%, son concentraciones admisibles para el crecimiento de esta especie. Por su parte, Houdusse y otros (2008) utilizaron una concentración de nitrógeno a 8.5 mM en *Capsicum annuum* y señalaron que con NO_3^- al 100% fue mayor el tamaño de las plantas, al administrar NH_4^+ al 100% el tamaño fue menor y que al usar una dosis mixta al 50:50% se logró aminorar la reducción del crecimiento aéreo de las plantas que cuando sólo se administró amonio. En nuestro estudio, los valores más bajos que obtuvimos de la parte aérea vegetal estuvieron relacionados con la dosis mixta de NO_3^- : NH_4^+ al 50:50%, no evaluamos dosis de sólo amonio.

Referente a la parte radical, evaluamos en *C.chinense* un mejor crecimiento en las raíces sometidas a una nutrición con NO_3^- al 100% y NO_3^- : NH_4^+ al 80:20%, por su parte; Zhang y colaboradores (2019) observaron en *Capsicum annuum* un mejor desarrollo radical bajo una nutrición combinada de NO_3^- : NH_4^+ .

Un estudio realizado con *C.chinense* evidenció un mejor rendimiento con una relación de NO_3^- : NH_4^+ al 90:10% que bajo una nutrición sólo con NO_3^- (Tucuch-Haas *et al.*, 2012). Tomando en cuenta lo anterior y a pesar que no evaluamos rendimiento, podemos mencionar que en nuestras evaluaciones con *C.chinense* se observó un buen crecimiento y desarrollo de hojas, tallos y raíces con una nutrición combinada. Aunque no se observaron daños de toxicidad

severa en las plantas, se pudo observar una ligera clorosis y efectos negativos en el crecimiento de las plantas sometidas a concentraciones arriba y debajo de 1 mM de amonio. En el trabajo de Ravazzolo y colaboradores (2020), esta concentración de amonio en maíz redujo la biomasa de las plantas, incluso en las plantas testigo sin nitrógeno. Guo y otros (2019), reportan en plantas de trigo una disminución de la biomasa al administrar amonio y lo establecen como una especie con baja tolerancia al amonio. En el caso del chile, hasta ahora no se registra como una especie intolerante al amonio.

2.5 CONCLUSIÓN

Después de la administración de la nutrición nitrogenada por medio de hidroponia durante 3 semanas, la evaluación de las características físico-químicas de los medios nutritivos se determinó que el pH más alcalino lo presentaron las soluciones con relaciones de NO_3^- al 100% y los tratamientos más ácidos fueron aquellos con relaciones de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ al 50:50%. Esto puede ocurrir por el intercambio iónico producido por la captación de los minerales por medio de las raíces.

La C.E. fue menor en las relaciones de NO_3^- al 100% y mayor en las relaciones de 50:50%. Los tratamientos de nitrógeno a 5 mM disminuyeron su C.E. durante el curso temporal en las relaciones donde había más concentración de NO_3^- . Para la concentración de 1.25 mM de nitrógeno, sólo la relación de NO_3^- al 100% disminuyó consecutivamente durante las tres semanas; las otras relaciones fluctuaron durante el transcurso de las semanas.

El volumen residual fue menor durante todo el curso temporal en todas las soluciones con 5 mM de nitrógeno, opuesto a los medios nutritivos que contenían 1.25 mM de nitrógeno. Al final de los 21 días de temporalidad, las relaciones de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ al 50:50% presentaron mayor volumen remanente de solución.

Es importante señalar que no se tomaron parámetros como la concentración de nutrientes, biomasa, evotranspiración, entre otros. Por lo cuál, en este estudio no nos referimos a la absorción ni asimilación de nutrientes pero podemos sugerir, que los tratamientos que tienen mayor concentración de nitrógeno y mayor concentración de nitrato son más “absorbidos” por las plantas que aquellos que tienen más amonio.

En cuanto al crecimiento y desarrollo de las plantas, los valores más elevados de peso fresco aéreo, altura del tallo y peso fresco radical se observaron con los tratamientos de nitrógeno a 5 mM, siendo las plantas de 1.25 mM de nitrógeno, más pequeñas. Acerca de las relaciones NO_3^- : NH_4^+ , fueron de menor valor en todos los parámetros aquellas que contenían el 50% de cada forma inorgánica de nitrógeno. Las relaciones de NO_3^- al 100% y 80:20% no presentaron diferencia significativa, concluyendo que para el caso de *C.chinense* en nuestro sistema de estudio es mejor una nutrición combinada de NO_3^- : NH_4^+ en 80:20%.

CAPÍTULO III

“RESPUESTA DE PLANTAS DE *Capsicum chinense* VAR. JAGUAR EXPUESTAS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE NITRÓGENO Y RELACIONES DE NITRATO/AMONIO CONTRA INFECCIONES DEL *PepGMV*”.

3.1 INTRODUCCIÓN

La nutrición mineral juega un rol importante en la salud de las plantas, un excedente de nutrientes puede favorecer las condiciones necesarias para el desarrollo de una enfermedad, mientras que la deficiencia puede no generar defensa frente a organismos nocivos (Huber *et al.*, 2012).

El nitrógeno está relacionado con la resistencia de las plantas hacia organismos patógenos, involucrando las defensas físicas (afecta la entrada del patógeno), bioquímicas (influye sobre proteínas, aminoácidos, hormonas, etc.) y moleculares (vías de señalización y resistencia sistémica) (Figura 3.1) (Sun *et al.*, 2020).

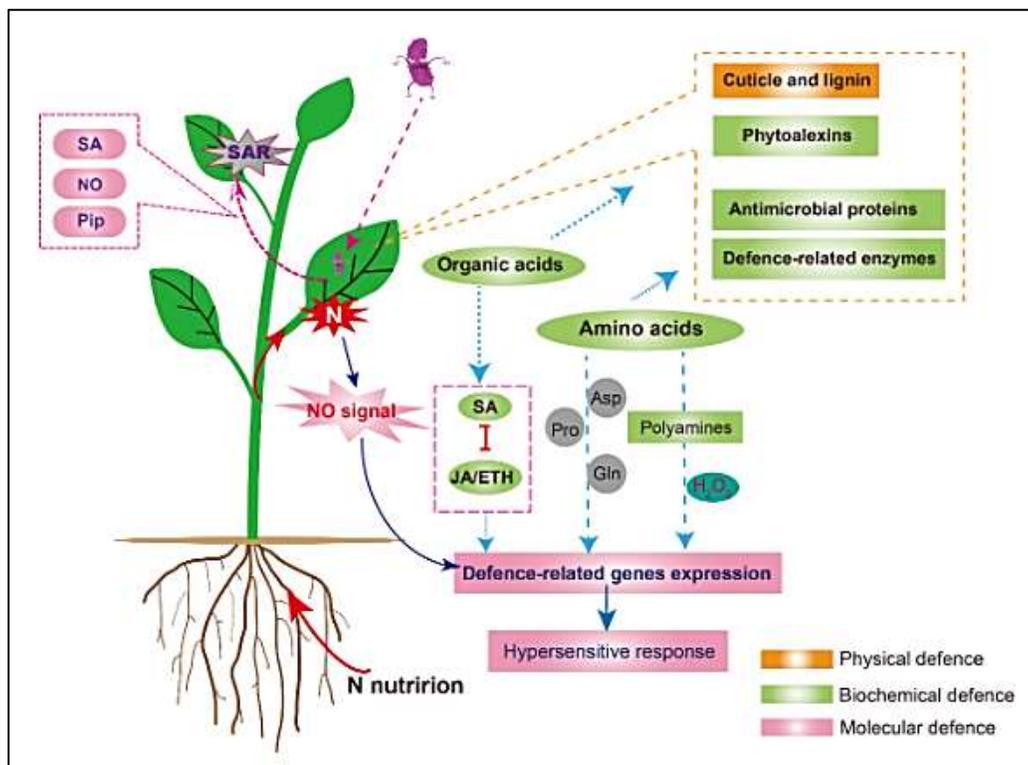


Figura 3.1. Interacción entre la defensa de las plantas y la nutrición nitrogenada.

Nitrógeno (N), Ácido Salicílico (SA); Ácido Jasmónico (JA), Etileno (ETH), Óxido Nítrico (NO), Ácido pipecólico (Pip), Lisina (Lys), Resistencia Sistémica Adquirida (SAR), Especies Reactivas de Oxígeno (ROS). Fuente: Sun et al., 2020.

Mur y colaboradores (2016) sugieren de manera general que mayores concentraciones de nitrato incrementa la resistencia a patógenos (eleva la expresión de los genes de defensa, disminuye los azúcares y aminoácidos apoplásticos) y cuando se administra más amonio que nitrato ocurre lo contrario. Sin embargo, esto no puede entenderse como una regla general, la respuesta de los patógenos y las plantas bajo un esquema de nutrición nitrogenada implica interacciones complejas entre diversos componentes; como el hospedero, el patógeno y su virulencia, así como la concentración y forma de nitrógeno que dispone el cultivo (Fagard *et al.*, 2014).

En tomate, Fernández-Crespo y colaboradores (2015) reportan una disminución de la infección causada por *Pseudomonas syringae* usando 5 mM de nitrógeno en forma de amonio; mientras que Ding y otros (2021) informan que al usar 1 mM de nitrógeno en forma de nitrato, disminuyó la infección causada por *Pseudomonas syringae* y por *Ralstonia solanacearum*.

Lecompte y colaboradores (2010) realizaron una evaluación de distintas dosis de nitrato contra diferentes cepas de *Botrytis cinerea* en plantas de tomate. Demostraron que con mayores concentraciones de nitrógeno la lesión de la enfermedad en los tallos disminuyó en las cepas más virulentas, pero aumentó en las cepas menos severas.

Estas interacciones también deben su complejidad a las relaciones sistema de defensa de las planta-patógeno. La misma vía de defensa puede inducir respuestas diferentes en distintas plantas bajo el efecto del mismo tipo de patógeno; por ejemplo, la resistencia sistémica inducida por AS favorece la defensa de tomate ante *Botrytis cinerea*, pero no ante *Oidium neolycopersici*; de manera viceversa, el tabaco induce resistencia contra *O. neolycopersici*, pero no contra *B. cinerea* (Achuo *et al.*, 2004).

La concentración de nitrógeno interviene en la inducción o supresión de las vía de señalización de defensa de las plantas, en la producción de metabolitos de defensa y en la expresión de virulencia de un patógeno (Farjad *et al.*, 2021).

Con base en lo mencionado anteriormente, se observó que los estudios acerca de los efectos contrastantes del nitrato y el amonio sobre la respuesta de defensa de las plantas son

complejos y hasta ahora no se han reportado en virus; por tanto, el objetivo de este experimento fue determinar la infección *del PepGMV* en plantas de *Capsicum chinense* var. Jaguar expuestas a diferentes tratamientos de concentraciones de nitrógeno y relaciones de NO_3^- : NH_4^+ .

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1 Material vegetal y Tratamientos de Nitrógeno

El material vegetal fue obtenido con la metodología descrita previamente en el Capítulo II. Las plantas se seleccionaron tomando en cuenta, que visiblemente no estén dañadas y se observen similares en el crecimiento (Capítulo II, apartado 2.2.5).

Del mismo modo, los tratamientos de nitrógeno evaluados son descritos en el Capítulo II. Se evaluaron dos concentraciones de nitrógeno: 1.25 mM y 5 mM, cada una con tres relaciones de NO_3^- : NH_4^+ (100, 80:20 y 50:50, respectivamente). En todos los tratamientos se igualó la concentración de K (3.2 mM) y Ca (1 mM). Los tratamientos de 5 mM se designaron como T1 y los tratamientos de 1.25 mM como T2. Las relaciones de NO_3^- : NH_4^+ están señaladas con base al primero (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Tratamientos de Nitrógeno usados en plantas de *C.chinense* en condiciones controladas de crecimiento.

Tratamientos	[N Total] mM	NO_3^- : NH_4^+	NO_3^- : NH_4^+ (mM)	Concentración de Macronutrientes (mM)						
				KH_2PO_4	MgSO_4	KNO_3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	NH_4NO_3	KCl	CaCl_2
T1:N100	5	100:0	5:0	0.2	0.2	3	1	-	-	-
T1:N80	5	80:20	4:1	0.2	0.2	3	-	1	-	1
T1:N50	5	50:50	2.5:2.5	0.2	0.2	-	-	2.5	3	1
T2:N100	1.25	100:0	1.25:0	0.2	0.2	0.75	0.25	-	2.25	0.75
T2:N80	1.25	80:20	1:0.25	0.2	0.2	0.75	-	0.25	2.25	1
T2:N50	1.25	50:50	0.625:0.625	0.2	0.2	-	-	0.625	3	1

3.2.2 Preparación de clonas infectivas e inoculación

Se usaron dímeros de clonas infectivas del *PepGMV* (*PepGMV*-Tam, genoma A y *PepGMV*-D, genoma B) donadas por el Dr. Rafael Rivera Bustamante, del Laboratorio de Virología Vegetal del CINVESTAV-IPN Unidad Irapuato.

La transformación de los dímeros del *PepGMV* se realizó por choque térmico en células competentes de *E. coli* DH5 α usando el vector plasmídico pBluescript II SK (+) y se realizaron Minipreps con el kit de QIAprep® Spin Miniprepkit (QIAGEN ®).

La comprobación molecular de las clonas infectivas antes de la inoculación se efectuó como se describe en la metodología de Arroyo (2020).

Cada planta se inoculó por biobalística con 10 μ l de una suspensión con micropartículas de oro (1 μ m, BIO-RAD, USA) + clonas infectivas a una concentración de 10 μ g de cada componente genómico (A y B). La inoculación se realizó con un disparo en el haz en el primer par de hojas verdaderas (de los cotiledones hacia el meristemo apical), a 2 cm de distancia y 60 psi de presión (Guenoune-Gelbart *et al.*, 2010; modificado), a través de un dispositivo de fabricación artesanal adaptado a un cilindro de Helio y un portafiltros de 13 mm (SWINNEX ®) (Figura 3.2). Los tratamientos de control consistieron en plantas bombardeadas con micropartículas de tungsteno sin virus (Mock) y plantas sin bombardear (Control).

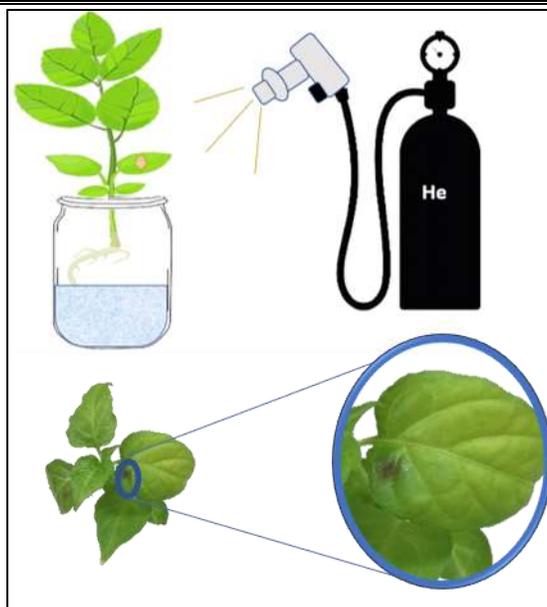


Figura 3.2. Representación del dispositivo artesanal para la inoculación de las plantas por biobalística.

3.2.3 Sintomatología de la infección durante el curso temporal

Se realizó un curso temporal después de la inoculación durante tres semanas. A los cero minutos después de inocular (tiempo cero, mdi) y a los siete, catorce y veintiún días después de inocular (ddi).

Para efectuar el diagnóstico de la infección se recolectaron hojas no inoculadas, del estrato superior al punto de inoculación; esto es, desde el segundo par de hojas verdaderas (hasta las hojas nuevas del meristemo apical). Seguidamente se depositaron en nitrógeno líquido y se conservaron a -80°C para las evaluaciones correspondientes.

3.2.4 Extracción de ADN y detección molecular del *PepGMV*

Se obtuvo ADN genómico total siguiendo el protocolo de Nieto y colaboradores (2005) realizando las siguientes modificaciones: el material macerado se incubó durante 40 m a 65°C . Se centrifugó a 13000 rpm durante 20 m a 4°C , posteriormente se recuperó el sobrenadante (700 μl). Después de agregar el cloroformo isoamílico se centrifugó a 13000 rpm por 20 m a 4°C . Para precipitar el ADN se agregó 900 μl de isopropanol frío y 100 μl de acetato de sodio 3 M, 5.2 pH; se mezcló por inversión y se incubó durante 1 h a -20°C . El pellet se enjuagó dos

veces con etanol al 70% y se resuspendió en una solución de 50 μ l RNAsa tipo A: agua destilada estéril (1:49). Se confirmó la presencia del ADN mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1% y posteriormente se cuantificó a través de un espectrofotómetro de microvolúmenes (NanoDrop 2000/2000c Thermo Scientific™).

La detección del virus se llevó a cabo por medio de una reacción de PCR punto final. Primero se realizó una PCR anidada (Tabla 3.1) para detectar Begomovirus (Tabla 3.2) usando cebadores degenerados (para CP) AV1154/AV324 y New CoreAV/New CoreAC (Tabla 3.1). Los productos de la reacción se visualizaron por medio de electroforesis en un gel de agarosa al 1% en un perfil de 100 V durante 25 m, usando como marcador molecular el HyperLadder™ 1 Kb (HyperLadder I) de Bioline.

Posteriormente (para las muestras positivas), se realizó una PCR punto final usando los cebadores (Tabla 3.2) RepF y RepR; los cuales se diseñaron para el gen *rep* del *PepGMV* en el programa Oligo Explorer 1.2. Como control positivo se utilizó el genoma A obtenido durante el proceso de preparación de clonas infectivas. Los productos de la reacción de PCR se visualizaron por medio de electroforesis en un gel de agarosa al 2% en un perfil de 90 V durante 40 m, usando como marcador molecular el HyperLadder™ 100 pb (HyperLadder IV) de Bioline.

Para ambas reacciones, se utilizó un volumen total de 25 μ l (20 ng/ μ l de templado de ADN) y el kit GoTaq®DNAPolymerase de Promega©.

Tabla 3.2. Perfiles de Oligonucleótidos usados para la detección del *PepGMV*.

Nombre	pb	Sentido	Secuencia 5´-3´
AV1154	830	Forward	CTSAAYTTCMAAGTYTGGACG
AV324		Reverse	GCCYATRTAYAGRAAGCCMAG
New CoreAV	565	Forward	GCCHATRTAYAGRAAGCCMAGRAT
New CoreAC		Reverse	GGRTTDGARGCATGHGTACANGCC
RepF	155	Forward	TGCCACTACCACAAAATCC
RepR		Reverse	CTCCTCTCGTGATACCCG

Tabla 3.3. Perfiles de amplificación para la detección del *PepGMV*.

Detección	Ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo
Begomovirus	1	94	5 minutos
		94	3 segundos
	35	58	3 segundos
		72	3 segundos
	1	72	10 minutos
	PepGMV	1	94
94			30 segundos
35		57	30 segundos
		72	30 segundos
1		72	10 minutos

3.2.5 Análisis de datos

Para el experimento se usaron 360 plantas (60 plantas/tratamiento de nitrógeno, Tabla 3.4). Para cada tratamiento de nitrógeno (T1:100, T1:80, T1:50, T2:100, T2:80 y T2:50; Tabla 3.1), se realizaron cinco repeticiones por tratamientos de inoculación (*PepGMV*, Mock y Control) y días del curso temporal (0 mdi; 7, 14 y 21 ddi).

Tabla 3.4 Representación del diseño experimental y número de plantas usadas en ensayo de infección del *PepGMV*.

Tratamientos	Inoculación	Curso temporal	Número de Repeticiones
[N Total]: NO ₃ ⁻ : NH ₄ ⁺	<i>PepGMV</i>	0 mdi	5
		7 ddi	5
		14 ddi	5
		21 ddi	5
	Mock	0 mdi	5
		7 ddi	5
		14 ddi	5
		21 ddi	5
	Control	0 mdi	5
		7 ddi	5
		14 ddi	5
		21 ddi	5
Número de plantas/tratamiento de nitrógeno			60

Los datos de infección fueron evaluados con una prueba de Chi-cuadrada (nivel de significancia de 0.05) usando el Software InfoStat® ver. 2020.

3.3 RESULTADOS

3.3.1 Infección del *PepGMV*

Primeramente, para comprobar la efectividad de las clonas infectivas del *PepGMV* y el método de inoculación se usaron como control plantas de *Capsicum chinense* var. Jaguar sembradas en tierra y regadas con agua del grifo. Después de los veintiún días se observaron síntomas de arrugamiento foliar y ligero mosaico amarillo en las hojas (Figura 3.3). Se confirmó la infección a través de una prueba por PCR (Figura 3.4).

Se realizó un curso temporal de observación de las plantas después de estar sometidas a los tratamientos durante 4 semanas. Los tiempos consistieron en 0 minutos después de inocular (mdi), 7, 14 y 21 días después de inocular (ddi).



Figura 3.3. Síntomas de infección del *PepGMV* en plantas control de

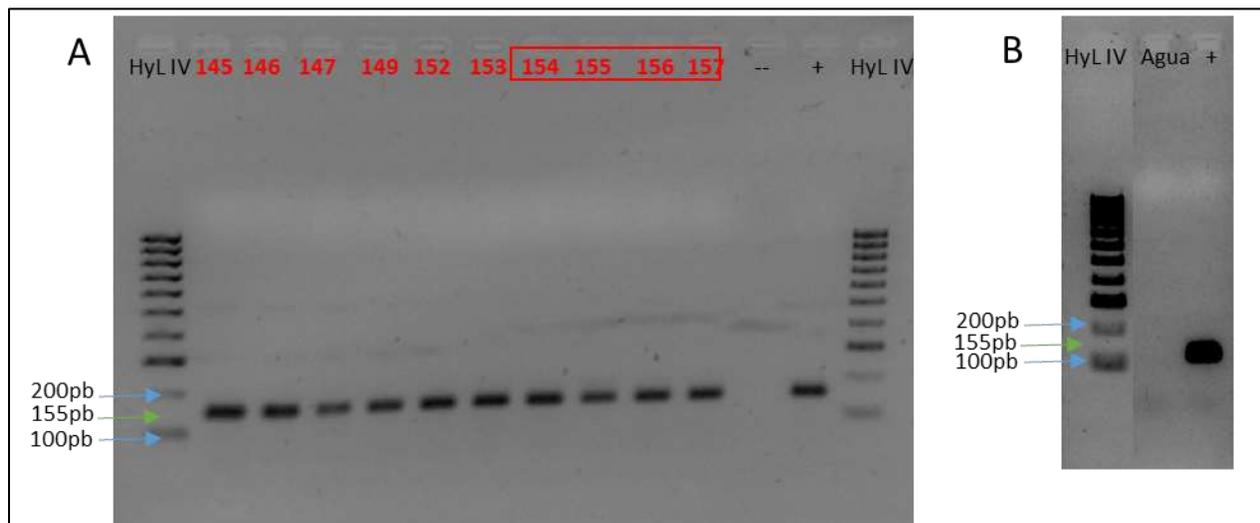
***C.chinense* en tierra a los 21 días después de inocular.**

Figura 3.4. Diagnóstico por PCR de la infección del *PepGMV* en plantas control de *C. chinense* en tierra a los 21 días después de inocular.

Geles de agarosa al 2%. A: Gel que corresponde a las muestras control en tierra de Chile habanero

(154-157). B: Gel modificado que señala el control negativo de las muestras 154-157. HyLIV:

HyperLadder IV, --: Pozo vacío, +: Control positivo, Agua: Control negativo. La flecha azul indica el

número de pb del marcador y la flecha verde indica el número que se espera de la reacción.

Las plantas del primer tiempo (0 mdi) no presentaron síntomas (datos no mostrados) pero se resguardó material vegetal para realizar el diagnóstico molecular de infección.

En el día siete después de realizar la infección no se encontraron síntomas del *PepGMV* en las plantas inoculadas; comparando éstas con los controles se observan iguales sin presencia de arrugamientos o mosaicos. (Figura 3.5).

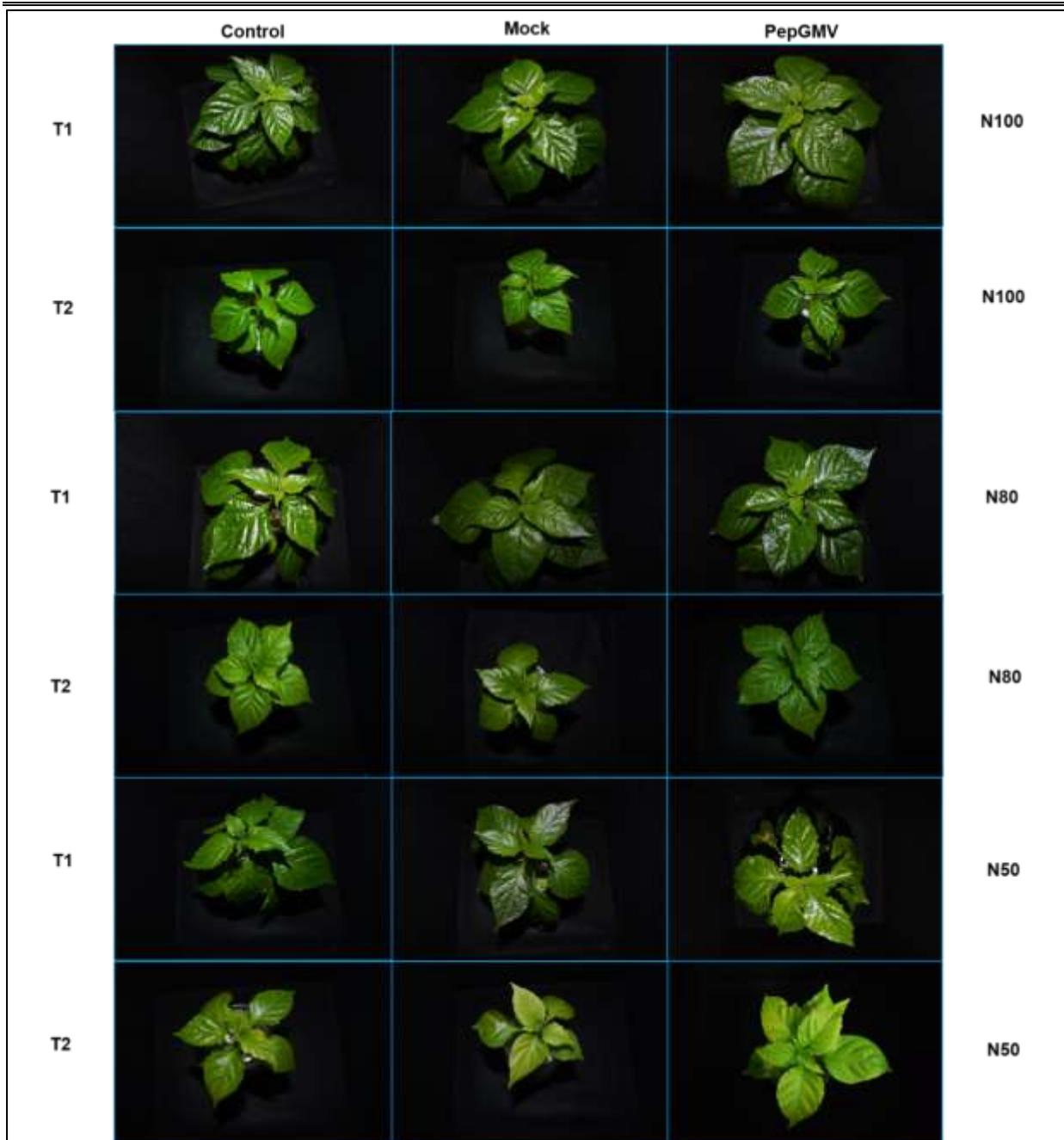


Figura 3.5 Plantas de *C.chinense* inoculadas con *PepGMV* a los 7 días.

T1: 5mM, T2: 1.25 mM. N100, N80 y N50 se refiere a la relación de NO_3^- : NH_4^+ . Control: Plantas sin inocular, Mock: Plantas inoculadas con micropartículas de tungsteno sin virus, *PepGMV*: Plantas inoculadas con el begomovirus.

Para el día catorce tampoco se encontraron síntomas del *PepGMV* en las plantas inoculadas sometidas a los tratamientos de nitrógeno. Como puede observarse en la Figura 3.6.

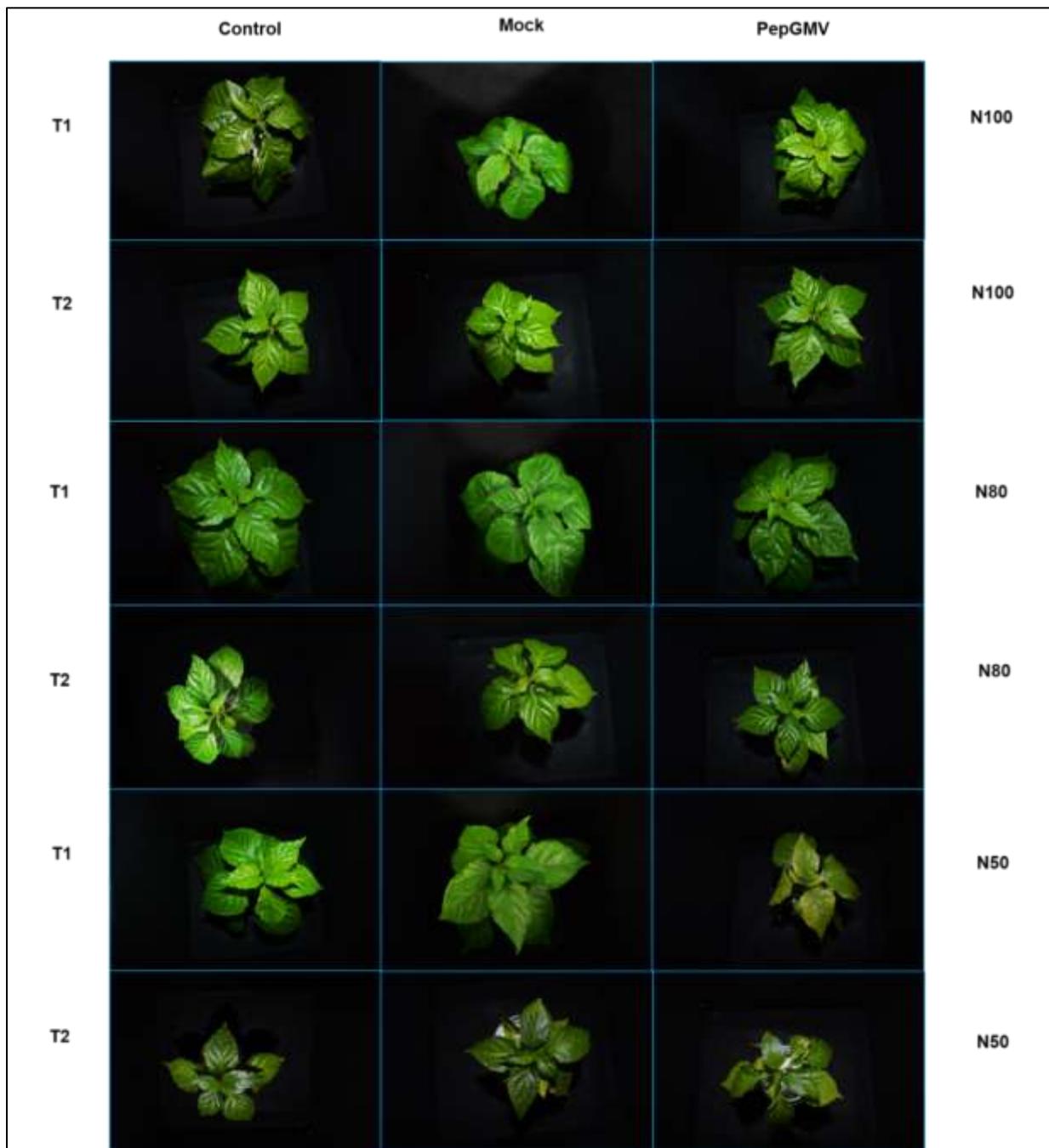


Figura 3.6. Plantas de *C.chinense* inoculadas con *PepGMV* a los 14 días.

T1: 5mM, T2: 1.25 mM. N100, N80 y N50 se refiere a la relación de NO_3^- : NH_4^+ . Control: Plantas

sin inocular, Mock: Plantas inoculadas con micropartículas de tungsteno sin virus, *PepGMV*:

Plantas

inoculadas con el begomovirus.

Todos los tratamientos de inoculación (Control, Mock y *PepGMV*) se hallaron libres de síntomas de begomovirus. Las plantas de la concentración de nitrógeno a 1.25 mM y relación de $\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$ al 50% se observan un poco cloróticas, comparadas con los otros tratamientos.

Al final del curso temporal, los síntomas no se observaron en las plantas (Figura 3.7).

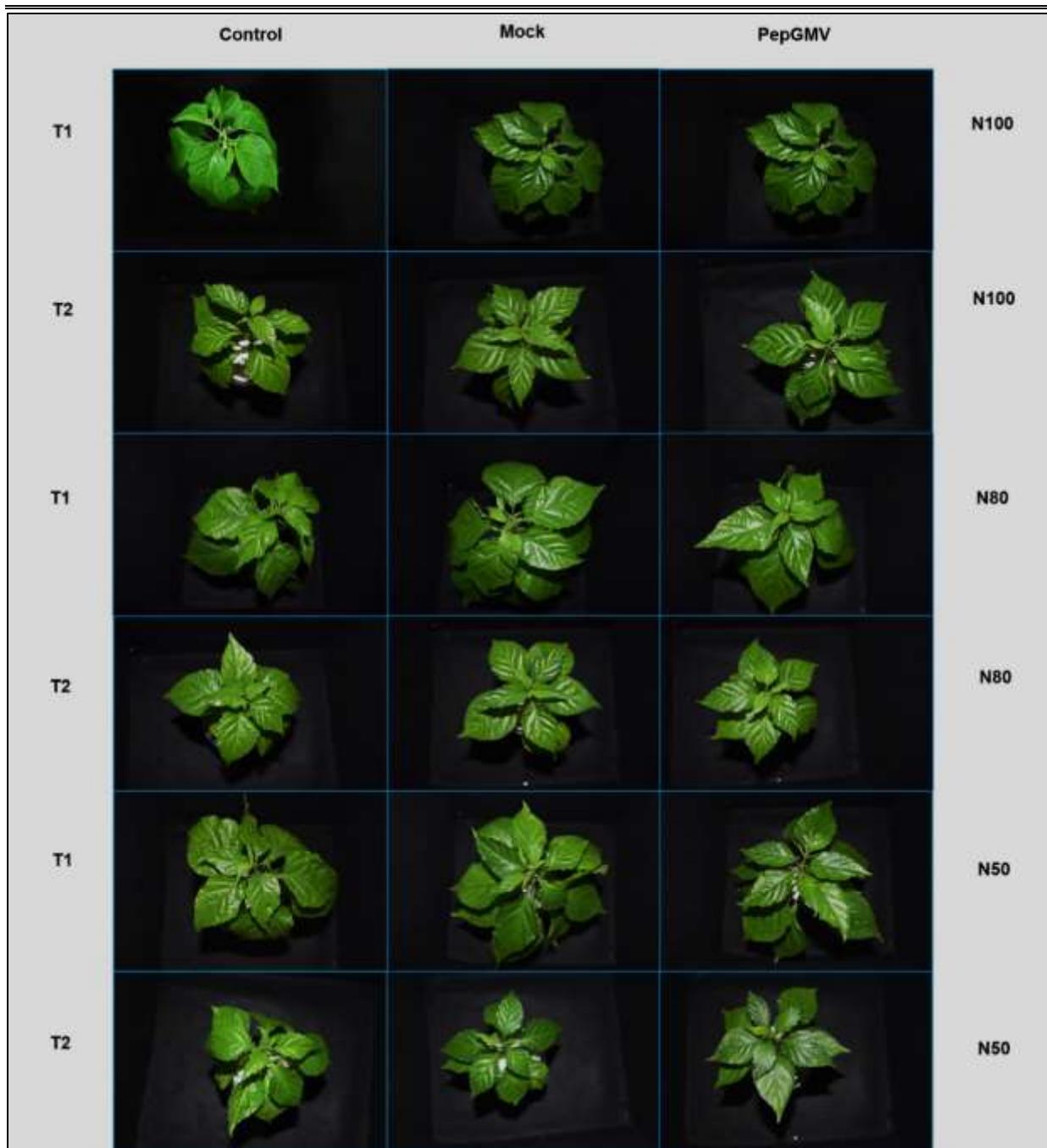


Figura 3.7. Plantas de *C.chinense* inoculadas con *PepGMV* a los 21 días.

T1: 5mM, T2: 1.25 mM. N100, N80 y N50 se refiere a la relación de NO_3^- : NH_4^+ . Control: Plantas sin inocular, Mock: Plantas inoculadas con micropartículas de tungsteno sin virus, *PepGMV*: Plantas inoculadas con el begomovirus.

3.3.2 Detección molecular del *PepGMV*

Para fines de diagnóstico del *PepGMV*, se llevó a cabo la extracción de ADN de las hojas y se realizó la detección por PCR para determinar molecularmente la presencia o ausencia del begomovirus.

Cabe mencionar que durante la pandemia COVID-19 y por motivos del cese de labores en las instalaciones del CICY, se perdieron las muestras del curso temporal de los 0, 7 y 14 días después de inocular. Por lo tanto, sólo se procesaron las muestras del día 21 ddi.

El análisis estadístico de Chi-cuadrada señaló con un valor de $p=0.1666$ que no existe diferencia significativa entre los tratamientos de nitrógeno y los tratamientos de inoculación. Esto se debió en parte, a que algunas plantas Control (sin bombardear) y Mock (bombardeadas con tungsteno) mostraron presencia del *PepGMV* en los análisis moleculares (Figura 3.8).

Para confirmar que las semillas del chile habanero estén libres del *PepGMV* se realizaron amplificaciones (datos no mostrados) pero fueron descartadas por la mala calidad del ADN extraído previamente.

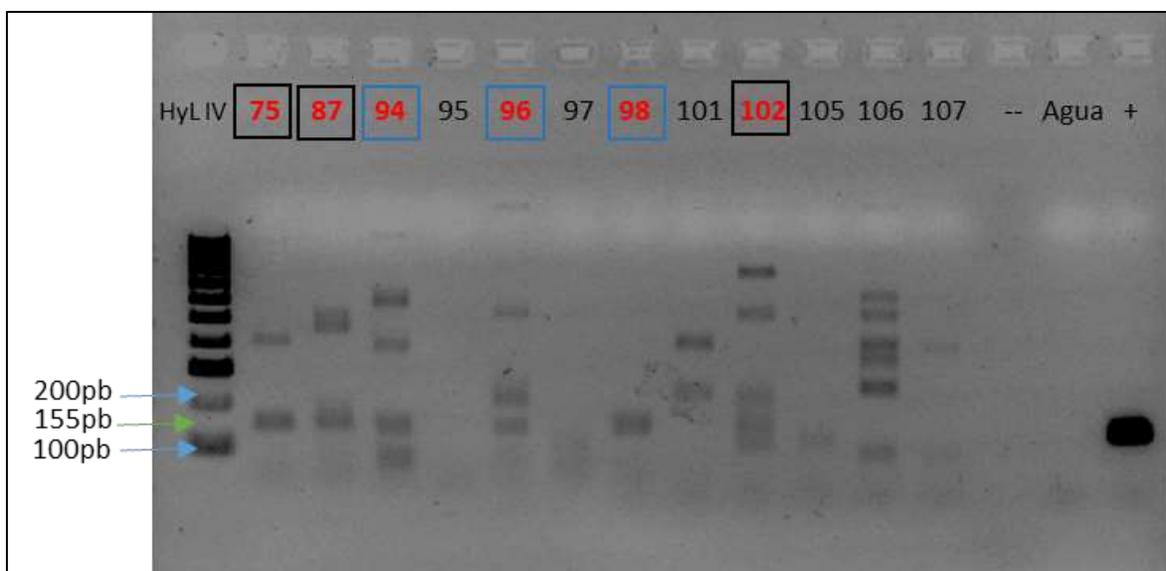


Figura 3.8. Diagnóstico por PCR de la infección del *PepGMV* en plantas control de *C. chinense* a los 21 días después de inocular.

Gel de agarosa al 2%. HyLIV: HyperLadder IV, --: Pozo vacío, +: Control positivo, Agua: Control negativo. Cuadros negros corresponden a las muestras Control y cuadros azules corresponden a muestras Mock, La flecha azul indica el número de pb del marcador y la flecha verde indica el

número que se espera de la reacción.

Por este motivo, se reporta que para el objetivo planteado de determinar la infección del *PepGMV* en plantas de *Capsicum chinense* var. Jaguar expuestas a diferentes concentraciones de nitrógeno y relaciones de nitrato/amonio no se obtuvieron resultados concluyentes.

3.4 DISCUSIÓN

Debido a que los resultados de este capítulo fueron inconclusos y considerando las variables que pudieron influir, se discute primeramente la probabilidad de que las semillas estuvieran infectadas. Ahora se sabe de algunos reportes de begomovirus que se transmiten de manera vertical: *Yellow mosaic virus* (YMV) en frijol mungo, reportado en la India (Kothandaraman *et al.*, 2016); *Dolichos yellow mosaic virus* (DoYMV) en frijol, reportado en la India (Suruthi *et al.*, 2018) y *Tomato yellow leaf curl virus* TYLCV (TYLCV-IL) en tomate, reportado en Corea (Pérez-Padilla *et al.*, 2020) como algunos ejemplos. Aunque aún no existen reportes de la transmisión del *PepGMV* por medio de semillas.

Citando a Zuñiga-Romano y colaboradores (2019) reportan el primer informe del *Tomato severe leaf curl virus* (ToSLCV) que infecta tomates cultivados en invernadero en México. Señalan que tuvieron la incidencia de síntomas en plantas localizadas en un invernadero de alta tecnología y posteriormente identificaron a *B. tabaci* transmitiendo el begomovirus. Para nuestro estudio nos faltó reforzar la seguridad del cuarto de fisiología dónde se llevó a cabo el experimento, aunque no se observó mosquita blanca ni síntomas en las plantas, es una apreciación que vale la pena tomar en cuenta para estudios posteriores.

Después de varias repeticiones de las amplificaciones para *PepGMV* y que se obtuvieran los mismos resultados (señalados anteriormente) y como las plantas no evidenciaron síntomas, ni al final del curso temporal; se concluye incompleta esta parte de la evaluación y se sugiere repetir.

3.5 CONCLUSIÓN

Las plantas evaluadas en este capítulo, tenían 3 meses de edad, estuvieron sometidas 2 meses a la nutrición nitrogenada y 21 días a la infección de *PepGMV*.

No se logró observar la sintomatología del *PepGMV* en ningún tratamiento de nitrógeno y tampoco en los controles sometidos en los tratamientos, pero si se observaron síntomas en las plantas control en tierra.

No se puede determinar con precisión la tolerancia de las plantas de *C.chinense* bajo la nutrición nitrogenada administrada, porque en los análisis moleculares las plantas control no inoculadas e inoculadas sin virus fueron positivas a begomovirus.

Se sugiere repetir el experimento con mayor rigurosidad en la seguridad para evitar cualquier tipo de contaminación cruzada. Desde la obtención del material vegetal (la desinfección de semillas, el control del área donde se encontrarán las plantas), el proceso de inoculación (limpieza de material, control y orden de las muestras), hasta la extracción de ADN (colecta, transporte, almacenamiento y procesamiento de material).

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES GENERALES Y PERSPECTIVAS

4.1 CONCLUSIONES GENERALES

Las plantas de *Capsicum chinense* var. Jaguar evaluadas en este estudio, bajo un sistema de hidroponia denotaron un mejor crecimiento y desarrollo vegetal con una nutrición a 5 mM de nitrógeno que con una dieta a 1.25 mM. Las plantas sometidas a 1.25 mM de nitrógeno presentaron un peso aéreo hasta tres veces menor que el tratamiento con 5 mM.

La administración de las fuentes nitrogenadas NO_3^- y NH_4^+ presentaron mayores valores en las variables fisiológicas evaluadas con una relación de 80:20, respectivamente. Los tratamientos con NH_4^+ al 50% deterioran las raíces y disminuyen el crecimiento de las plantas. Esto sugiere que para chile habanero en un sistema de hidroponia, es más conveniente una nutrición mixta con nitrato y amonio con las proporciones indicadas.

Usando como referencia las dosis que evaluamos en este estudio, podría mencionarse para trabajos futuros que *C.chinense*, bajo el sistema de hidroponia soporta dosis de amonio de 1 mM; arriba y debajo de esta concentración se reduce el crecimiento vegetal y se presentan daños en las raíces a largo plazo.

Es importante señalar que este estudio no establece concentraciones óptimas, ni límites de concentración. Sólo se reportan los datos obtenidos bajo el mismo sistema del experimento. No se sugieren concentraciones para cultivos a gran escala, ni en campo o invernadero.

Para evaluar el efecto de la nutrición nitrogenada en la respuesta a la infección con begomovirus en *Capsicum chinense* Jacq, se recomienda repetir el experimento tomando en cuenta las sugerencias antes mencionadas y los contratiempos expresados.

4.2 PERSPECTIVAS

Tomando en cuenta las concentraciones de nitrógeno y las relaciones de nitrato: amonio evaluadas en este estudio, sería interesante evaluar otras concentraciones y realizar una curva de concentración para chile habanero.

Es conveniente realizar las mediciones de absorción, asimilación, peso seco y minerales para evaluar mejor el efecto del nitrógeno en chile habanero.

Ya que no hay estudios previos del efecto de la nutrición nitrogenada en la respuesta a la infección con begomovirus y este reporte abre una ventana para este tema, es de importancia continuar con la investigación con las concentraciones y proporciones detectadas como mejores.

Por último y teniendo en cuenta lo anterior, se propone una evaluación de los genes de resistencia, cuantificar nitrógeno, nitrato, amonio, proteínas, aminoácidos y moléculas señal de las vías de defensa de las plantas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abro, M. A., Lecompte, F., Bryone, F., & Nicot, P. C. (2013). Nitrogen Fertilization of the Host Plant Influences Production and Pathogenicity of *Botrytis cinerea* Secondary Inoculum. *Phytopathology*, *103*(3), 261–267. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-12-0189-R>
- Achuo, E. A., Audenaert, K., Meziane, H., & Hofte, M. (2004). The salicylic acid-dependent defence pathway is effective against different pathogens in tomato and tobacco. *Plant Pathology*, *53*(1), 65–72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2004.00947.x>
- Ádám, A., Nagy, Z., Kátay, G., Mergenthaler, E., & Viczián, O. (2018). Signals of Systemic Immunity in Plants: Progress and Open Questions. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(4), 1146. <https://doi.org/10.3390/ijms19041146>
- Alejo-Santiago, G., Luna-Esquivel, G., Sánchez-Hernández, R., Salcedo-Pérez, E., García-Paredes, J. D., & Jiménez-Meza, V. M. (2015). Determination of the nitrogen requirement for habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *XXI*(3), 215–227. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2014.04.015>
- Arroyo, Álvarez, E. (2020). *Análisis de la tolerancia al virus Pepper golden mosaic virus (PepGMV) en accesiones de Capsicum annuum var. glabriusculum*. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.
- Backer, R., Naidoo, S., & van den Berg, N. (2019). The NONEXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED GENES 1 (NPR1) and Related Family: Mechanistic Insights in Plant Disease Resistance. *Frontiers in Plant Science*, *10*(February), 1–21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00102>
- Barchenger, D. W., Naresh, P., & Kumar, S. (2019). Genetic Resources of Capsicum. In N. Ramchiary & C. Kole (Eds.), *The Capsicum Genome* (pp. 9–23). https://doi.org/10.1007/978-3-319-97217-6_2
- Beam, K., & Ascencio-Ibáñez, J. T. (2020). Geminivirus Resistance: A Minireview. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 1131. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01131>
- Berny-Mier y Teran, Jorge C., Abdala-Roberts, Luis, Durán-Yáñez, Antonio, & Tut-Pech, F. (2013). Variation in Insect Pest and Virus Resistance Among Habanero. *Agrociencia*, *47*(5), 471–482. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-31952013000500005&script=sci_abstract
- Bieker, S., & Zentgraf, U. (2013). Plant Senescence and Nitrogen Mobilization and Signaling. *Senescence and Senescence-Related Disorders*, (May). <https://doi.org/10.5772/54392>
- Bloom, A. J., Meyerhoff, P. A., Taylor, A. R., & Rost, T. L. (2002). Root Development and Absorption of Ammonium and Nitrate from the Rhizosphere. *Journal of Plant Growth Regulation*, *21*(4), 416–431. <https://doi.org/10.1007/s00344-003-0009-8>
- Bolívar-Zapata, G. F. (Ed.). (2017). *Transgénicos. Grandes beneficios, ausencia de daños y mitos* (2017th ed.). Retrieved from www.amc.mx/transgenicos
-

-
- Bolton, M. D. (2009). Primary Metabolism and Plant Defense—Fuel for the Fire. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(5), 487–497. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-5-0487>
- Borges-Gómez, L., Moo-Kauil, C., Ruíz-Novelo, J., Osalde-Balam, M., González-Valencia, C., Yam-Chimal, C., & Can-Puc, F. (2014). Suelos destinados a la producción de chile habanero en Yucatán: Características físicas y químicas predominantes. *Agrociencia*, 48(4), 347–359.
- Boudsocq, S., Niboyet, A., Lata, J. C., Raynaud, X., Loeuille, N., Mathieu, J., ... Barot, S. (2012). Plant Preference for Ammonium versus Nitrate: A Neglected Determinant of Ecosystem Functioning? *The American Naturalist*, 180(1), 60–69. <https://doi.org/10.1086/665997>
- Brown, J. K., Idris, A. M., Ostrow, K. M., Goldberg, N., French, R., & Stenger, D. C. (2005). Genetic and Phenotypic Variation of the Pepper golden mosaic virus Complex. *Phytopathology*, 95(10), 1217–1224. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1217>
- Burris, R. H. (1959). Nitrogen Nutrition. *Annual Review of Plant Physiology*, 10(1), 301–328. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.10.060159.001505>
- Cantú-Iris, M., Pastor-Palacios, G., Mauricio-Castillo, J. A., Bañuelos-Hernández, B., Avalos-Calleros, J. A., Juárez-Reyes, A., ... Argüello-Astorga, G. R. (2019). Analysis of a new begomovirus unveils a composite element conserved in the CP gene promoters of several Geminiviridae genera: Clues to comprehend the complex regulation of late genes. *PLOS ONE*, 14(1), e0210485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210485>
- Carlisle, E., Myers, S., Raboy, V., & Bloom, A. (2012). The Effects of Inorganic Nitrogen form and CO₂ Concentration on Wheat Yield and Nutrient Accumulation and Distribution. *Frontiers in Plant Science*, 3, 195. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00195>
- Carlsson, J., Svennerstam, H., Moritz, T., Egertsdotter, U., & Ganeteg, U. (2017). Nitrogen uptake and assimilation in proliferating embryogenic cultures of Norway spruce—Investigating the specific role of glutamine. *PLoS ONE*, 12(8), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181785>
- Carrillo-Tripp, J., Lozoya-Gloria, E., & Rivera-Bustamante, R. F. (2007). Symptom Remission and Specific Resistance of Pepper Plants After Infection by Pepper golden mosaic virus. *Phytopathology*, 97(1), 51–59. <https://doi.org/10.1094/phyto-97-0051>
- Celis-Arámburo, T. de J., Carrillo-Pech, M., Castro-Concha, L. A., Miranda-Ham, M. de L., Martínez-Estévez, M., & Echevarría-Machado, I. (2011). Exogenous nitrate induces root branching and inhibits primary root growth in *Capsicum chinense* Jacq. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(12), 1456–1464. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.09.003>
- Ding, S., Shao, X., Li, J., Ahammed, G. J., Yao, Y., Ding, J., ... Shi, K. (2021). Nitrogen forms and metabolism affect plant defence to foliar and root pathogens in tomato. *Plant, Cell & Environment*, 44(5), 1596–1610. <https://doi.org/10.1111/pce.14019>
- Dordas, C. (2008). Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 28(1), 33–46.
-

- Ebrahim, S., Usha, K., & Singh, B. (2012). Pathogenesis Related (PR) Proteins in Plant Defense Mechanism Pathogenesis-Related (PR) Proteins. *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances*, (December 2016), 1043–1054. Retrieved from <http://www.formatex.info/microbiology3/book/1043-1054.pdf>
- Eid, M. A. M., Abdel-Salam, A. A., Salem, H. M., Mahrous, S. E., Seleiman, M. F., Alsadon, A. A., ... Ibrahim, A. A. (2020). Interaction Effects of Nitrogen Source and Irrigation Regime on Tuber Quality, Yield, and Water Use Efficiency of *Solanum tuberosum* L. *Plants*, 9(1), 110. <https://doi.org/10.3390/plants9010110>
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). (2018). Pepper golden mosaic virus (PEPGMV)[World distribution] EPPO Global Database. Retrieved June 5, 2019, from <https://gd.eppo.int/taxon/PEPGMV/distribution>
- Fagard, M., Launay, A., Clément, G., Courtial, J., Dellagi, A., Farjad, M., ... Masclaux-Daubresse, C. (2014). *Nitrogen metabolism meets phytopathology*. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru323>
- Fan, X., Naz, M., Fan, X., Xuan, W., Miller, A. J., & Xu, G. (2017). Plant nitrate transporters: From gene function to application. *Journal of Experimental Botany*, 68(10), 2463–2475. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx011>
- FAO, & WHO. (2019). *Pesticide residues in food 2018 - Report 2018*. Retrieved from https://unctad.org/en/PublicationsLibrary/aldcafrica2018_en.pdf
- Faria, M., & Wraight, S. P. (2001). Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection*, 20(9), 767–778. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(01\)00110-7](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(01)00110-7)
- Farjad, M., Clément, G., Launay, A., Jeridi, R., Jolivet, S., Citerne, S., ... Fagard, M. (2021). Plant nitrate supply regulates *Erwinia amylovora* virulence gene expression in *Arabidopsis*. *Molecular Plant Pathology*, 22(11), 1332–1346. <https://doi.org/10.1111/mpp.13114>
- Fernández-Crespo, E., Scalschi, L., Llorens, E., García-Agustín, P., & Camañes, G. (2015). NH₄⁺ protects tomato plants against *Pseudomonas syringae* by activation of systemic acquired acclimation. *Journal of Experimental Botany*, 66(21), 6777–6790. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv382>
- Fiallo-Olivé, E., & Navas-Castillo, J. (2020). Molecular and Biological Characterization of a New World Mono-/Bipartite Begomovirus/Deltasatellite Complex Infecting *Corchorus siliquosus*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1755. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01755>
- Fiallo-Olivé, E., Pan, L.-L., Liu, S.-S., & Navas-Castillo, J. (2020). Transmission of Begomoviruses and Other Whitefly-Borne Viruses: Dependence on the Vector Species. *Phytopathology*, 110(1), 10–17. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-19-0273-FI>
- Ghosh, D., & Chakraborty, S. (2021). Molecular interplay between phytohormones and geminiviruses: A saga of a never-ending arms race. *Journal of Experimental Botany*, 72(8),
-

- Gojon, A. (2017). Nitrogen nutrition in plants: rapid progress and new challenges. *Journal of Experimental Botany*, 68(10), 2457–2462. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx171>
- Guenoune-Gelbart, D., Sufrin-Ringwald, T., Capobianco, H., Gaba, V., Polston, J. E., & Lapidot, M. (2010). Inoculation of plants with begomoviruses by particle bombardment without cloning: Using rolling circle amplification of total DNA from infected plants and whiteflies. *Journal of Virological Methods*, 168(1–2), 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2010.04.022>
- Guo, J., Jia, Y., Chen, H., Zhang, L., Yang, J., Zhang, J., ... Zhou, Y. (2019). Growth, photosynthesis, and nutrient uptake in wheat are affected by differences in nitrogen levels and forms and potassium supply. *Scientific Reports*, 9(1), 1248. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37838-3>
- Guo, S., Zhou, Y., Shen, Q., & Zhang, F. (2007). Effect of Ammonium and Nitrate Nutrition On Some Physiological Processes in Higher Plants - Growth, Photosynthesis, Photorespiration, and Water Relations. *Plant Biology*, 9(1), 21–29. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924541>
- Gutierrez, R. A. (2012). Systems Biology for Enhanced Plant Nitrogen Nutrition. *Science*, 336(6089), 1673–1675. <https://doi.org/10.1126/science.1217620>
- Han, M., Okamoto, M., Beatty, P. H., Rothstein, S. J., & Good, A. G. (2015). The Genetics of Nitrogen Use Efficiency in Crop Plants. *Annual Review of Genetics*, 49(1), 269–289. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-112414-055037>
- Hanley-Bowdoin, L., Bejarano, E. R., Robertson, D., & Mansoor, S. (2013). Geminiviruses: masters at redirecting and reprogramming plant processes. *Nature Reviews Microbiology*, 11(11), 777–788. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3117>
- Hesketh, E. L., Saunders, K., Fisher, C., Potze, J., Stanley, J., Lomonosoff, G. P., & Ranson, N. A. (2018). The 3.3 Å structure of a plant geminivirus using cryo-EM. *Nature Communications*, 9(1), 2369. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04793-6>
- Hipp, K., Grimm, C., Jeske, H., & Böttcher, B. (2017). Near-Atomic Resolution Structure of a Plant Geminivirus Determined by Electron Cryomicroscopy. *Structure*, 25(8), 1303–1309.e3. <https://doi.org/10.1016/j.str.2017.06.013>
- Houdusse, F., Garnica, M., & García-Mina, J. M. (2007). Nitrogen fertiliser source effects on the growth and mineral nutrition of pepper (*Capsicum annum* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(11), 2099–2105. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2970>
- Houdusse, F., Garnica, M., Zamarreño, A. M., Yvin, J. C., & García-Mina, J. (2008). Possible mechanism of the nitrate action regulating free-putrescine accumulation in ammonium fed plants. *Plant Science*, 175(5), 731–739. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2008.07.008>
- Huber, D. M., & Watson, R. D. (1974). Nitrogen Form and Plant Disease. *Annual Review of*
-

- Huber, D., Römheld, V., & Weinmann, M. (2012). Relationship between Nutrition, Plant Diseases and Pests. In *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* (pp. 283–298). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384905-2.00010-8>
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, A. y P. (INIFAP). (2019). Habanero Jaguar, impactando al agro mexicano | Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias | Gobierno | gob.mx. Retrieved April 21, 2021, from <https://www.gob.mx/inifap/articulos/habanero-jaguar-impactando-al-agro-mexicano>
- ICTV. (2020.). Genus: Begomovirus - Geminiviridae - ssDNA Viruses - I. Retrieved December 17, 2020, from https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_online_report/ssdna-viruses/w/geminiviridae/392/genus-begomovirus
- International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). (2020). Retrieved December 17, 2020, from <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>
- Islam, R., Sultana, T., Haque, A., Hossain, I., Sabrin, N., & Islam, R. (2018). Growth and Yield of Chilli Influenced By Nitrogen And Phosphorus. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 11(5), 54–68. <https://doi.org/10.9790/2380-1105025468>
- Jian, S., Liao, Q., Song, H., Liu, Q., Lepo, J. E., Guan, C., ... Zhang, Z. (2018). NRT1.1-Related NH₄⁺ Toxicity Is Associated with a Disturbed Balance between NH₄⁺ Uptake and Assimilation. *Plant Physiology*, 178(4), 1473–1488. <https://doi.org/10.1104/pp.18.00410>
- Jones, R. A. C. (2020). Disease Pandemics and Major Epidemics Arising from New Encounters between Indigenous Viruses and Introduced Crops. *Viruses*, 12(12), 1388. <https://doi.org/10.3390/v12121388>
- Khan, M. S., Ji, S.-H., & Chun, S.-C. (2012). Begomoviruses and Their Emerging Threats in South Korea: A Review. *The Plant Pathology Journal*, 28(2), 123–136. <https://doi.org/10.5423/PPJ.2012.28.2.123>
- Kiba, T., & Krapp, A. (2016). Plant Nitrogen Acquisition Under Low Availability: Regulation of Uptake and Root Architecture. *Plant and Cell Physiology*, 57(4), 707–714. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcw052>
- Kothandaraman, S. V., Devadason, A., & Ganesan, M. V. (2016). Seed-borne nature of a begomovirus, Mung bean yellow mosaic virus in black gram. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(4), 1925–1933. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7188-7>
- Kumar, S., Srivastava, A., Kumari, A., Raj, R., Jaidi, M., & Raj, S. K. (2017). Begomovirus Disease Management Measures, Now and Then. In S. Saxena & A. K. Tiwari (Eds.), *Begomoviruses: Occurrence and Management in Asia and Africa* (© Springer, pp. 71–92). https://doi.org/10.1007/978-981-10-5984-1_5
- Lecompte, F., Abro, M. A., & Nicot, P. C. (2010). Contrasted responses of *Botrytis cinerea* isolates developing on tomato plants grown under different nitrogen nutrition regimes. *Plant Pathology*, 59(5), 891–899. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02320.x>
-

-
- Leke, W. N., Dione, A. N. M., Ndindeng, S. A., & Woin, N. (2013). Begomovirus disease: The most devastating disease of cultivated tomato. *Tomatoes: Cultivation, Varieties and Nutrition*, (April 2014), 125–138.
- López, S. N., Riquelme, M. B., & Botto, E. (2010). Integración del control biológico y químico de la mosca blanca *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 36(2), 190–194.
- Macías Rodríguez, H., Muñoz Villalobos, J. A., Velásquez Valle, M. A., Potisek Talavera, M. del C., & Villa Castorena, M. M. (2013). HABANERO PEPPER: GROWING DESCRIPTION IN THE YUCATAN PENINSULA. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, XII(2), 37–43. <https://doi.org/10.5154/r.rchsza.2012.06.028>
- Marschner, H. (1983). General Introduction to the Mineral Nutrition of Plants. In *Inorganic Plant Nutrition* (pp. 5–60). https://doi.org/10.1007/978-3-642-68885-0_2
- Martins, L. G. C., Raimundo, G. A. S., Ribeiro, N. G. A., Silva, J. C. F., Euclides, N. C., Loriato, V. A. P., ... Fontes, E. P. B. (2020). A Begomovirus Nuclear Shuttle Protein-Interacting Immune Hub: Hijacking Host Transport Activities and Suppressing Incompatible Functions. *Frontiers in Plant Science*, 11, 398. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00398>
- Mccauley, A., Jones, C., & Jacobsen, J. (2011). Plant Nutrient Functions and Deficiency and Toxicity Symptoms Visual Symptoms as a Diagnostic Tool. *Montana State University Extension*, (9), 1–16. Retrieved from <http://mtvernon.wsu.edu/wp-content/uploads/2016/01/Plant-Nutrient-Functions-and-Deficiency-and-Toxicity-Symptoms-MSU-2013.pdf>
- McGrath, J. M., Spargo, J., & Penn, C. J. (2014). Soil Fertility and Plant Nutrition. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, (August), 166–184. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52512-3.00249-7>
- Mejía-Teniente, L., Joaquin-Ramos, A., Torres-Pacheco, I., Rivera-Bustamante, R., Guevara-Olvera, L., Rico-García, E., & Guevara-Gonzalez, R. (2015). Silencing of a Germin-Like Protein Gene (CchGLP) in Geminivirus-Resistant Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) BG-3821 Increases Susceptibility to Single and Mixed Infections by Geminiviruses PHYVV and PepGMV. *Viruses*, 7(12), 6141–6151. <https://doi.org/10.3390/v7122930>
- Meneses-Lazo, R. E., Garruña-Hernández, R., Latournerie-Moreno, L., Andrade-Torres, J. L., & Pérez-Gutiérrez, A. (2018). CARACTERIZACIÓN FENOLÓGICA Y FISIOLÓGICA DE VARIEDADES EXPERIMENTALES DE CHILE HABANERO CON ALTO POTENCIAL AGRONÓMICO. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(1), 67–74. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.1.67-74>
- Mikkelsen, R. (2016). All plant nutrients interact. *Plant Nutrition Today by He International Plant Nutrition Institute (IPNI)*, 3(7), 2.
- Miller, A. J. (2014). Plant Mineral Nutrition. In *eLS* (eLS. John, pp. 1–6). <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0023717>
- Missouri Botanical Garden. (n.d.). *Capsicum chinense*. Retrieved November 14, 2018, from
-

<http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?kempercode=a684>

Mosaic Crop Nutrition. Nitrogen - Nutrient Management. (n.d.). Retrieved October 7, 2021, from <https://www.croplnutrition.com/nutrient-management/nitrogen>

Mur, L. A. J., Simpson, C., Kumari, A., Gupta, A. K., & Gupta, K. J. (2016). Moving nitrogen to the centre of plant defence against pathogens. *Annals of Botany*, 119(5), mcw179. <https://doi.org/10.1093/aob/mcw179>

Oswalde, A. (2011). Optimization of plant mineral nutrition revisited: the roles of plant requirements, nutrient interactions, and soil properties in fertilization management. *Environmental and Experimental Biology*, 9(3), 1–8.

Owen, A., & Jones, D. (2001). Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(4–5), 651–657. [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00209-1](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00209-1)

Pandey, R. (2015). Mineral Nutrition of Plants. In B. Bahadur, M. Venkat Rajam, L. Sahijram, & K. V. Krishnamurthy (Eds.), *Plant Biology and Biotechnology: Plant Diversity, Organization, Function and Improvement* (Vol. 1, pp. 1–827). <https://doi.org/10.1007/978-81-322-2286-6>

Pérez-Padilla, V., Fortes, I. M., Romero-Rodríguez, B., Arroyo-Mateos, M., Castillo, A. G., Moyano, C., ... Moriones, E. (2020). Revisiting Seed Transmission of the Type Strain of Tomato yellow leaf curl virus in Tomato Plants. *Phytopathology*, 110(1), 121–129. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-19-0232-FI>

Pieterse, C. M. J., Leon-Reyes, A., Van der Ent, S., & Van Wees, S. C. M. (2009). Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology*, 5(5), 308–316. <https://doi.org/10.1038/nchembio.164>

Pimentel Alvarado, Ó. (Ed.). (2015). *Agenda Técnica Agrícola Yucatán* (2da ed.). México: SAGARPA.

Pradhan, B., Vu, T., & Mukherjee, S. (2017). *Molecular Biology of Geminivirus DNA Replication*. (February). Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/316456253>

Prins, M., Laimer, M., Noris, E., Schubert, J., Wassenegger, M., & Tepfer, M. (2008). Strategies for antiviral resistance in transgenic plants. *Molecular Plant Pathology*, 9(1), 73–83. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00447.x>

Ramírez Meraz, M., Arcos Cavazos, G., & Méndez Aguilar, R. (2018). Jaguar: cultivar de chile habanero para México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(2), 487–492. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i2.1089>

Rana, V. S., Popli, S., Saurav, G. K., Raina, H. S., Jamwal, R., Chaubey, R., ... Rajagopal, R. (2019). Implication of the Whitefly, *Bemisia tabaci*, Collagen Protein in Begomovirus Acquisition and Transmission. *Phytopathology*, 109(8), 1481–1493. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-18-0082-R>

-
- Ravazzolo, L., Trevisan, S., Forestan, C., Varotto, S., Sut, S., Dall'Acqua, S., ... Quaggiotti, S. (2020). Nitrate and Ammonium Affect the Overall Maize Response to Nitrogen Availability by Triggering Specific and Common Transcriptional Signatures in Roots. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 686. <https://doi.org/10.3390/ijms21020686>
- Rojas, M. R., Macedo, M. A., Maliano, M. R., Soto-Aguilar, M., Souza, J. O., Briddon, R. W., ... Gilbertson, R. L. (2018). World Management of Geminiviruses. *Annual Review of Phytopathology*, 56(1), 637–677. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100327>
- Ruiz-Lau, N., Bojórquez-Quintal, E., Benito, B., Echevarría-Machado, I., Sánchez-Cach, L. A., Medina-Lara, M. de F., & Martínez-Estévez, M. (2016). Molecular Cloning and Functional Analysis of a Na⁺-Insensitive K⁺ Transporter of *Capsicum chinense* Jacq. *Frontiers in Plant Science*, 7(January 2017). <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01980>
- Ruiz-Lau, N., Medina Lara, F., & Martínez Estévez, M. (2011). *Capsicum+chinense-Habanero-Yucatan* (1). 70–77. Retrieved from https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/62_3/PDF/Habanero.pdf
- Saad, M. F. M., Sau, A. R., Akbar, M. A., Baharum, S. N., Ramzi, A. B., Talip, N., & Bunawan, H. (2021). Construction of Infectious Clones of Begomoviruses: Strategies, Techniques and Applications. *Biology*, 10(7), 604. <https://doi.org/10.3390/biology10070604>
- SAGARPA. (2017). *CHILES Y PIMIENTOS Mexicanos planeación agrícola nacional*. Retrieved from https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257072/Potencial-Chiles_y_Pimientos-parte_uno.pdf
- Salazar-Jara, F. ., & Juárez-López, P. (2013). Requerimiento Macronutritional en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista BioCiencias*, 2(2). Retrieved from <http://revistabiociencias.uan.mx/index.php/BIOCIENCIAS/article/view/32/169>
- Samaniego, Blanca., Reyes Arturo., Moreno, Oscar & Tun, J. (2017). Resistencia sistémica inducida contra virus fitopatógenos mediada por la inoculación con la rizobacteria *Bacillus spp* . Induced systemic resistance against plant viruses elicited by inoculation with. *Rev. Protección Veg*, 32(1), 10–22. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v32n1/rpv02117.pdf>
- Sastry, K. S., Mandal, B., Hammond, J., Scott, S. W., & Briddon, R. W. (2019). *Capsicum annuum* and *Capsicum frutescens* (Bell pepper, Chilli, Pepper, Sweet pepper). In *Encyclopedia of Plant Viruses and Viroids* (pp. 372–431). https://doi.org/10.1007/978-81-322-3912-3_174
- Saunders, K., Bedford, I. D., Yahara, T., & Stanley, J. (2003). The earliest recorded plant virus disease. *Nature*, 422(6934), 831–831. <https://doi.org/10.1038/422831a>
- Schumann, A., Vashisth, T., & SPANN, T. (2010). Mineral Nutrition Contributes to Plant Disease and Pest Resistance. *Soil and Water*, (July), 1–5.
- Seal, S. E., VandenBosch, F., & Jeger, M. J. (2006). Factors Influencing Begomovirus Evolution and Their Increasing Global Significance: Implications for Sustainable Control. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 25(1), 23–46. <https://doi.org/10.1080/07352680500365257>
-

-
- Shukla, S., & Saxena, A. (2019). Global Status of Nitrate Contamination in Groundwater: Its Occurrence, Health Impacts, and Mitigation Measures. In *Handbook of Environmental Materials Management* (pp. 869–888). https://doi.org/10.1007/978-3-319-73645-7_20
- SIAP, S. de I. A. y P. (2019). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Retrieved April 21, 2021, from <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/?fbclid=IwAR0bpg2JZzioKiQOP0XqkX2dTvFZBtc5u9XcMXSQOnGtR2JCttVqeLmAOAo>
- Silva, J., & Uchida, R. (2000). Essential Nutrients for Plant Growth : *Plant Nutrition Management in Hawaii's Soils, Approaches and Application to Tropical and Subtropical Agriculture*, 31–55.
- Silvar, C., & García-González, C. A. (2016). Deciphering Genetic Diversity in the Origins of Pepper (spp.) and Comparison with Worldwide Variability. *Crop Science*, 56(6), 3100. <https://doi.org/10.2135/cropsci2016.02.0128>
- Snehi, S. K., Purvia, A. S., Parihar, S. S., Gupta, G., Singh, V., & Raj, S. K. (2017). Overview of Begomovirus Genomic Organization and Its Impact. *International Journal of Current Research*, 9(11), 61368–61380.
- SNITT, S. N. D. I. Y. T. T. P. E. D. R. S. (2016). *AGENDA NACIONAL DE INVESTIGACIÓN, INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA, AGRÍCOLA 2016-2022* (pp. 1–198). pp. 1–198.
- Stevenson, F. J., & Stevenson, F. J. (1982). *Origin and Distribution of Nitrogen in Soil*. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr22.c1>
- Sun, Y., Wang, M., Mur, L. A. J., Shen, Q., & Guo, S. (2020). Unravelling the Roles of Nitrogen Nutrition in Plant Disease Defences. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 572. <https://doi.org/10.3390/ijms21020572>
- Suruthi, V., Nakkeeran, S., Renukadevi, P., Malathi, V. G., & Rajasree, V. (2018). Evidence of seed transmission of dolichos yellow mosaic virus, a begomovirus infecting lablab-bean in India. *VirusDisease*, 29(4), 506–512. <https://doi.org/10.1007/s13337-018-0494-9>
- Tadesse, T., & Nichols, M. A. (2003). THE EFFECT OF CONDUCTIVITY ON THE YIELD AND QUALITY OF SWEET PEPPER (CAPSICUM ANNUUM L.). *Acta Horticulturae*, 609(609), 197–199. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.609.27>
- Torres- Reveles, L. R., Velásquez-Valle, R., Mauricio-Castillo, J. A., & 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(2), 155–160.
- Torres-Herrera, S. I., Romero-Osorio, A., Moreno-Valenzuela, O., Pastor-Palacios, G., Cardenas-Conejo, Y., Ramírez-Prado, J. H., ... Argüello-Astorga, G. R. (2019). A Lineage of Begomoviruses Encode Rep and AC4 Proteins of Enigmatic Ancestry: Hints on the Evolution of Geminiviruses in the New World. *Viruses*, 11(7), 644. <https://doi.org/10.3390/v11070644>
-

-
- Torres-Olivar, V., Villegas-Torres, O. G., Domínguez-Patiño, M. L., Sotelo-Nava, H., Rodríguez-Martínez, A., Melgoza-Aleman, R. M., ... Alia-Tejacal, I. (2014). Role of Nitrogen and Nutrients in Crop Nutrition. *Journal of Agricultural Science and Technology.B*, 4(1B), 29–37. Retrieved from http://sfxhosted.exlibrisgroup.com/cpu?url_ver=Z39.88-2004&rft_val_fmt=info:ofi/fmt:kev:mtx:journal&genre=article&sid=ProQ:ProQ%253Aagricult urejournals&atitle=Role+of+Nitrogen+and+Nutrients+in+Crop+Nutrition&title=Journal+of+A gricultural+Science+and+Techn
- Tropicos | Name - *Capsicum chinense* Jacq. (2018.). Retrieved November 14, 2018, from <http://www.tropicos.org/Name/29602637>
- Tucuch-Haas, C. J., Alcántar-González, G., Ordaz-Chaparro, V. M., Santizo-Rincá, J. A., & Larqué-Saavedra, A. (2012). Producción y calidad de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) con diferentes relaciones NH₄⁺/NO₃⁻ y tamaño de partícula de sustratos. *Terra Latinoamericana*, 30, 9–15. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792012000100009&nrm=iso
- Varun, P., & Saxena, S. (2017). Transmission of Begomoviruses. In S. Saxena & A. K. Tiwari (Eds.), *Begomoviruses: Occurrence and Management in Asia and Africa* (pp. 51–69). https://doi.org/10.1007/978-981-10-5984-1_4
- Vatansever, R., Ozyigit, I. I., & Filiz, E. (2017). Essential and Beneficial Trace Elements in Plants, and Their Transport in Roots: a Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181(1), 464–482. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2224-3>
- Velásquez-Valle, R., Reveles-Torres, L. R., & Reveles-Hernández, M. (2013). *Manejo de las principales enfermedades del chile para secado en el norte centro de México*. México.
- WANG, X. dong, BI, W. shuai, GAO, J., YU, X. mei, WANG, H. yan, & LIU, D. qun. (2018). Systemic acquired resistance, NPR1, and pathogenesis-related genes in wheat and barley. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(11), 2468–2477. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61852-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61852-5)
- Xu, G., Wolf, S., & Kafkafi, U. (2001). Effect of varying nitrogen form and concentration during growing season on sweet pepper flowering and fruit yield. *Journal of Plant Nutrition*, 24(7), 1099–1116. <https://doi.org/10.1081/PLN-100103806>
- Xu, Guohua, Fan, X., & Miller, A. J. (2012). Plant Nitrogen Assimilation and Use Efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1), 153–182. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>
- Zhang, J., Lv, J., Dawuda, M. M., Xie, J., Yu, J., Li, J., ... Gan, Y. (2019). Appropriate Ammonium-Nitrate Ratio Improves Nutrient Accumulation and Fruit Quality in Pepper (*Capsicum annuum* L.). *Agronomy*, 9(11), 683. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110683>
- Zepeda Jazo, I. (2018). Manejo sustentable de plagas agrícolas en México. *Agricultura Sociedad y Desarrollo*, 15(1), 99. <https://doi.org/10.22231/asyd.v15i1.752>
- Zerbini, F. M., Briddon, R. W., Idris, A., Martin, D. P., Moriones, E., Navas-Castillo, J., ...
-

Varsani, A. (2017). ICTV Virus Taxonomy Profile: Geminiviridae. *Journal of General Virology*, 98(2), 131–133. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000738>

Zimmerman-Lax, N., Shenker, M., Tamir-Ariel, D., Perl-Treves, R., & Burdman, S. (2016). Effects of nitrogen nutrition on disease development caused by *Acidovorax citrulli* on melon foliage. *European Journal of Plant Pathology*, 145(1), 125–137. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0822-5>

Zuñiga-Romano, M. D. C., Ochoa-Martínez, D. L., Rojas-Martínez, R. I., & Zamora-Macorra, E. J. (2019). Identificación de begomovirus en tomate y determinación de su transmisión por semilla en Atlacomulco, estado de México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 37(2). <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1902-2>