

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA AGRICOLA
MAESTRIA EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

INTERACCION DEL VIROIDE "PLANTA MACHO" DEL
JITOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) CON SU
VECTOR (*Myzus persicae* Sulzer.)



DIRECCION ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES

TESIS

Que como Requisito Parcial
para obtener el Grado de
Maestro en Ciencias en
PROTECCION VEGETAL



PRESENTA:

GREGORIO ZAPATA ARREDONDO

CHAPINGO, MEXICO. 1996.

Dx86230



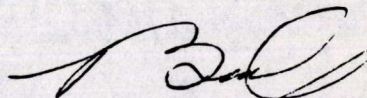
ESTA TESIS FUE REALIZADA BAJO LA DIRECCION DEL COMITE ASESOR
INDICADO, FUE APROBADA POR EL MISMO Y ACEPTADA COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

EN:

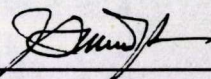
PROTECCION VEGETAL

PRESIDENTE:



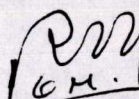
M.C. BENITO PINTO CORTES

ASESOR:



DR. JORGE GALINDO ALONSO

ASESOR:



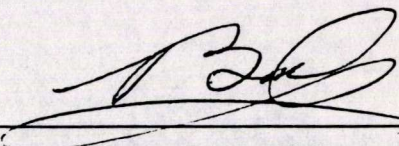
DR. GUILLERMO MONDRAGON PEDRERO

31008

CHAPINGO, MEX., DICIEMBRE DE 1996.

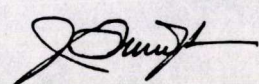
EL JURADO PARA EL EXAMEN DE GRADO DE MAESTRIA EN CIENCIAS EN
PROTECCION VEGETAL ESTUVO CONSTITUIDO POR:

PRESIDENTE:



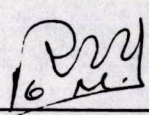
M.C. BENITO PINTO CORTES

ASESOR:



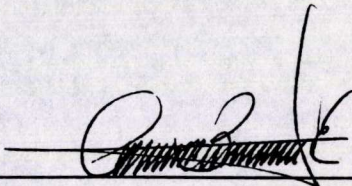
DR. JORGE GALINDO ALONSO

ASESOR:



DR. GUILLERMO MONDRAGON PEDRERO

REPRESENTANTE DE LA
COORDINACION DE ESTUDIOS
DE POSTGRADO DE PARASI-
TOLOGIA AGRICOLA:



M.C. ANDRES BOLAÑOS ESPINOZA

REPRESENTANTE DE LA
COORDINACION GENERAL DE
ESTUDIOS DE POSTGRADO
DE LA UACH:



DR. HECTOR F. ALVIZO VILLASANA

Cada uno de los cuales revisó y aprobó la tesis presentada.

**La ciencia en México
es magia
y los hombres de ciencia
magos,
saber algo en México
representa y es
un milagro.**

**Daniel Cosío Villegas
(1898-1976)**

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, por permitirme la oportunidad de realizar los estudios de Maestría en Ciencias con especialidad en PROTECCION VEGETAL.

A la Universidad Autónoma Chapingo, por haberme otorgado una ayudantía (BECA), con la cual me fue posible realizar mis estudios de maestría.

Al Dr. Jorge Galindo Alonso, por la acertada asesoría tanto en campo como en Invernadero y por la revisión detallada y sugerencias del escrito; por su gran amistad y sabios consejos como persona de ciencia, muchas gracias.

Al M.C. Benito Pinto Cortés, por su apoyo incondicional como Director de tesis, a su confianza puesta en mi persona, por la revisión y sugerencias del escrito y por la sincera amistad que me brindó.

Al Dr. Guillermo Mondragón Pedrera, por la revisión y sugerencias del escrito.

Al Dr. Héctor F. Alvizo Villasana, por su apoyo brindado al inicio de este trabajo y por la revisión del escrito.

Al M.C. Andrés Bolaños Espinoza, por la revisión y sugerencias del escrito y por la amistad que me brindó.

Al Sr. Mario Salazar por su sencillez y apoyo incondicional durante la realización del trabajo.

Al los M.C. Onésimo Moreno Rico y Dora Elizabeth Manzano Flores matrimonio ejemplar y a sus hijos Celeste y Oned, por el gran cariño que me brindaron en mi estancia en la Cd. de Aguascalientes y por el animo que me inyectaron para estudiar esta maestría.

A mis maestros, que con gran esfuerzo y esmero me proporcionaron conocimientos, herramienta principal para mi formación en esta área.

A mis compañeros de generación: Ing. Ramón Benito Hernández Rojas e Ing. José Carlos González Olvera por su amistad, gracias.

A compañeros de estudios: Ings. Zeferino Nava Pérez, Germán Ziranda Ramírez, Pedro Juárez González, Jorge Alberto Gil Valenzuela, Felicitos Larios Luna y Jovita de Paz Ulloa, con quien compartí momentos muy agradables que nos sirvieron como relax para olvidar un poco las tensiones diarias de estudio e investigación.

A la Ing. Magdalena Pérez Maceda, por su apoyo incondicional en la realización de gráficas y por las sugerencias hechas en el escrito, mil gracias.

A la señorita Patricia Alvarado Puente, porque a lo largo de mi carrera profesional y en todo momento, me ha brindado comprensión y cariño, gracias.

A todos aquellos que de una u otra forma me ayudaron para la realización del trabajo.

DEDICATORIA

A DIOS:

Porque con su glorioso poder, nos hace fuertes para luchar con gran fortaleza y paciencia, porque nos ha mostrado su amor dándonos toda sabiduría y entendimiento.

A MIS PADRES:

Ventura Arredondo Martínez
Justo Zapata Coronado

Porque soy producto de su amor fecundo, por su amor, apoyo bendición y confianza puestos en mi superación profesional y en mi persona.

A MIS ABUELITOS:

Noemí coronado Ramos
Rodolfo Zapata Puga[†]

Ejemplo fiel de honestidad, superación y cumplimiento a los compromisos. Por el cariño, los consejos y apoyo incondicional, que él me brindó y ella lo sigue haciendo.

Ma. de los Angeles Martínez Esmeralda

Por su amor y bendición.

A MIS HERMANOS:

Teresa, Silvia, Rodolfo, Lupe, Claudia y Gaby, por el cariño, comprensión y apoyo en todo momento de mi vida, mil gracias.

A MIS SOBRINOS:

Carlos, Edgar, Javier, Sandy, Cristy, Ivon, Rocio, Erik y Roberto, por su inocencia divina y porque me han hecho sentir ejemplo para su vida; que Dios los bendiga.

A LA SENORITA:

Magdalena Pérez Maceda, por su gran carácter filantrópico y sobre todo, por haberme compartido momentos tan llenos de amor y sinceridad.

A MI MISMO:

Porque me he demostrado que es libre y para mi muy sagrado, el derecho de pensar y actuar, tomando en cuenta que el tiempo y la constancia derrotan al fin, luchando siempre con el afán de vencer y no de ser vencido (ideario de Juárez).

C O N T E N I D O

	Pag.
INDICE DE FIGURAS.	i
INDICE DE CUADROS.	iii
RESUMEN.	iv
SUMMARY.	v
INTRODUCCION.	1
OBJETIVOS.	4
REVISION DE LITERATURA	5
2.1. Generalidades de los viroides.	5
2.1.1. Características de los viroides.	5
2.1.2. Diferencia entre viroide y virus	7
2.1.3. Descubrimiento de los viroides	7
2.1.4. Origen de los viroides	8
2.1.5. Viroides identificados	8
2.1.6. Transmisión de los viroides.	10
2.1.6.1. De manera experimental	10
2.1.6.2. Por medio del hombre	10
2.1.6.3. Por medio de semilla botánica.	10
2.1.6.4. Por medio de un vector	11
2.1.7. Replicación de los viroides.	11
2.1.7.1. Modelos de replicación del ARN viroidal	11
2.1.7.1.1. Modelo asimétrico.	12
2.1.7.1.2. Modelo simétrico	12

	Pag.
2.1.8. Movimiento de los viroides en las plantas. .	14
2.1.9. Patogénesis de los viroides	14
2.1.10. Localización subcelular	15
2.2. Aspectos del viroide Planta Macho del jitomate .	15
2.2.1. Distribución geográfica.	16
2.2.2. Importancia económica.	16
2.2.3. Sintomatología	16
2.2.4. Epidemiología.	17
2.2.5. Plantas hospedantes del viroide.	18
2.2.6. Alteraciones morfológicas y estructurales en plantas de jitomate enfermas.	18
2.2.7. Transmisión del VPMJ	19
2.2.7.1. Por medio de semilla botánica.	19
2.2.7.2. Por medio de un vector	19
2.3. Aspectos del áfido <i>Myzus persicae</i> Sulzer	20
2.3.1. Importancia económica.	20
2.3.2. Biología	20
2.3.3. Distribución	21
2.3.4. Diagnósis.	21
2.3.4.1. Apterós.	21
2.3.4.1.1. Color de ejemplares vivos.	21
2.3.4.1.2. Color de ejemplares aclarados. . . .	21
2.3.4.1.3. Caracteres morfológicos.	22
2.3.4.2. Alados	22
2.3.4.2.1. Color de ejemplares vivos.	22
2.3.4.2.2. Color de ejemplares aclarados. . . .	22

	Pag.
2.3.4.2.3. Caracteres morfológicos.	22
2.3.5. Ciclo biológico.	23
2.3.6. Hábitos.	24
2.3.7. Daños.	24
2.3.7.1. Directos	24
2.3.7.2. Indirectos	24
2.3.8. Proceso de alimentación.	24
2.3.8.1. Picadura de prueba	25
2.3.8.2. Penetración del estilete	25
2.3.9. Principales fases del ciclo de transmisión .	25
MATERIALES Y METODOS	27
3.1. Cultivo de plantas	27
3.2. Obtención del VPMJ, de material vegetal infectado naturalmente	27
3.3. Obtención de las plantas fuente del VPMJ	28
3.3.1. Inoculación inversa.	28
3.4. Establecimiento de una colonia de áfidos libre de virus o viroides.	30
3.5. Persistencia de transmisión del VPMJ y su efecto en la longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición	31
3.6. Efecto del VPMJ en la longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en un período de adquisición de 24 horas	35
RESULTADOS	38
4.1. Determinación de la persistencia de transmisión del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición, utilizando Ayehuixtle como planta fuente. . .	38

	Pag.
4.2. Determinación de la persistencia de transmisión del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición, utilizando Yerbamora como planta fuente.	41
4.3. Determinación del efecto del VPMJ en la longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición, utilizando Ayehuixtle como planta fuente	41
4.4. Determinación del efecto del VPMJ en la longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición, utilizando Ayehuixtle como planta fuente	46
4.5. Efecto del VPMJ en la longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en un período de 24 horas, utilizando Ayehuixtle como planta fuente	46
DISCUSION.	50
CONCLUSIONES	52
BIBLIOGRAFIA	54
APENDICE	57
LISTA DE CUADROS.	58

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	Pag.
1. Estructura del viroide Tubérculo Fusiforme de la Papa (ViTFFP). Parte superior: Representación tridimensional de la molécula del viroide sobreenrollada. Al centro: contorno de la estructura secundaria. Parte inferior: Secuencia de nucleótidos de la molécula del viroide (Tomado de Matthews, 1992)	6
2. Esquema hipotético de la replicación del PSTVd; A: Modelo asimétrico. B: Modelo simétrico (tomado de Branch y Hugh, 1984).	13
3. Síntomas causados por el viroide "Planta Macho" del jitomate en una planta de jitomate, observándose detención del crecimiento, epinastia, rosetado y reducción del tamaño de frutos	17
4. Esquema de <i>Myzus persicae</i> ; lado izquierdo, áfido adulto áptero y lado derecho, áfido adulto alado (tomado de Domínguez, 1994)	23
5. Representación esquemática de la adquisición de virus circulativo por un áfido (tomado de Urias y Rodríguez 1992)	26
6. Plantas hospedantes del VPMJ, utilizadas como planta fuente del viroide; al lado derecho planta de ayehuixtle; al lado izquierdo planta de yerbamora . .	29
7. Colonia de <i>Myzus persicae</i> , libre de virus o viroide	31
1A., 1B., 1C., 1D. y 1E. Persistencia de transmisión del VPMJ, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición por <i>Myzus persicae</i> , utilizando Ayehuixtle como planta fuente del viroide.	39
2A., 2B., 2C., 2D. y 2E. Persistencia de transmisión del VPMJ, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición por <i>Myzus persicae</i> , utilizando Ayehuixtle como planta fuente del viroide.	40
3A., 3B., 3C., 3D. y 3E. Persistencia de transmisión del VPMJ, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición por <i>Myzus persicae</i> , utilizando Yerbamora	

	Pag.
como planta fuente del viroide.	42
4A., 4B., 4C., 4D., 4E. y 4F. Longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el VPMJ en los diferentes períodos de adquisición, utilizando Ayehuixtle como planta fuente del viroide	44
5A., 5B., 5C., 5D., 5E. y 5F. Longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el VPMJ en los diferentes tiempos de adquisición, utilizando Ayehuixtle como planta fuente del viroide	45
6A., 6B., 6C., 6D., 6E. y 6F. Longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el VPMJ en los diferentes períodos de adquisición, utilizando Yerbamora como planta fuente del viroide	47
7A., 7B. y 7C. Longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en un período de adquisición de 24 horas, con transferencia y sin transferencia de los áfido a nuevas plántulas de jitomate.	48

INDICE DE CUADROS

CUADRO	Pag.
1. Relación de los viroides descubiertos hasta la fecha. .	9
2. Diferentes períodos de adquisición del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> (Exp. 1)	32
3. Diferentes períodos de adquisición del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> (Exp. 2)	34
4. Diferentes períodos de adquisición del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> (Exp. 3)	35
5. Afidos con transferencia a nuevas plántulas de jitomate y áfidos sin transferencia (Exp. 4)	36

RESUMEN

La enfermedad Planta Macho del jitomate, causada por el viroide conocido con el mismo nombre (VPMJ), se ha detectado en México en el estado de Morelos.

Las plantas afectadas muestran una reducción muy marcada del crecimiento, acortamiento de entrenudos, rosetado apical del follaje, las hojas y foliolos se encorvan hacia abajo (síntomas de epinastia). La floración se efectúa, pero las plantas producen frutos muy pequeños carentes de valor comercial, lo que ocasiona fuertes pérdidas económicas para los productores.

En 1985 se descubrió que el áfido *Myzus persicae* resultó ser muy eficiente en la transmisión del VPMJ. En estudios posteriores, se determinó que la transmisión del viroide fue persistente después de que el áfido se sometió a un período de adquisición de 24 horas en una planta de chile enferma. También se detectó que el mayor tiempo de persistencia del viroide fue de 13 días. Los áfidos sometidos a tientos de 20 segundos, no fueron capaces de transmitir el viroide.

De acuerdo a lo anterior, se tuvo la idea de que si el áfido muere una vez que deja de transmitir el viroide, existe la posibilidad de que el viroide afecta al áfido. Para dilucidar ésta hipótesis, se llevó a cabo el presente trabajo bajo los siguientes objetivos: Determinar el período mínimo de adquisición que el áfido requiere para transmitir el viroide, comprobar el tiempo de la persistencia de transmisión del viroide y conocer el efecto que causa el viroide en la longevidad del áfido.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: El áfido requiere un período mínimo de adquisición de 4 horas para transmitir el viroide. La transmisión del viroide, fue más eficiente al someter a los áfidos a un período de adquisición de 24 horas, tomando como planta fuente del viroide a *Solanum nigrum*. Cuando los áfidos se transfirieron cada 24 horas a nuevas plántulas de jitomate, la transmisión del viroide en algunos casos fue consecutiva y en otros casos fue discontinua.

El mayor y menor tiempo de persistencia del viroide fue de 13 y 8 días respectivamente. Manteniendo la temperatura a 28°C, los áfidos que transmitieron el viroide presentaron una longevidad de 8 a 13 días, mientras que los áfidos libres de virus o viroides (Testigo), presentaron una longevidad más larga. Los áfidos con períodos de adquisición de 15 min. y 1 hora, no fueron capaces de transmitir el viroide.

Un hallazgo también de importancia y del cual no se tenía conocimiento; es que se puede utilizar tejido de hojas de plantas enfermas de jitomate, ayehuixtle y yerbamora como inóculo para transmitir mecánicamente el viroide.

SUMMARY

The Tomatoe Planta Macho disease, caused by the viroid know whit the some name (TPMVd), it has been detected in the State Morelos, México.

Infected plants are severely stunted, exhibit strong epinasty of leaves and leafles and shorting of internodes. Infected plants produce more flowers and fruit than healthy, but the fruits remain small and have not commercial value what causes strong economic losses for the farmers.

In 1985 was discovered the aphid *Myzus persicae* as efficient vector of the TPMVd. In subsequent studies, was determined that the aphid since acquire the viroid using chilli pepper as a viroid source and giving the aphids a 24 hours period to acquire the viroid, the longest viroid persistence detected was of 13 days. Aphids whit a 20 seconds acquisition period, were unable to transmit the viroid.

In accordance whit before mentioned, to have idea that if aphid die once lets transmitting the viroid, exist the possibility that the viroide affects the aphid. This hypotesis were clear whit realization this work under objetive following: to determine the minimum period of acquisition that the aphids require to transmit the viroid. To confirm the viroid transmission persistence and know the effects of viroid in the aphid longevity.

The obtained result were: The aphid require a minimum acquisition period of 4 hours to transmit the viroid. The transmission was more efficient when the aphids were place a 24 hours period to obtain the viroid, using *Solanum nigrum* as a viroid source. In some cases, the viroid transmission was consecutive and other cases the viroid transmission was intermittent.

When the aphids were transfered each 24 hours to new tomato seedlings and maintaining the temperature in the greenhouse at around of 28°C, the longest and smaller viroid persitence detected was 13 and 8 days respectively, and the aphids that transmitting the viroid showed a longevity of 8 to 13 days, while the aphid free virus or viroids presented a longest longevity. Aphid whit a 15 minutes and 1 hour acquisition period were unable to transmit the viroid.

A find important but unknown, is that can to be used leaf tissues of affected *Lycopersicon esculentum*, *S. rostratum* and *S. nigrum* plants to transmit mechanically the viroide.

INTRODUCCION

El jitomate es una de las hortaliza que más se cultiva a nivel mundial. En México en 1991 se sembraron 81,545 ha y en 1992 fueron 78,710 ha, siendo una fuente importante de empleo por los 140 jornales por hectárea que se utilizan en promedio, así mismo es importante por las divisas que genera (INEGI, 1993).

El jitomate es nativo de América tropical, cuyo origen se localiza en la región de los Andes (Chile, Colombia, Ecuador, Bolivia, y Perú) y donde se encuentra la mayor variabilidad genética y abundancia de tipo silvestre. Las evidencias existentes señalan a México como centro de domesticación del jitomate. La palabra tomate proviene del Náhuatl "tomatl" (Chávez, 1980). En 1554 fue llevado a Europa, empezando a comercializarse en Estados Unidos hacia el año de 1835 (Chávez, 1980; Cruces, 1986).

En los estados de Morelos, el jitomate es afectado por una enfermedad conocida como "Planta Macho" causada por un viroide del mismo nombre (ViPMJ) (Bauer, 1984). El nombre de la enfermedad obedece a que las plantas afectadas no producen frutos comerciales. En el estado de Morelos, la enfermedad causa pérdidas del 16 % en cultivos de riego de jitomate. Ocasionalmente algunos agricultores pueden sufrir pérdidas hasta de 100 % (Galindo, 1987).

Los viroides son elementos patogénicos autorreplicables y los más pequeños conocidos actualmente. Son cadenas circulares de 240 a 380 nucleótidos, no protegidos por una cápside, tienen un genóma 10 veces más pequeño que los más pequeños bacteriófagos de ARN. Se descubrieron en 1970, y solamente se les ha encontrado en las plantas superiores donde ocasionan graves enfermedades (Cornuet, 1992).

Las plantas afectadas por el ViPMJ presentan una marcada detención del crecimiento, acortamiento de entrenudos y como

consecuencia de éello rosetado apical, las hojas y foliolos presentan distorsión y epinastia, los frutos formados son de tamaño reducido y algunos aparecen con esterilidad parcial o total (Belalcázar y Galindo, 1974).

La enfermedad fue consignada por primera vez en 1974 por Belalcázar y Galindo. Al estudiar la etiología de la "Planta Macho", indicaron que esta enfermedad es producida por un virus poliédrico. Posteriormente, al profundizar en el estudio de las características del agente causal de la enfermedad, consideraron que se trataba de un viroide muy semejante o igual al del Tubérculo Fusiforme de la Papa, del Exocortis de los Cítricos o al del Apenachado Apical del Jitomate, ya que los síntomas de la Planta Macho son muy semejantes a los que producen en plantas de jitomate inoculadas con estos viroides (Galindo y Rodríguez, 1978).

La enfermedad se ha localizado únicamente en el estado de Morelos. Se encuentra presente en áreas con temperatura media anual mayor de 22°C. El viroide se encuentra ampliamente distribuido en Solanáceas silvestres como el tomatillo (*Physalis foetens*), yerbamora (*Solanum nigrum*), y ayehuixtle (*Solanum rostratum*). En plantas cultivadas como el jitomate (*Lycopersicon esculentum*), el tomate (*Physalis ixocarpa*) y chile (*Capsicum annuum*) (Orozco y Galindo, 1986).

La época del año en que se ha encontrado mayor incidencia del viroide en casi todas las especies de plantas hospedantes, fue en la época seca. Esta época corresponde a los cultivos de riego, donde la incidencia del viroide fluctúa entre 10 y 15 %; excepto en el municipio de Tepalcingo donde la incidencia del viroide alcanzó 45 % en el cultivo de jitomate. En la época de lluvias, la correspondiente a cultivos de temporal, la incidencia del viroide generalmente fue muy baja, tendiendo a 0 % (Orozco, 1983).

Todos los viroides se transmiten mecánicamente en forma experimental. Algunos de ellos se diseminan en los cultivos de manera mecánica como el Exocortis de los Cítricos durante la poda, el Tubérculo Fusiforme de la papa por rozamiento de las plantas durante las labores de cultivo, el Enanismo del Crisantemo por los cortes de esquejes para su propagación vegetativa y la Mancha Amarilla del aguacate, durante la injertación (Galindo, 1987).

Algunos viroides como el Tubérculo Fusiforme de la Papa y la Mancha Amarilla del Aguacate, es común la transmisión por semilla (Comunicación personal Galindo, 1996).

Aunque en ciertos viroides se ha sospechado su diseminación por medio de un vector, a la fecha se tienen evidencias experimentales acertadas únicamente en el caso del viroide Planta Macho del jitomate al que se le ha encontrado un vector (Galindo y Aguilar, 1985).

Los datos de la ecología del viroide obtenidos en trabajos anteriores (Orózco y Galindo, 1986), fueron verdaderamente el factor determinante para el descubrimiento del agente transmisor del ViPMJ (Galindo, López y Aguilar, 1989). El insecto *Myzus persicae*, resultó ser un transmisor eficaz del viroide (con frecuencia del 100 %). El insecto una vez que adquiere el viroide de una planta enferma, lo conserva prácticamente el resto de su vida (Galindo, 1987).

Se sugiere que existe una estrecha relación entre el viroide y el vector, de donde depende la persistencia del viroide en el cuerpo del áfido. En un estudio realizado anteriormente se determinó que la transmisión del viroide es persistente, después de que el áfido se sometió a un período de adquisición de 24 horas. El mayor tiempo de persistencia del viroide detectado fue de 13 días después de la adquisición. El áfido deja de transmitir el viroide una vez que muere. Los áfidos sometidos a un período de adquisición

más corto (20 segundos), no fueron capaz de transmitir el viroide (Galindo, López y Aguilar, 1989).

De acuerdo a lo expuesto anteriormente, se tuvo la idea de que: si el áfido muere una vez que deja de transmitir el viroide, existe la posibilidad de que el viroide afecta al áfido.

Para dilucidar esta hipótesis, se realizó el presente trabajo bajo los siguientes objetivos.

- Determinar el período mínimo de adquisición que *Myzus persicae* requiere para transmitir el ViPMJ.
- Comprobar la persistencia de transmisión del ViPMJ por *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición.
- Determinar el efecto del ViPMJ en la longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en diferentes tiempos de adquisición.
- Determinar la interacción del ViPMJ con su vector.

REVISION DE LITERATURA

2.1. Generalidades de los viroides

En un principio, cuando se empezaron a conocer las características de los viroides, se pensó que se trataba de un virus desnudo. En la actualidad se sabe que los virus y los viroides son dos patógenos completamente diferentes y sin ningún indicio de tener relación filogenética cercana (Galindo, 1987).

Los viroides son elementos patogénicos autorreplicables y los más pequeños bacteriófagos de ARN. Se descubrieron en 1970 y solamente se les ha encontrado en plantas vegetales, donde ocasionan graves enfermedades (Cornuet, 1992).

2.1.1. Características de los viroides

Los viroides son moléculas de ácido nucleico de peso molecular relativamente bajo (1.1 a 1.3×10^5 daltons) (Diener, 1979). Consisten de una molécula circular de ARN unida covalentemente en sus extremos, carece de cápside proteica y es autorreplicable (Kiefer, Owens y Diener, 1983). En la estructura molecular, los viroides tienen amplias regiones de complementariedad molecular y en aquellas pequeñas regiones no apareadas quedan unos anillos. Esta estructura de cadena cerrada con amplios apareamientos, es la responsable de la resistencia que tienen los viroides a altas temperaturas y de cierta resistencia a las enzimas ribonucleasas. También se señala que estas regiones son los responsables de la resistencia de los viroides a los rayos ultravioleta y a las radiaciones ionizantes. La estructura en forma circular, es decir extendida, exhibe una longitud de aproximadamente 100 nm y en forma compactada (forma de trencita), unos 37 nm (Fig. 1) (Galindo, 1987., Diener, 1979; citado por López, 1986).

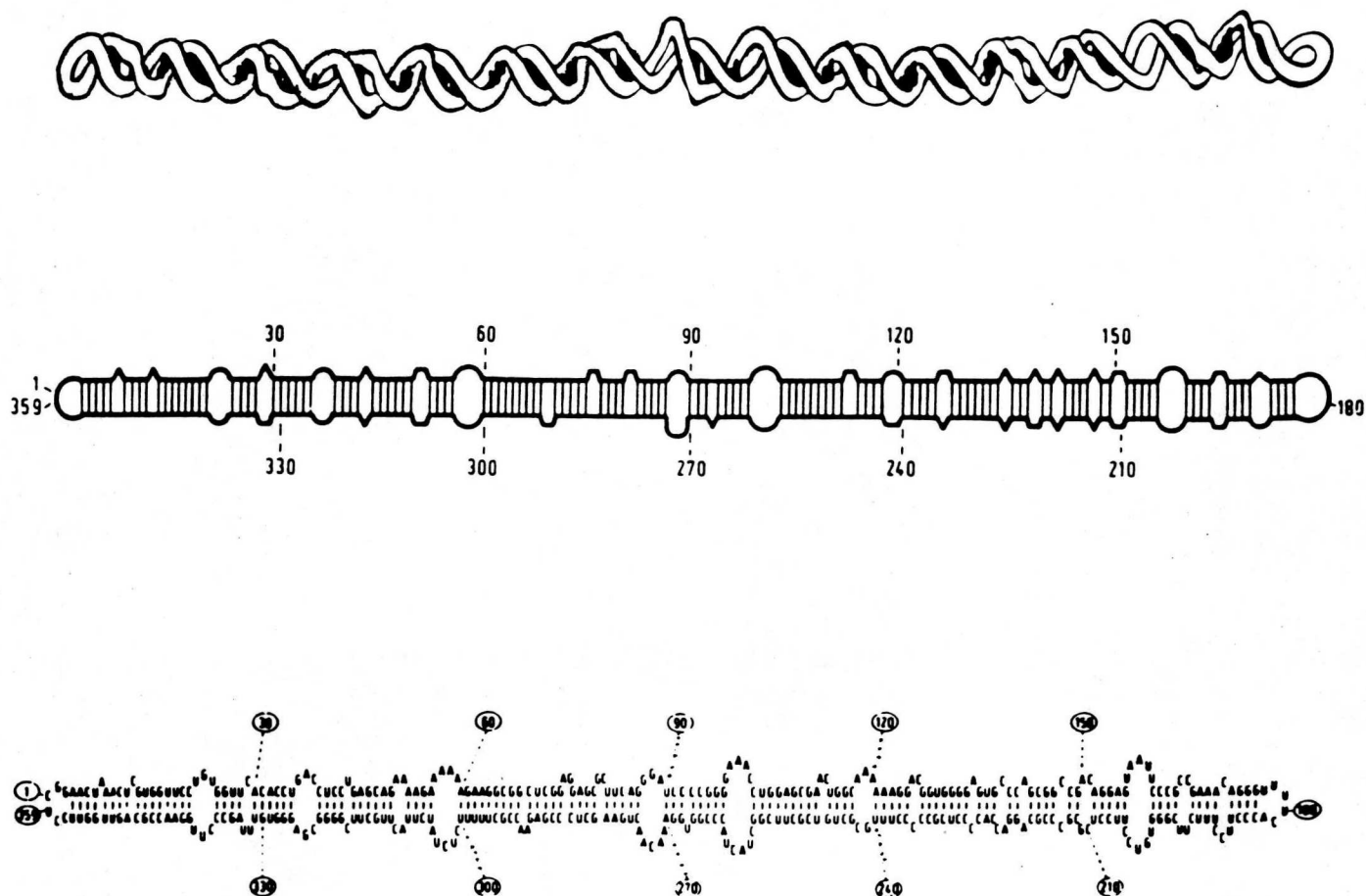


Fig. 1. Estructura del viroide Tubérculo Fusiforme de la Papa (ViTTP). Parte superior: Representación tridimensional de la molécula del viroide sobreenrollada. Al centro: Contorno de la estructura secundaria. Parte inferior: Secuencia de nucleótidos de la molécula del viroide (Tomado de Matthews, 1992).

Uno de los aspectos que tienen en común los viroides consignados hasta la fecha, es el parasitar plantas de clima caliente, con excepción de la papa que es infectada por el viroide Tubérculo Fusiforme. Sin embargo, esto podría ser una desviación ocasionada por el hombre (Comunicación personal Galindo, 1996).

2.1.2. Diferencia entre viroide y virus

Afortunadamente, la evidencia de los conceptos de viroide hacen que hoy en día se conozcan completamente las estructuras de varios viroides (Diener, 1979).

Los viroides se diferencian de los virus en que carecen de cápside, son de peso molecular más bajo que los virus y tienen un grupo muy reducido de nucleótidos (360 ViPMJ y 6,340 VMT) (Pinto, 1992).

2.1.3. Descubrimiento de los viroides

Para el descubrimiento de los viroides fue necesario el debilitamiento del "dogmatismo etiológico". Entre los primeros factores que influyeron para esto, fue el encontrar a principio de los años 60, que algunos virus bajo ciertas circunstancias podrían existir sin su cápside proteica. Es decir, se facilitó el concebir ya la posibilidad de que una molécula de ARN sin cubierta proteica podría actuar como patógeno. También en estos estudios, la extracción con fenol de ácidos nucleicos, tomó la familiaridad en la metodología fitopatológica. Es así que a fines de los años 60, se tienen ya las condiciones para que ocurra el descubrimiento de los viroides (Galindo, 1987). El primer patógeno que se caracterizó como viroide fue el agente causante del Tubérculo Fusiforme de la Papa (ViTFP) (Riesner y Gross, 1985).

2.1.4. Origen de los viroides

Se han propuesto varios orígenes de los viroides, basados principalmente en la similitud de la secuencia de nucleótidos:

1) De los pequeños ARNs nucleares, que se cree juegan un papel en el proceso de los primeros productos de la transcripción de los genes divididos.

2) De intrones; hay algunas secuencias similares de donde se sugiere sea el origen.

3) De elementos genéticos transposables. El análisis de las secuencias de un grupo de viroides ha mostrado algunas similitudes sorprendentes con elementos genéticos transposables.

4) De ARNs satélite; estos y los viroides muestran pequeñas secuencias similares, y tienen algunas propiedades en común: Tamaño pequeño, ARN de cadena sencilla circular (ssARN) y carecen de la actividad del ARNm; pero la replicación de los viroides se realiza en el núcleo, mientras que la replicación de los ARNs satélites se realiza en el citoplasma.

5) Se concibe a los viroides, como un fósil viviente de la evolución prebiótica, por su tamaño pequeño, conformación circular, estabilidad inherente, su ciclo de replicación (ARN-ARN) y la falta de capacidad de codificar proteína. Pueden ser descendientes de un tipo de moléculas de ARN que existió antes de la evolución del ADN (Matthews, 1992; Riesner y Gross, 1985 y Diener, 1982).

2.1.5. Viroides identificados

El nombre de los viroides se deriva del nombre vernáculo de la enfermedad que causan. Desde 1971 a la fecha se han descubierto 13 viroides, de los cuales la mayoría son patógenos importantes de plantas vegetales (Galindo, 1987). En el Cuadro 1 se indican los viroides descubiertos.

Cuadro 1. relación de los viroides descubiertos hasta la fecha.

Nombre del viroide		Descubrimiento
		Autor y Lugar
Español	Ingles	
1. Vi. Tubérculo Fusiforme de la Papa ViTFP	Potato Spindle Tuber V. PSTVd	Diener, 1971 E.U.A.
2. Vi. Exocortis de los Cítricos ViEC	Citrus Exocortis V. CEVd	Semancik-Weathers 1972, E.U.A. Sänger, 1972 Alemania
3. Vi. Enanismo del Crisantemo ViECr	Chrysanthemum Stunt V. CSVd	Diener-Lawson 1972, E.U.A.
4. Vi. Moteado Clorótico del Crisantemo ViMCC	Chrysanthemum Chlorotic Motle V. COMVd	Romaine-Horst 1975, E.U.A.
5. Vi. Fruta Pálida del Pepino ViFPP	Cucumber Pale Fruit V. CPFVd	Van Dorst-Peters, 1974 Holanda.
6. Vi. Cadang-Cadang del Cocotero ViCCC	Coconut Cadang-Cadang V. CCCVd	Randles, 1975 Australia.
7. Vi. Enanismo del Lúpulo ViEL	Hop Stunt V. HSVd	Sasaki-Shikata, 1977 Japón.
8. Vi. Latente de la Columnela ViLC	Columnnea Latent V. CLVd	Owens et al. 1978 E.U.A.
9. Vi. Mancha Amarilla del Aguacate ViMAA	Avocado Sunblotch V. ASBVd	Tomas-Mohamed, 1979 Australia.
10. Vi. Enanismo Apical del Jitomate ViEAJ	Tomato Apical Stunt V. TASVd	Walter, 1981 Francia.
11. Vi. Planta Macho del Jitomate ViPMJ	Tomato Planta Mancho V. TPMVd	Galindo et al., 1982 México.
12. Vi. Enanismo del Cadillo ViEC	Burdock Stunt V. BSVd	Chen et al., 1983 China
13. Vi. de la Papita Mexicana ViPM	Mexican Papita V. MPVd	Martínez et al., 1996 México.

Datos tomados de Galindo, 1987; Matthews, 1991; Martínez, 1996.

2.1.6. Transmisión de los viroides

2.1.6.1. De manera experimental

El método usual es la transmisión mecánica, la cual se realiza frotando un extracto de tejido de una planta enferma, sobre los tejidos sanos espolvoreados previamente con abrasivo (carborúndum). En algunos casos el tejido fuente del viroide puede contener inhibidores que interfieren en la transmisión; para superar este problema, se utiliza una solución extractora (amortiguador) que contenga fenol para preparar el inóculo. Cuando el hospedante es una planta arbórea, conviene en algún caso, realizar la transmisión por medio de injerto.

2.1.6.2. Por medio del hombre

En todos los cultivos de propagación vegetativa, el hombre resulta ser el responsable principal de la transmisión y diseminación de los viroides. Ejemplo, con los cortes de esquejes de crisantemo para su enraizado habrá transmisión accidental, cuando se corta una planta enferma y posteriormente se corta una planta sana. De manera semejante parecen ocurrir las transmisiones del Viroide del Exocortis de los Cítricos, cuando se realizan podas en los cítricos o durante la injertación.

2.1.6.3. Por medio de semilla botánica

En algunos viroides se ha encontrado capacidad para transmitirse por semilla. Esta forma de transmisión parece tener un significado epifititológico limitado si la semilla no se utiliza para el establecimiento del cultivo. Ejemplo, en el ViTFP, donde la siembra se realiza con tubérculos; la semilla botánica tendría cierta importancia solamente en la diseminación a gran distancia y dentro del ámbito de campos experimentales. En el caso del ViPMJ solo se transmite por semilla en algunos hospedantes silvestres. En el caso del ViMAA, la transmisión del viroide por semilla es de

gran trascendencia para este cultivo (Galindo 1987).

2.1.6.4. Por medio de un vector

Aunque en ciertos viroides se ha sospechado su diseminación por medio de un vector, a la fecha se tienen evidencias experimentales acertadas únicamente en el caso del Viroide Planta Macho del jitomate. El pulgón *Myzus persicae* Sulzer, transmite eficientemente el viroide, con frecuencia del 100 % (Galindo y Aguilar, 1985 y Galindo 1987).

2.1.7. Replicación de los viroides

La replicación de los viroides es todavía obscura; los viroides no codifican ninguna proteína. Por lo tanto, es preciso que sean polimerasas celulares las que efectúen la replicación (Kiefer, Owens y Diener, 1983; Cornuet, 1990).

En una época se pensó que los viroides tenían como base de su replicación al ADN nuclear de la célula hospedante. Esta idea quizá fue estimulada al existir la posibilidad de que los viroides tuvieron su origen en la célula de la misma especie de planta que actualmente infectan. Después de los esfuerzos de varios investigadores, se logró determinar que debido a que la molécula del viroide no tiene la capacidad de traducirse en proteína como para formar su propia replicasa, los viroides se replican en base a su propia molécula en ARN utilizando las enzimas de la célula hospedante. En la actualidad existe consenso en los conceptos generales de como se replican los viroides (Galindo 1987).

2.1.7.1. Modelos de replicación del ARN viroidal

Los breves experimentos conocidos (e.g. Sleger et al., 1986), demuestran que la replicación de los viroides, vía una cadena de ARN, es algo compleja. Algunos mecanismos de la replicación de esta

partícula han sido realizados por Branch et al., (1981); Owens y Diener, (1982); Ishikawa, (1984); Branch y Robertson, (1984) y Hulchins et al., (1985) (citados por Matthews, 1992).

2.1.7.1.1. Modelo asimétrico

Al momento en que el viroide (molécula +) ingresa a la célula, la molécula (+) empieza a ser "transcrita" con la participación de una enzima que puede ser la ARN replicasa dependiente del ADN (polimerasa II) o alguna otra. La "transcripción" se lleva a cabo con el mecanismo de "círculo en rotación", indicando con ello que la replicasa al terminar de transcribir el largo de una molécula, inicia una vuelta más para la transcripción de la siguiente. Así sucesivamente actúa en el círculo de la molécula (+) del viroide. Como resultado, se forma una molécula lineal multímera (-). Los multímeros (-) sirven de matriz para formar multímeros (+), los cuales son cortados por una enzima en monómeros. Posteriormente los monómeros se unen en sus extremos por acción de una ligasa y de esa manera quedan las nuevas moléculas de viroides (Fig. 2)

2.1.7.1.2. Modelo simétrico

Se parte de una molécula circular (+) que es transcrita mediante la participación de una enzima. La transcripción también se lleva a cabo con el mecanismo de "círculo en rotación", de donde se origina un multímero lineal (-). En seguida el multímero lineal (-) es cortado con una enzima, como resultado se obtienen monómeros (-) que son unidos en sus extremos por la participación de una ligasa formando monómeros circulares (-). Con la participación de una enzima replicasa, los monómeros circulares (-) son "transcritos" con el mecanismo de "círculo en rotación" para formar un multímero lineal (+). El multímero lineal (+) es cortado por una enzima en monómeros (+) y por medio de una enzima ligasa cada monómero se une en sus extremos, quedando las nuevas moléculas de viroide (Fig. 2) (Branch y Robertson, 1984; Riesner y Gross, 1985).

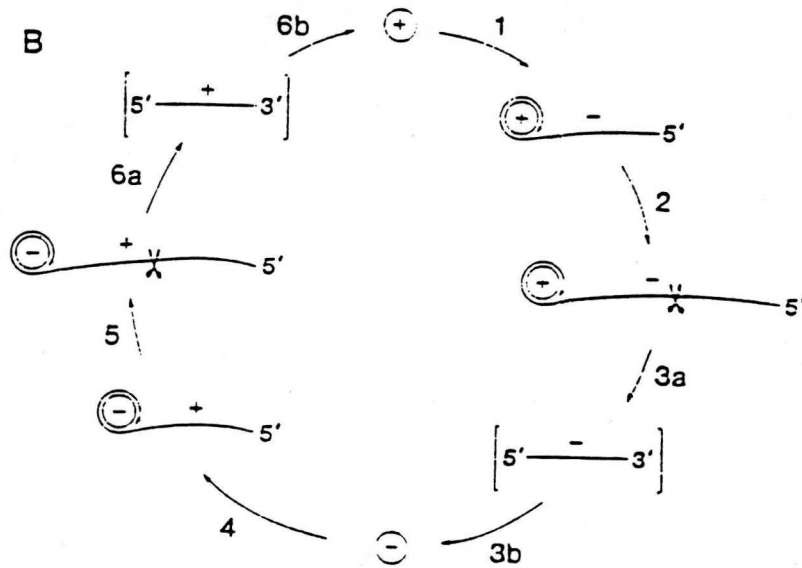
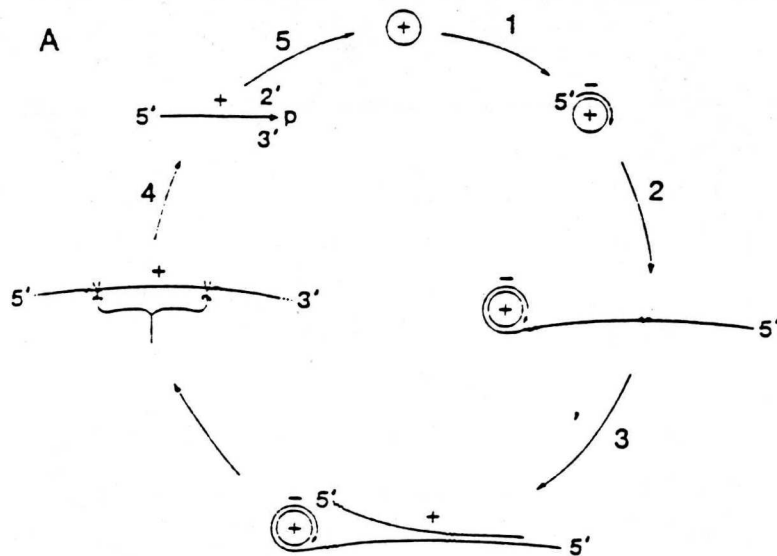


Fig. 2. Esquema hipotético de la replicación del ViTFP. A: Modelo asimétrico. B: Modelo simétrico (Tomado de Branch y Hugh, 1984).

2.1.8. Movimiento de los viroides en las plantas

Los virus con cápside proteica y los ARNs desnudos, se mueven en la planta en forma lenta de célula a célula por los plasmodesmos. En contraste los viroides se mueven en forma rápida en las plantas hospedantes, casi con seguridad a través del floema (Palukaitis, 1987, citado por Matthews, 1982). La resistencia relativa del ARN viroidal al ataque de las nucleasas, probablemente facilita su movimiento dentro de la planta; también es probable que las partículas del viroide sufran traslocación mientras se encuentran ligadas a algunas proteínas del hospedante (Matthews, 1992)

2.1.9. Patogénesis de los Viroides

Aún se desconoce como los viroides interfieren en el metabolismo de los hospedantes susceptibles, para producir los síntomas macroscópicos característicos observados en ciertas especies (Diener, 1979). Los síntomas pueden ser causados por la interacción directa del viroide con el genoma de la planta infectada; esto es por la interferencia con la regulación de genes (Diener, 1982; Semancik, 1979).

Recientemente se ha encontrado que los viroides tienen amplias secuencias de nucleótidos homólogos a secuencias de las moléculas llamadas pequeñas ARN-nucleares (ARNnp), los cuales parecen participar en el procesamiento para dar el acabado en la estructura de los ARNs, productos de la transcripción del ADN. La similitud de los viroides con dichas moléculas podrían hacer que estas causaran trastornos en el procesamiento de los ARN y con ello afectar el metabolismo celular.

Otros de los caminos que podría aportar información para entender la patogénesis de los viroides, podría ser el estudio de la proteína 70K que se encontró asociada con la infección del ViPMJ en plantas de jitomate (Galindo, 1987).

2.1.10. Localización subcelular

Los bioensayos de fracciones subcelulares de hojas de jitomate infectado con viroide Tubérculo Fusiforme de la papa, demostraron que solo los tejidos infectados y fracciones nucleares contienen infección apreciable. Los cloroplastos, mitocondrias, ribosomas y fracciones solubles contienen trazas de infectividad. La mayor infectividad está en la cromatina y puede ser extraída como ARN libre con soluciones amortiguadora de fosfatos. El viroide Exocortis de los Cítricos (ViEC), se localiza en la fracción nuclear asociado con la cromatina (Sänger, 1972), pero se ha reportado que el ViEC está asociado con un componente semejante a la membrana plasmática de la endomembrana (Takajashi y Diener, 1975).

2.2. Aspectos del Viroide Planta Macho del Jitomate

La enfermedad "Planta Macho" del jitomate fue observada por primera vez en plantas de jitomate en México, en el estado de Morelos (Galindo, 1987b). Inicialmente se reportó como una enfermedad viral (Belalcázar y Galindo, 1974).

En 1964 se tuvo conocimiento de la existencia de esta enfermedad en el estado de Morelos. Parece ser que el viroide es indígena de esta región y por consiguiente la enfermedad debe de haber existido con carácter epifítico desde la domesticación del jitomate (Galindo 1987).

Algunas evidencias de la etiología de esta enfermedad fueron obtenidas por Galindo y Rodríguez (1978) y finalmente demostrado completamente por Galindo et al., (1982). Después de la aparición del viroide, a la enfermedad se le designó localmente el nombre de "Planta Macho" y al viroide con el mismo nombre de viroide Planta Macho del Jitomate (Orózco y Galindo, 1986).

2.2.1. Distribución geográfica

La enfermedad "Planta Macho" del jitomate (PM), se le ha localizado en México, en los estados de Morelos, México, Guanajuato y Michoacán (Belalcázar y Galindo, 1974). En el estado de Morelos la distribución del viroide está definida por las isotermas 22°C entre latitudes de 800 a 1400 msnm, con incidencia de 5 a 45 %. En las áreas con temperatura media anual inferior es de 22°C, con latitud de 1400 a 2000 msnm, la enfermedad no se presenta o es muy baja la incidencia. (Orózco y Galindo, 1986; Galindo, 1987).

2.2.2. Importancia económica

A nivel estatal, la enfermedad Planta Macho del jitomate tiene una importancia secundaria a pesar de poder ocasionar un 19 % de pérdida en siembras de invierno. Esto se debe a que otras enfermedades del jitomate son mucho más graves que ella. Sin embargo, a nivel agricultor, si tiene gran importancia porque en su incidencia tan irregular, en tiempo y espacio, puede causar 100 % de afección en una parcela y ocasionar así un grave trastorno en la economía familiar (Galindo 1987b).

2.2.3. Sintomatología

Las plantas afectadas por el ViPMJ, muestran reducción muy marcada del crecimiento, acortamiento de entrenudos, rosetado apical del follaje, las hojas y foliolos se encorvan hacia abajo (Síntomas de epinastia) y pueden presentar necrosis en la nervadura. Varias semanas después de este primer síndrome se inicia el primer crecimiento lento de hojas pequeñas erectas y amarillas. La floración se presenta, pero los frutos quedan al tamaño de una canica y consecuentemente carecen de valor comercial (Fig. 3). El agricultor no considera hembras a estas plantas improductivas, sino las considera como machos, y de ahí el nombre de la enfermedad (Belalcázar y Galindo, 1974).



Fig. 3. Síntomas causados por el viroide Planta Macho del jitomate en una planta de jitomate, observándose detención del crecimiento, epinastia, rosetado y reducción del tamaño de frutos.

2.2.4. Epidemiología

La primera fuente de inóculo no aparece entre poblaciones de jitomate, por las evidencias negativas que se han obtenido en la transmisión del viroide por medio de semilla (Belalcázar y Galindo, 1974). Además la semilla de jitomate utilizada en Morelos se produce en otras regiones donde la enfermedad PM se sabe que no

está presente. La transmisión por semilla sólo se ha detectado en algunas hospedantes silvestres (Galindo, 1987b). La transmisión del viroide de las plantas hospedantes silvestres a las plantas de jitomate, al parecer es por un biotipo de *Myzus persicae*, (Galindo y Aguilar, 1985) que coloniza y se reproduce bien en las hospedantes del ViPMJ (Galindo, 1987b).

2.2.5. Plantas hospedantes del viroide

Algunas especies de la familia Solanácea se han encontrado recientemente como hospedantes naturales del viroide (Orozco, 1983; Orozco y Galindo, 1986). Estas hospedantes representan la fuente de inóculo primario para el cultivo de jitomate (Comunicación personal, Galindo, 1996).

De 56 especies inoculadas con el viroide, pertenecientes a 15 familias botánicas sólo 14 resultaron susceptibles. Todas ellas pertenecientes a la familia Solanácea, de estas especies cinco son cultivadas: *Physalis philadelphica*, *Capsicum annuum*, *Capsicum lanceolatum*, *Capsicum pubescens* y *Lyantes* sp., Nueve son silvestres: *Jaltomata procumbens*, *Solanum nigrum*, *Solanum torvum*, *Solanum rostratum*, *Nicandra physaloides*, *Physalis viscosa*, *Physalis foetens* y *Lycopersicon esculentum* var. cerasiforme. De las 14 hospedantes sólo 8 manifestaron síntomas, los cuales fueron variados, pero los más comunes fueron deformación foliar, clorosis, epinastia, reducción del crecimiento y aborto de frutos (Orozco y Galindo, 1983).

2.2.6. Alteraciones metabólicas y estructurales en plantas de jitomate enfermas

Entre las desviaciones metabólicas causadas por la enfermedad PM, se ha encontrado a una proteína asociada a la infección. Esta proteína posee un peso molecular de 140Kd y está compuesta por dos subunidades de 70Kd. La proteína es sintetizada por plantas sanas,

pero se incrementa alrededor de 200 veces en plantas enfermas. Existe correlación entre su concentración de la proteína y la intensidad de los síntomas.

La proteína está asociada con el proceso de la enfermedad y no en la replicación del viroide *per se*. La distribución subcelular de la proteína difiere de la del viroide, pues mientras que la proteína se encuentra en el sobrenadante postribosomal, el viroide se localiza principalmente en la fracción del núcleo (Galindo, 1984).

Estudios histopatológicos mediante microscopía de luz revelaron que los peciolo con necrosis presentan colapsos del floema e hipertrofia del parénquima xilemático (Belalcázar y Galindo, 1974).

2.2.7. Transmisión del VPMJ

2.2.7.1. Por medio de semilla botánica

En el caso del Viroide Planta Macho del jitomate, la transmisión por semilla no parece ocurrir en jitomate, sino solamente en algunas de las hospedantes silvestres (Galindo, 1987).

2.2.7.2. Por medio de un vector

El ViPMJ, es el único al que se le ha encontrado un vector. El insecto *Myzus persicae* resultó ser un vector muy eficaz del viroide (con frecuencia del 100 %). En estudios anteriores revelaron que el insecto una vez que adquiere el viroide de una planta enferma, lo conserva prácticamente el resto de su vida es decir el viroide tiene el atributo de ser persistente (Galindo, 1987). Después de un período de adquisición de 24 horas en plantas de chile enfermas, los áfidos son capaces de transmitir el viroide consecutivamente. El mayor tiempo de persistencia del viroide fue de 13 días y los áfidos que se sometieron a tuestas de 20 segundos, no fueron

capaces de transmitir el viroide (Galindo, López y Aguilar, 1989; Galindo, 1987b).

La planta fuente del viroide influye en la eficiencia de transmisión lograda por el insecto. La planta de chile es el hospedante que favorece más la transmisión del viroide y el jitomate es la menos favorable. El insecto coloniza bien todas las plantas que son hospedantes naturales del viroide, excepto en el jitomate que le resulta inaceptable (Orózco, 1983)

2.3. Aspecto del pulgón *Myzus persicae* (Sulzer)

Este insecto pertenece al Orden Homóptera, Suborden Sternorrhyncha, Familia Aphididae, Subfamilia Aphidini, Tribu Macrosiphini, se le conoce como pulgón *Myzus* o pulgón verde del durazno (Peña-Martínez, 1992)

2.3.1. Importancia económica

Este pulgón es una de las 10 plagas insectiles más importante por los daños directos e indirectos que causa en cultivos como chile, papa, tabaco, crucíferas, cártamo, tomate, ajonjolí, etc. (Domínguez, 1992; Domínguez, 1994).

Es la especie más importante como transmisora de virus, ya que se ha demostrado su capacidad como vector de 120 enfermedades virosas en las plantas (Peña-Martínez, 1992).

2.3.2. Biología

Es una especie cosmopolita altamente polífaga. A nivel mundial se le ha registrado en 500 plantas hospederas de 50 familias. En México se ha colectado de 150 especies en 30 familias botánicas, prácticamente en todas las regiones agrícolas del país. Probablemente en México sea holocíclica con *Prunus persicae*

(durazno) como hospedera primaria, aunque su ciclo de generaciones no ha sido estudiado con detalle (Peña-Martínez, 1992).

2.3.3. Distribución

Esta plaga se encuentra distribuida en muchos países del mundo. En México se localiza prácticamente en todas las regiones agrícolas (Domínguez, 1992).

2.3.4. Diagnósis

Afidos de tamaño pequeño a mediano, de color verde amarillento a verde pálido. Alados con una placa central esclerosada en el dorso del abdomen, verde oscuro. Tubérculos antenales altos y convergentes que dan a la frente aspecto "W". Sensorias secundarias ausentes en los ápteros y desarrolladas solo en el artejo III en los alados. Sifúnculos ligeramente ensanchados en el tercio apical.

2.3.4.1. Apteros

2.3.4.1.1. Color de ejemplares vivos

Cuerpo verde amarillento a verde pálido, patas y antenas ligeramente oscurecidas. Sifúnculos con ápices oscuros. Cauda del color del cuerpo.

2.3.4.1.2. Color de ejemplares aclarados

Cuerpo pálido. Antenas con artejos I, II y base del III pálidos, IV y V con ápices oscuros, parte basal del VI con mitad apical oscura. Proceso terminal claro, resto ligeramente más oscuro que el cuerpo, así como patas y sifúnculos, los últimos con rebordes oscuros. Apices de tibias y tarsos cafés, cauda y placa antenal café claro (Peña-Martínez, 1992).

2.3.4.1.3. Caracteres morfológicos

Mide de 1.6 a 2.4 mm de longitud, la cabeza es incolora con ojos de color oscuro, casi negro; Las patas son claras con los tarsos de oscuros a negros. La cabeza tiene una hendidura muy marcada, que separa los tubérculos antenales. Los cornículos son aproximadamente tres veces más largos que la cauda, con la base ancha y más angosto en su tercio basal que en el ápice. La cauda es alargada y presenta tres pares de cerdas (Fig. 4) (Domínguez, 1992)

2.3.4.2. Alados

2.3.4.2.1. Color de ejemplares vivos

Cabeza y tórax café. Abdomen verde amarillento a verde pálido con placa central verde oscuro. Antenas solo con parte basal del III claras. Sifúnculos oscuros, cauda igual que los sifúnculos o más clara. Patas con fémora (excepto bases) ápices de tibias y tarsos café a casi negros.

2.3.4.2.2. Color de ejemplares aclarados

Cabeza, antenas (excepto bases del III), mesotórax, Fémora (excepto bases), ápices de tibias y tarsos café amarillento. Base del III, protórax resto de patas, áreas esclerosadas, sifúnculos, cauda, placa anal y placa genital amarillo claro (Peña-Martínez, 1992).

2.3.4.2.3. Caracteres morfológicos

Tienen una longitud de 1.9 a 2.4 mm. La cabeza es negra con dos prolongaciones anteriores entre los tubérculos antenales. Presenta una mancha oscura que cubre gran parte del dorso del abdomen, usualmente con prolongaciones laterales. Los cornículos son medianos, ligeramente más angostos en su parte proximal (basal). La cauda es alargada con una constricción en la parte

media casi imperceptible y tres pares de cerdas (Fig. 4)
(Domínguez, 1992)

2.3.5. Ciclo biológico

En México se ha observado que en este pulgón, la forma asexual (reproducción partenogenética y vivípara) tiene una duración de 7 a 14 días, es decir, desde que emerge la ninfa de primer ínstar hasta llegar al estado adulto. Esta especie pasa por cuatro instares ninfales y el pulgón adulto presenta una longevidad de aproximadamente tres semanas.



Fig. 4. Esquema de *Myzus persicae* ; lado izquierdo, áfido adulto áptero y lado derecho, áfido adulto alado (Tomado de Domínguez, 1994).

2.3.6. Hábitos

A pesar de que la forma asexual se presenta con mayor frecuencia en lugares con inviernos muy fríos, también se puede presentar la forma sexual en cuyo caso ocurre en estado de huevecillo. En cualquiera de los casos el pulgón invade al cultivo durante la primavera. Cada hembra produce de 50 a 100 ninfas, de esta forma se presentan más de 20 generaciones por año.

2.3.7. Daños

2.3.7.1. Directos

Los ocasionan ninfas y adultos al succionar savia del follaje y como consecuencia de esto, las plantas chicas no se desarrollan normalmente, las fructificaciones pequeñas se deforman o se caen y se aprecian malformaciones o distorsiones en las yemas terminales.

2.3.7.2. Indirectos

Se considera a la mielecilla que es excretada por estos pulgones, lo que propicia la presencia de fumagina, interfiriendo en la fotosíntesis. Por otro lado, el pulgón *Myzus* es vector de una gran cantidad de enfermedades virosas como: Virus amarillo de la remolacha, virus jaspeado del tabaco, virus del mosaico del pepino, entre otras. Cabe mencionar que para transmitir las partículas de virus, con pocos pulgones es suficiente. (Domínguez, 1992).

2.3.8. Proceso de alimentación

El factor principal del daño de los áfidos, es la forma de alimentación particular de estos insectos, en los que las piezas bucales especializadas para la ingestión de sustancias líquidas, están perfectamente adaptadas para penetrar en los tejidos vegetales y recolectar la savia de la que se nutren. Dichas piezas bucales, son también "el instrumento" con cuya ayuda son adquiridos

y transmitidos los virus fitopatógenos.

2.3.8.1. Picadura de prueba

Antes de alimentarse, los áfidos tienen un comportamiento particular, a través del cual balanceando sus antenas hacia adelante, parecen degustar la planta tocándola con la extremidad del rostro. En ocasiones se inmovilizan unos segundos o decenas de segundos, entonces los estiletes penetran pocas micras en los tejidos epidérmicos, mientras que inyectan ahí un poco de saliva y toman un poco de jugo celular.

2.3.8.2 Penetración del estilete

Cuando el áfido ha escogido un sitio favorable de penetración en respuesta a diversos estímulos, introduce los estiletes en la planta por un juego de músculos protractores y retractores situados en su base ensanchada. Ocurre entonces una sobreposición de los artejos terminales del rostro mientras que dirige sus antenas hacia atrás. Los estiletes penetran más profundamente en dirección al floema que alcanzan por un trayecto frecuentemente intercelular a través del parénquima (Fig. 5). La penetración de los estiletes se facilita por la secreción de saliva rica en enzimas, principalmente celulasa y pectinasa, que ayudan a disolver la lamela media de las células y facilitan su avance. Las secreciones salivales, ayudan también a la formación de la "vaina salival" o "vaina setal" de naturaleza proteíca. Esta vaina encierra el haz de estiletes y se forma el curso de penetración; parece ser que le imparte la rigidez que impide que el extremo se curve (Urías, Rodríguez y Alejandre, 1992).

2.3.9. Principales fases de un ciclo de transmisión

En la transmisión de virus fitopatógenos por un insecto vector, se distinguen principalmente las siguientes fases:

Adquisición: Es el proceso de obtención del patógeno por parte del vector. Esto lo realiza cuando reconoce a su hospedera y ésta se encuentra enferma por virus.

Latencia: Es el tiempo que transcurre entre la adquisición del virus y el momento preciso en que el insecto vector está apto para infectar a una planta sana. A partir de éste momento se convierte en un insecto infectivo.

Retención: Es el tiempo durante el cual el insecto vector sigue siendo infectivo después de alimentarse de una planta enferma.

Inoculación: Es cuando el vector infectivo introduce el estilete y transmite el virus en los tejidos de una planta sana. Después de estas cuatro fases, para que la planta se declare enferma se procede al período de **Incubación**, el cual es el tiempo que transcurre entre la inoculación y la exteriorización de síntomas de la enfermedad en las plantas (Matthews, 1992; Urías, et al., 1992).

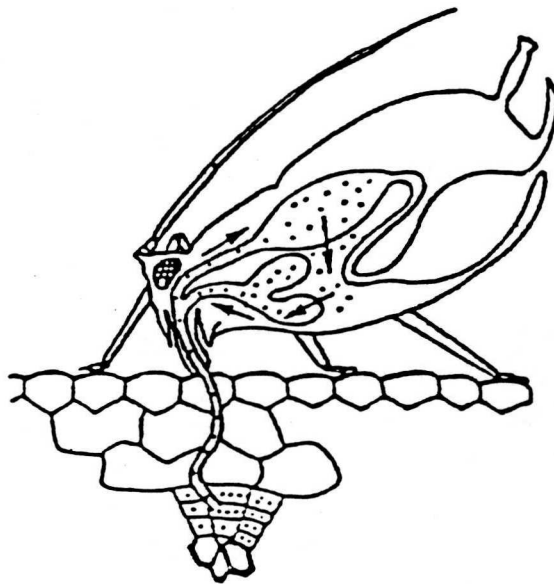


Fig. 5. Representación esquemática de la adquisición de virus circulativo por un áfido (Tomado de Urías y Rodríguez y Alejandre, 1992).

MATERIALES Y METODOS

La parte experimental se realizó bajo condiciones de invernadero. Se utilizaron plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) variedad Río grande, chile (*Capsicum annuum*) variedad Tampiqueño 77, ayehuixtle (*Solanum rostratum*), yerbamora (*Solanum nigrum*), una colonia de *Myzus persicae* libre de virus o viroide y el Viroide Planta Macho del Jitomate (VPMJ).

3.1. Cultivo de plantas

Se establecieron almácigos de jitomate, ayehuixtle, yerbamora y chile en vasos de unicel del No. 732. Los vasos contenían suelo esterilizado con bromuro de metilo, la composición del suelo fue materia orgánica y arena en relación 2:1. Cuando las plantas de jitomate presentaron las hojas cotiledonares, se trasplantaron a vasos de unicel del No. 110, con suelo de la misma composición.

Las plantas se fertilizaron con una formula 17-17-17, disolviendo 100 g del fertilizante en 4 lts de agua. La solución se aforó a 40 lts con agua corriente y con ésta se regaron las plantas una vez por semana, aparte de los riegos periódicos que se realizaron. También se utilizó fertilizante foliar (Bayfolan) como complemento, este se aplicó a las plantas una vez por semana.

Para el control de plagas insectiles en el invernadero, se realizaron aplicaciones periódicas de Paratión metílico y Endosulfan para controlar mosquita blanca y áfidos, para controlar trips se utilizó Fluvalin. Los productos fueron aplicados a las dosis recomendadas por el fabricante.

3.2. Obtención del VPMJ, de material vegetal infectado naturalmente

En el Municipio de Tepalcingo, Edo. de Morelos, se colectaron raíces de ayehuixtle (hospedante silvestre, inoculado naturalmente

con el VPMJ). En el invernadero se preparó inóculo en un mortero macerando la raíz de ayehuixtle, utilizando agua destilada como amortiguador. Con un isopo de algodón humedecido con el inóculo, se infectaron plántulas de jitomate frotando suavemente el isopo en los cotiledones de jitomate previamente espolvoreados con un abrasivo (carborúndum). Las plántulas inoculadas se incubaron a temperatura de 28°C durante el día y de 19-20°C durante la noche por 25 días, tiempo necesario para que las plantas de jitomate presentaran los síntomas de la enfermedad.

3.3. Obtención de las plantas fuente del VPMJ

Una vez que se detectó la presencia del viroide en las plantas de jitomate inoculadas anteriormente, se preparó inóculo para infectar las plantas que se utilizaron como planta fuente del viroide. En un mortero se maceró tejido de hoja de las plantas de jitomate enfermas agregando unas gotas de agua destilada (amortiguador). Con el extracto obtenido, se inocularon mecánicamente plantas sanas de ayehuixtle, yerbamora y chile en estado cotiledonar. Después de la inoculación, las plántulas se incubaron por 30 días tiempo suficiente para que las tres especies alcanzaran una concentración del viroide necesaria para poder ser utilizadas como plantas fuente de viroide. La presencia de viroide en las tres especies se confirmó por medio de inoculación inversa.

3.3.1. Inoculación inversa

Este proceso se llevó a cabo debido a que la infección de los hospedantes del viroide a excepción del jitomate, es casi asintomática. Para esto, por separado se preparó inóculo con tejido de hoja de las plantas a probar (ayehuixtle, yerbamora y chile) y se inocularon plantas de jitomate en estado cotiledonar. A los 20 días de incubar las plántulas de jitomate, se registraron los resultados en función de las plantas que presentaron síntomas de la

enfermedad. En la primera inoculación inversa, se obtuvieron resultados positivos solo con ayehuixtle y posteriormente también con yerbamora. Con chile siempre se obtuvieron resultados negativos, lo cual se le atribuye a la posible reacción de ribonucleasa (inhibidor) contenida en los tejidos de las plantas. Este fenómeno fue detectado previamente en trabajos realizados con virus en plantas de chile (Galindo A. J., comunicación personal). Por tal motivo en este trabajo se tomaron como planta fuente de viroide únicamente ayehuixtle y yerbamora (Fig. 6).



Fig. 6. Plantas hospedantes del VPMJ, utilizadas como planta fuente del viroide; al lado derecho planta de ayehuixtle; al lado izquierdo planta de yerbamora.

3.4. Establecimiento de una colonia de áfidos libres de virus o viroide

En el mismo Municipio de Tepalcingo, se colectó un pequeño grupo de áfidos encontrados en plantas de ayehuixtle. Los áfidos se transfirieron con un pincel a una planta de chile sana cuidando de no dañarlos. La planta de chile con áfidos, se cubrió con una jaula hecha con un vaso de unicel y se trasladó al invernadero de virus para que los áfidos se reprodujeran. Los áfidos fueron identificados como *Myzus persicae* en el laboratorio de Entomología del Departamento de Parasitología Agrícola. En el invernadero, dentro de cajas petri se colocó papel filtro humedecido con agua destilada. Sobre el papel filtro se colocaron hojas de chile de una planta sana y sobre las hojas se colocaron áfidos ápteros adultos. Una vez que hubo descendencia de los áfidos, las ninfas de primer ínstar se transfirieron a plantas de chile sanas para su reproducción. Las plantas con las ninfas se colocaron en una jaula hecha con armazón de madera, tres paredes de vidrio y una pared de velo. La jaula fue lo suficientemente grande para que las plantas de chile se desarrollaran sin dificultad. La tasa de reproducción de los áfidos fue aproximadamente de 2.2 ninfas por áfido por día.

Para asegurar que la nueva colonia de áfidos estaba libre de virus o viroide, se realizó lo siguiente : Se tomaron áfidos de la nueva colonia y se colocaron grupos de 5 en plántulas de jitomate sanas (10 plántulas). Los áfidos se dejaron alimentando por un período de 48 horas y después se eliminaron manualmente. Las plantas se incubaron por 20 días sin que en este período se presentaran síntomas de alguna enfermedad. De esta manera se concluyó que la colonia de áfidos estaba libre de virus o viroide (Fig. 7).



Fig. 7. Colonia de *Myzus persicae*, libre de virus o viroide.

3.5. Persistencia de transmisión del VPMJ y su efecto en la longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición

Una vez que se contaba con las plantas fuente de viroide y con una colonia de áfidos libres de virus o viroide, se procedió a realizar experimentos.

A partir del primer experimento se pusieron almácigos de jitomate diariamente en vasos de unicel del No. 732, con el propósito de contar con plántulas de jitomate para el desarrollo del trabajo. Cuando las plantas presentaron las hojas cotiledonares, se trasplantaron en forma individual a vasos de unicel del No. 110, para utilizarlas en los experimento.

En el experimento 1, se utilizó Ayehuixtle como planta fuente del viroide. Los tratamientos involucrados en este experimento, se muestran en la Cuadro 2.

Cuadro 2. DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION DEL VPMJ, POR *Myzus persicae* (Exp. 1).

	TRATAMIENTOS PERIODOS DE ADQUISICIÓN					
	TESTIGO (0 HORAS)	15 MIN	1 HORA	4 HORAS	16 HORAS	24 HORAS
GA/T	15	15	15	15	15	15
PJ/T	5	5	5	5	5	5
A/P	3	3	3	3	3	3

GA/T: Grupo de áfidos por tratamiento.

PJ/T: Plántulas de jitomate por tratamiento al inicio del experimento.

A/P: No. Afidos por plántula de jitomate, al inicio del experimento.

El procedimiento del experimento fue el siguiente; de la colonia de áfidos libres de virus o viroide, se tomó un grupo de 15 áfidos para cada tratamiento (Cuadro 2). Por separado, los grupos de áfidos se sometieron a 1 hora de ayuno en tiempos seriados. Al finalizar el tiempo de ayuno, los primeros 5 grupos de áfidos se colocaron por separado en la planta fuente del viroide (Ayehuixtle) para que se alimentaran y adquirieran el viroide. El primer grupo de áfidos se dejó alimentando en la planta fuente por

un período de 24 horas, el siguiente grupo de áfidos se dejó alimentar por un período de 16 horas y así sucesivamente hasta el grupo de áfidos que se dejó alimentando por período de 15 minutos. En el tratamiento que se utilizó como "testigo" (Cuadro 2), el grupo de áfidos se colocó en una planta de ayehuixtle sana (sin viroide) por un período de 1 hora, para que los áfidos se alimentaran sin adquirir el viroide. A este tratamiento se le denominó "testigo" con 0 horas de adquisición. Al terminar el período de adquisición en cada grupo de áfidos, se colocaron grupos de 3 áfidos por plántula de jitomate para que transmitieran el viroide. El número de plántulas de jitomate por tratamiento al inicio fue de 5, el cual fue disminuyendo conforme morían los áfidos. Los áfidos sobreviviente (áfidos que seguían vivos por día) en cada tratamiento, se fueron transfiriendo a nuevas plántulas de jitomate cada 24 horas, hasta que murieron los últimos áfidos. Una vez que se retiraban los áfidos para transferirlos a nuevas plántulas de jitomate, las plántulas que quedaban sin áfidos se incuabron por un tiempo de 20 días para que se desarrollaran los síntomas de la enfermedad. La temperatura media se mantuvo a 34°C durante el día y de 25°C durante la noche, desde que se colocaron los grupos de áfidos en las plántulas de jitomate, hasta terminar el período de incubación de las plantas,

En el experimento 2, se utilizo ayehuixtle como planta fuente de viroide. Los tratamientos involucrados en este experimento se muestran en la Cuadro 3.

En éste experimento se tomó un grupo de 25 áfidos libres de virus o viroide para cada tratamiento (Cuadro 3). Por separado, los grupos de áfidos se sometieron a 1 hora de ayuno en tiempos seriados. Cuando finalizó el período de ayuno, los primeros 5 grupos de áfidos se colocaron por separado en la planta fuente del viroide (Ayehuixtle) para que se alimentaran y adquirieran el viroide. El primer grupo de áfidos se dejó alimentando por un período de 24 horas y así sucesivamente hasta el grupo de áfidos

Cuadro 3. DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION DEL VPMJ, POR *Myzus persicae* (Exp. 2).

	TRATAMIENTOS PERIODOS DE ADQUISICIÓN					
	TESTIGO (0 HORAS)	15 MIN	1 HORA	4 HORAS	16 HORAS	24 HORAS
GA/T	25	25	25	25	25	25
PJ/T	5	5	5	5	5	5
A/P	5	5	5	5	5	5

GA/T: Grupo de áfidos por tratamiento.

PJ/T: Plántulas de jitomate por tratamiento al inicio del experimento

A/P: No. Afidos por plántula, al inicio del experimento.

que se dejó alimentando por un período de 15 minutos. En el tratamiento que se tomó como "testigo", el grupo de áfidos se colocó en una planta de ayehuixtle sana (sin viroide) por período de 1 hora para que los áfidos se alimentaran sin adquirir el viroide. A éste tratamiento se le denominó "testigo" con 0 horas de adquisición (Cuadro 3). Al finalizar los diferentes períodos de adquisición de cada grupo de áfidos, se colocaron grupos de 5 áfidos por plántula de jitomate para que transmitieran el viroide. El número de plántulas de jitomate por tratamiento al inicio del experimento fue de 5 (Cuadro 3), el cual fue disminuyendo conforme morían los áfidos. En todos los tratamiento los áfidos sobrevivientes (áfidos que seguían vivos por día), se fueron transfiriendo a nuevas plántulas de jitomate cada 24 horas hasta que murieron los últimos áfidos. Una vez que se retiraban los áfidos para transferirlos a nuevas plántulas de jitomate, las plántulas que quedaban sin áfidos se incuabron por un tiempo de 20 días para que se desarrollaran los síntomas de la enfermedad. La temperatura media se mantuvo a 28°C durante el día y a 20°C durante la noche.

En el experimento 3 se utilizo Verbamora como planta fuente de viroide. los tratamientos involucrados se muestran en la Cuadro 4.

Cuadro 4. DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION DEL VPMJ, POR *Myzus persicae* (Exp. 4).

	TRATAMIENTOS PERIODOS DE ADQUISICIÓN					
	TESTIGO (0 HORAS)	15 MIN	1 HORA	4 HORAS	16 HORAS	24 HORAS
GA/T	25	25	25	25	25	25
PJ/T/D	5	5	5	5	5	5
A/P	5	5	5	5	5	5

GA/T: Grupo de áfidos por tratamiento.

PJ/T/D: Plántulas de jitomate por tratamiento por Día.

A/P: No. Afidos por plántula.

En éste experimento también se utilizaron grupos de 25 áfidos para cada tratamiento (Cuadro 4.). La metodología que se siguió fue exactamente la misma utilizada en el segundo experimento; la única variación fue que se utilizó Verbamora como planta fuente del viroide y una planta sana de Verbamora para el tratamiento "testigo".

3.6. Efecto del VPMJ en la longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en un período de adquisición de 24 horas

Para éste experimento se utilizó Ayehuixtle como planta fuente del viroide, los tratamientos involucrados se muestran en la Cuadro 5.

Este experimento se realizó de la siguiente manera. Se tomaron grupos de 80 áfidos libres de virus o viroide para cada tratamiento (Cuadro 5). Por separado, los grupos de áfidos se sometieron a 1 hora de ayuno en tiempos seriados. Al finalizar el período de ayuno, los 2 primeros grupos de áfidos se colocaron por separado en la planta fuente de viroide (Ayehuixtle) para que se alimentaran

Cuadro 5. AFIDOS CON TRANSFERENCIA A NUEVAS PLANTULAS DE JITOMATE Y AFIDOS SIN TRANSFERENCIA (Exp. 4).

	TRATAMIENTOS		
	TESTIGO	1	2
GRUPO DE AFIDOS POR TRATAMIENTO	80	80	80
PLANTULAS DE JITOMATE POR TRATAMIENTO AL INICIO	10	10	*10
AFIDOS POR PLANTULA AL INICIO DEL EXPERIMETO	8	8	8

TESTIGO: Afidos con 0 horas de adquisición y con transferencia a nuevas plántulas de jitomate cada 48 hrs.

TRAT. 1: Afidos con período de adquisición de 24 horas y con transferencia a nuevas plántulas de jitomate cada 48 hrs.

TRAT. 2: Afidos con período de adquisición de 24 horas y sin transferencia.

* Plantas que permanecieron con los áfidos hasta que estos murieron.

y adquirieran el viroide en un período de 24 horas. En el tratamiento que se tomó como "testigo" (Cuadro 5), el grupo de áfidos se colocó en una planta de ayehuixtle sana (sin viroide), para que se alimentaran por un período de 24 horas sin adquirir el viroide. Al finalizar el período de adquisición de cada grupo de áfidos, se colocaron grupos de 8 áfidos por plántula de jitomate para que transmitieran el viroide. En el testigo y en el tratamiento 1, los áfidos sobrevivientes (áfidos que seguían vivos por día), se fueron transfiriendo a nuevas plántulas de jitomate cada 48 horas hasta que murieron los últimos áfidos. El número de plántulas de jitomate al inicio del experimento fue de 10, el cual fue disminuyendo conforme morían los áfidos. En el tratamiento 2, los áfidos se mantuvieron en las mismas plantas hasta que murieron (áfidos sin transferencia). Por lo tanto, el número de plántulas de jitomate utilizadas para este tratamiento fue de 10 y las únicas en todo el experimento. A las plántulas de jitomate que se les

retiraban los áfidos para transferirlos a nuevas plántulas de jitomate (Testigo y tratamiento 1) y las plantas de jitomate que mantuvieron los áfidos hasta su muerte (Tratamiento 2), se incubaron por 20 días para que desarrollaran los síntomas de la enfermedad. La temperatura se mantuvo a 30°C durante el día y 23°C durante la noche.

Los resultados de los experimentos 1, 2 y 3 se registraron tomando en cuenta dos factores.

1. Persistencia de transmisión del VPMJ, obteniendo el viroide en los diferentes períodos de adquisición por *Myzus persicae*. Para esto, los datos se tomaron una vez que las plantas de jitomate presentaron los síntomas.

2. Longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el VPMJ en los diferentes períodos de adquisición. Los datos se registraron a partir del primer día que se empezaron a colocar los áfidos en las plántulas de jitomate para que transmitieran el viroide.

En el experimento 4, se tomó en cuenta únicamente el factor 2.

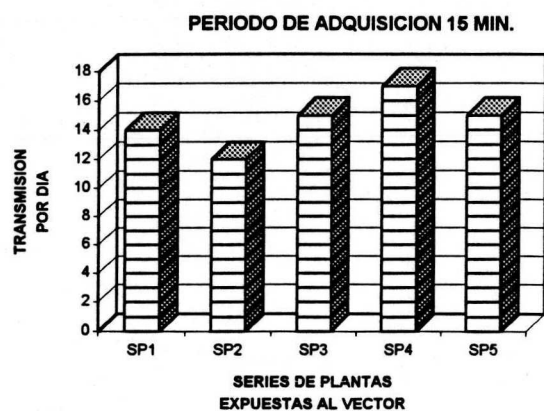
RESULTADOS

En los diferentes ensayos, los síntomas de epinastia y achaparramiento aparecieron entre los 18 y 20 días después de que las plántulas de jitomate fueron inoculadas con el viroide por medio de *Myzus persicae*.

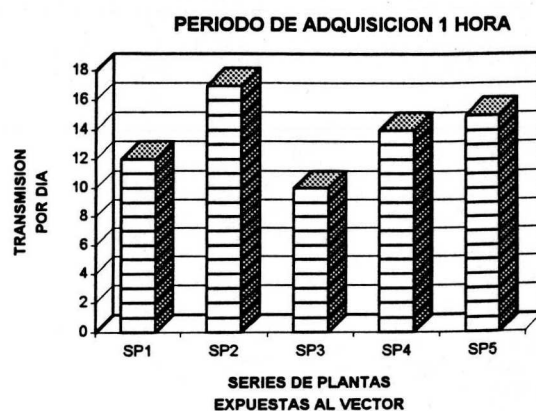
4.1. Determinación de la persistencia de transmisión del VPMJ por *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición, utilizando Ayehuixtle como planta fuente

En el experimento 1 los áfidos que se sometieron a períodos de adquisición de 15 min. y 1 hora, no fueron capaces de transmitir el viroide a las plántulas de jitomate (Figs. 1A y 1B). Los áfidos que fueron sometidos a períodos de adquisición de 4, 16 y 24 horas, si transmitieron el viroide. Cuando los áfidos se transfirieron a nuevas plántula de jitomate cada 24 horas, la transmisión del viroide fue en forma consecutiva en algunas series de plantas, mientras que en otras series fue de manera intermitente (Figs. 1C, 1D y 1E). El mayor y menor tiempo de persistencia del viroide en el áfido fue de 10 y 2 días respectivamente (Figs. 1C-SP3, SP4, SP5; 1D-SP1, SP5 y 1E-SP4).

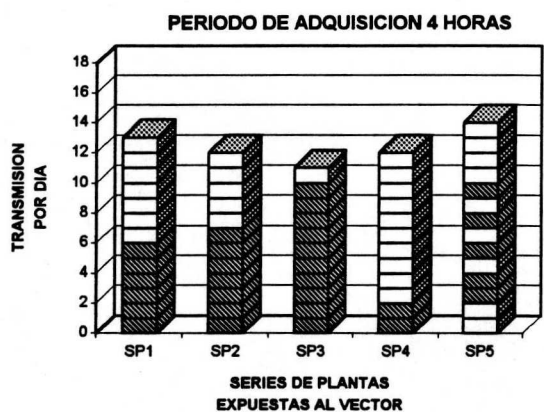
En el experimento 2 los áfidos que se sometieron a períodos de adquisición de 15 min. y 1 hora, no fueron capaces de transmitir el viroide a las plantas de jitomate (Figs. 2A y 2B). Los áfidos que se sometieron a períodos de adquisición de 4, 16 y 24 horas, si transmitieron el viroide excepto en algunas series de plantas donde los áfidos no lo transmitieron. Cuando los áfidos se transfirieron a nuevas plántulas de jitomate cada 24 hora, la transmisión del viroide fue consecutiva (Figs. 2C, 2D y 2E). El mayor y menor tiempo de persistencia del viroide en el áfido fue de 13 y 8 días respectivamente (Figs. 2C-SP1, SP3, SP5; 2D-SP1, SP3, SP4, SP5 y 2E-SP1, SP2, SP3, SP4). La mayor eficiencia de transmisión se obtuvo cuando los áfidos se sometieron a períodos



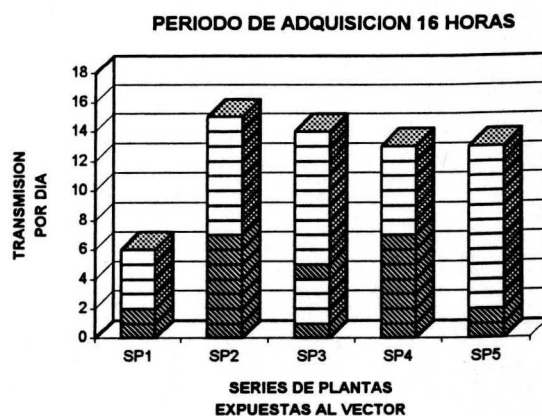
1A.



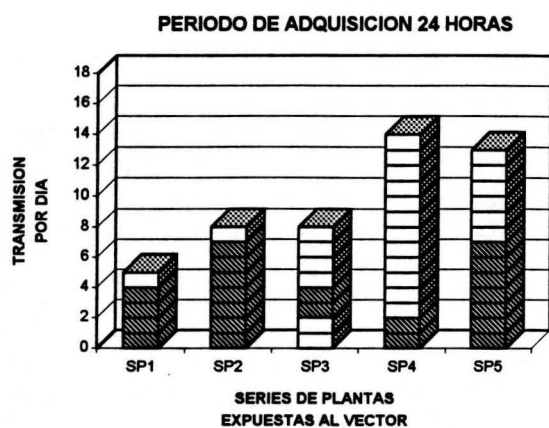
1B.



1C.



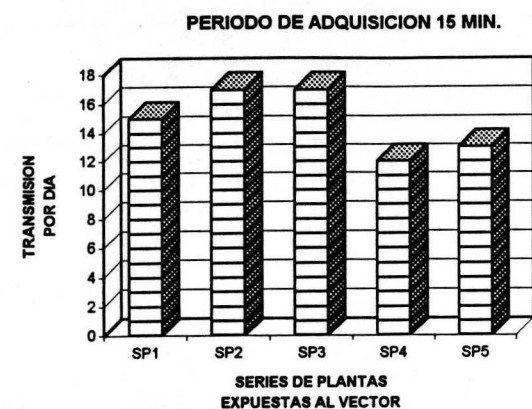
1D.



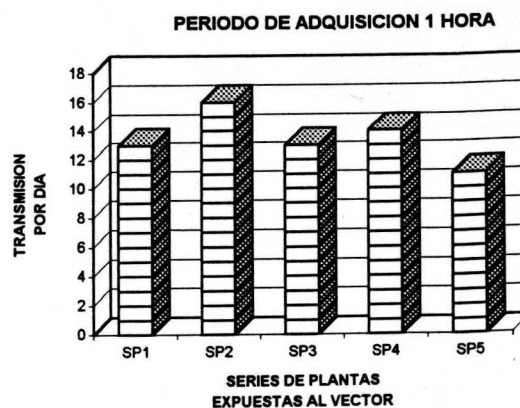
1E.



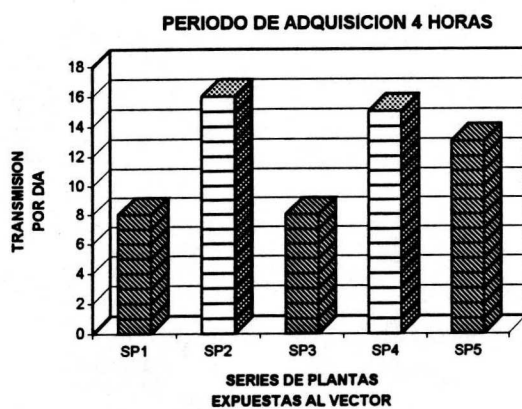
Figuras. 1A., 1B., 1C., 1D. y 1E. Persistencia de transmisión del VPMJ, obteniendo el viroide en diferentes periodos de adquisición por *Myzus persicae*, utilizando Ayehuixtle como planta fuente del viroide.



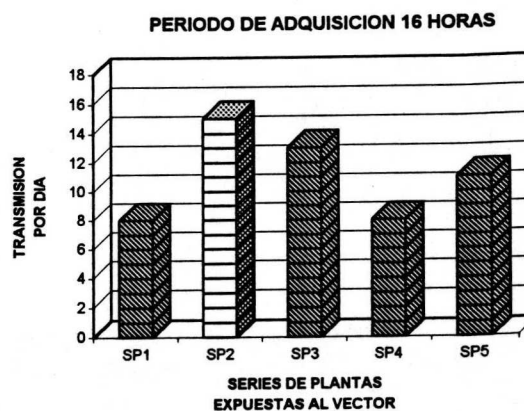
2A.



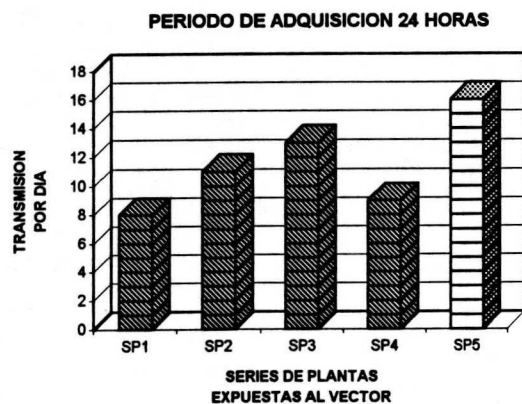
2B.



2C.



2D.



2E.



Figuras. 2A., 2B., 2C., 2D. y 2E. Persistencia de transmisión del VPMJ, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición por *Myzus persicae*, utilizando Ayehuixtle como planta fuente del viroide.

de adquisición de 16 y 24 horas (Figs. 2D y 2E).

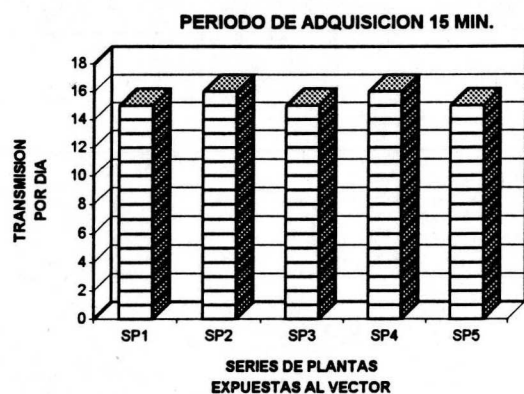
4.2. Determinación de la persistencia de transmisión del VPMJ por *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición, utilizando Yerbamora como planta fuente

En el experimento 3 los áfidos que se sometieron a períodos de adquisición de 15 min. y 1 hora, tampoco fueron capaces de transmitir el viroide a las plántulas de jitomate (Figs. 3A y 3B). Los áfidos que se sometieron a períodos de adquisición de 4, 16 y 24 horas, transmitieron el viroide a las plántulas de jitomate, excepto en algunas series de plantas donde los áfidos no transmitieron el viroide (Figs. 3C, 3D y 3E). Al transferir los áfidos a nuevas plántulas de jitomate cada 24 horas, la transmisión del viroide fue en forma consecutiva. EL mayor y menor tiempo de persistencia del viroide en el áfido fue de 13 y 8 días respectivamente (Figs. 3C-SP1, SP3, SP4; 3D-SP1, SP2, SP4, SP5 y 3E-SP1, SP2, SP3, SP5). La mayor eficiencia de transmisión del viroide se obtuvo cuando los áfidos se sometieron a un período de adquisición de 24 horas, donde se observó una transmisión del viroide de 100 % (Fig. 3E).

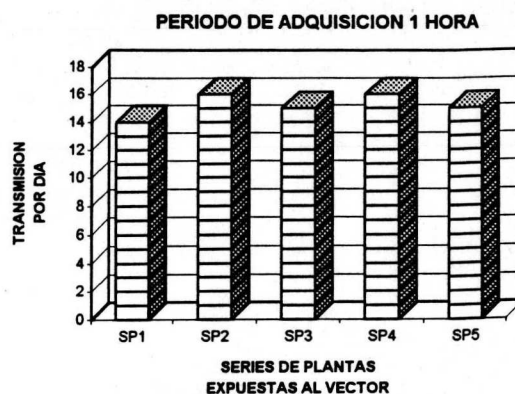
4.3. Determinación del efecto del VPMJ en la longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en los diferentes períodos de adquisición, utilizando Ayehuixtle como planta fuente

Los resultados del efecto del VPMJ en la longevidad de *Myzus persicae*, se obtuvieron de acuerdo con la longevidad que presentaron los áfidos una vez que adquirieron el viroide.

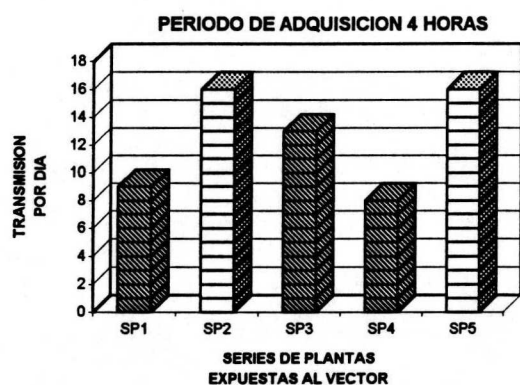
En el experimento 1, el deceso de los áfidos del Testigo (áfidos con 0 horas de adquisición) comenzó a partir de los 14 días de haber transferido a los áfidos a nuevas plántulas de jitoamte (Fig. 4A-GA1, GA5). La longevidad máxima y mínima que presentaron los áfidos fue de 18 y 14 días respectivamente (Fig. 4A), tiempo



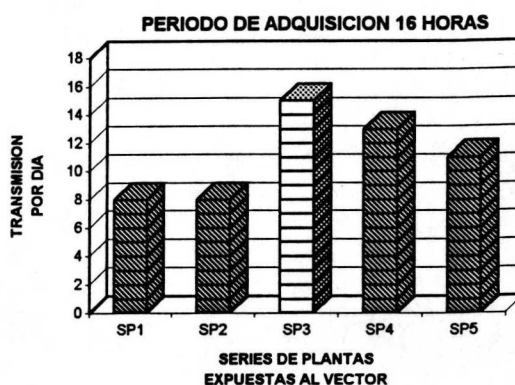
3A.



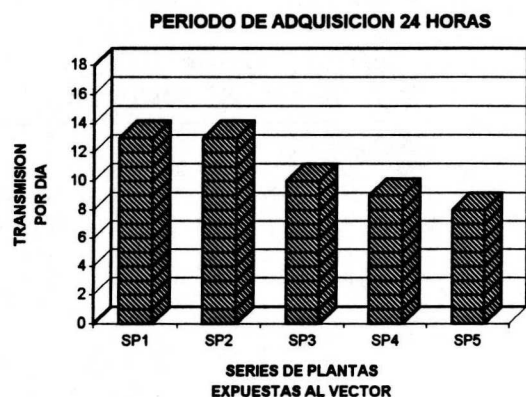
3B.



3C.



3D.



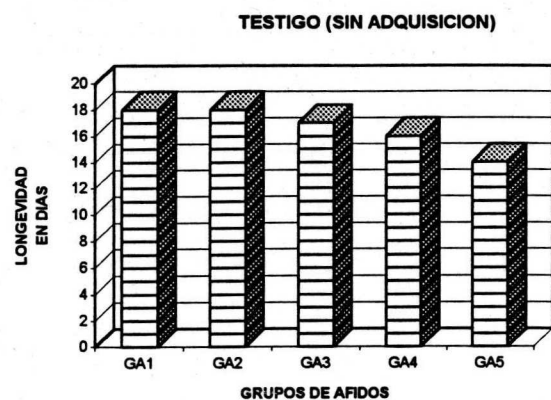
3E.

■ PLANTAS C/SINTOMAS
□ PLANTAS S/SINTOMAS

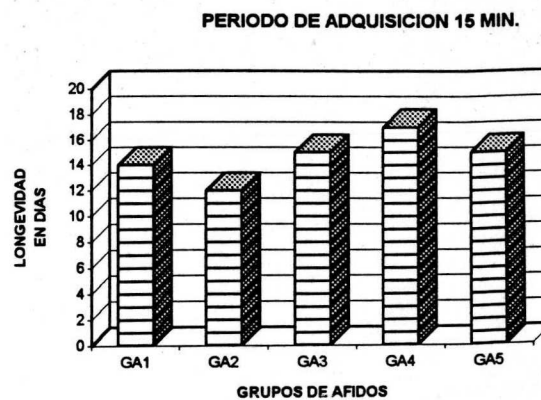
Figuras. 3A., 3B., 3C., 3D. y 3E. Persistencia de transmisión del VPMJ, obteniendo el viroide en diferentes periodos de adquisición por *Myzus persicae*, utilizando Yerbamora como planta fuente de viroide.

que se tomó a partir de que se colocaron los grupos de áfidos en las primeras plántulas de jitomate. En los tratamientos con períodos de adquisición de 15 min. y 1 hora, el deceso de los áfidos comenzó a partir de los 10 días de haber transferido los áfidos (Fig 4C-GA3). La longevidad máxima y mínima que presentaron los últimos áfidos fue de 17 y 10 días respectivamente (Figs. 4B-GA4 y 4C-GA2, GA3). En los tratamientos con períodos de adquisición de 4, 16 y 24 horas, el deceso de los áfidos fue más homogéneo en el tratamiento con un período de adquisición de 4 horas, el cual se inició a partir de los 11 días de haber transferido los áfidos (Fig. 4D-GA3). El deceso más heterogéneo fue en el tratamiento con período de adquisición de 24 horas, donde el deceso de los áfidos se inició a partir de los 5 días de haber transferido a los áfidos (Fig. 4F-GA1). La longevidad de los últimos áfidos fue muy variable; para el caso del tratamiento con período de adquisición de 4 horas, la máxima y mínima longevidad que presentaron los últimos áfidos fue de 14 y 11 días respectivamente (Fig. 4D-GA5, GA3). En el tratamiento con un período de adquisición de 16 horas, la máxima y mínima longevidad fue de 15 y 6 días (Fig. 4E-GA2, GA1) y en el tratamiento con período de adquisición de 24 horas la longevida máxima y mínima fue de 14 y 5 días respectivamente (Figs. 4D-GA3, GA5; 4E-GA2, GA1 y 4F-GA4, GA1). En todas las series de plantas de los tres tratamientos, algunos áfidos continuaron vivos después de que dejaron de transmitir el viroide.

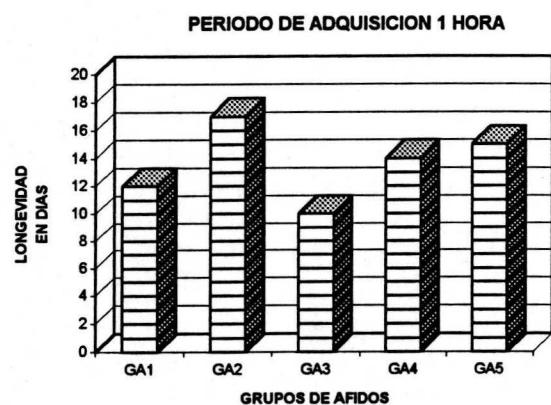
En el experimento 2, el deceso de los áfidos en el tratamiento que se tomó como "testigo" comenzó a partir de los 15 días de haber transferido a los áfidos. La longevidad máxima y mínima que presentaron los últimos áfidos fue de 18 y 15 días respectivamente (Fig. 5A-GA1, GA2, GA3, GA5,). En los tratamientos con períodos de adquisición de 15 min. y 1 hora, el deceso de los áfidos se inició a los 11 días de haber transferido a los áfidos (Fig. 5C-GA5). Los últimos áfidos presentaron una longevidad máxima y mínima de 17 y 11 días respectivamente (Figs. 5B-GA2, GA3 y 5C-GA5). En los tratamientos con períodos de adquisición de 4, 16 y 24 horas, el



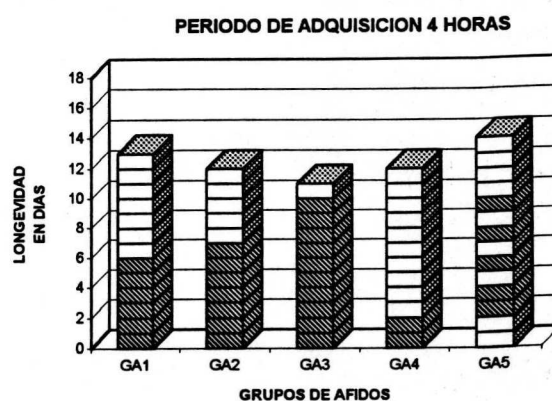
4A.



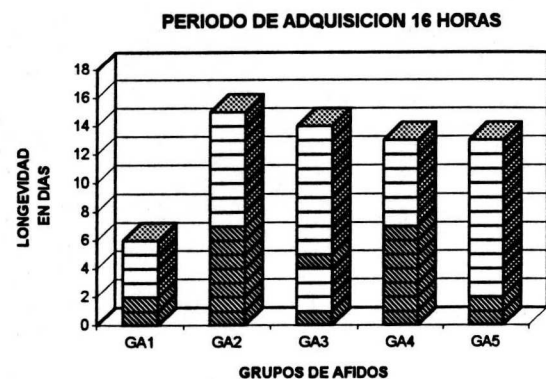
4B.



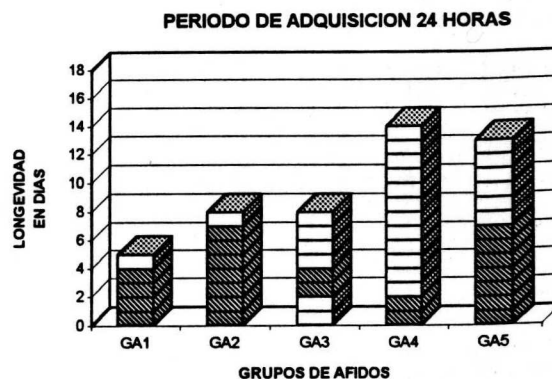
4C.



4D.



4E.

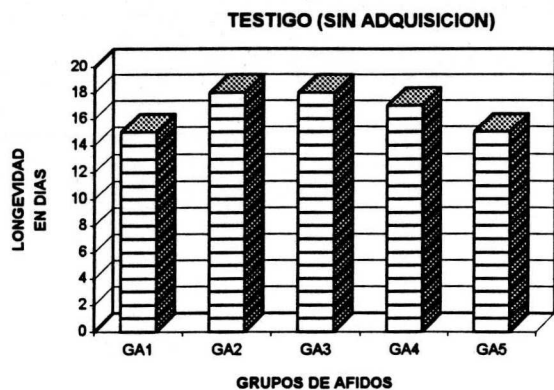


4F.

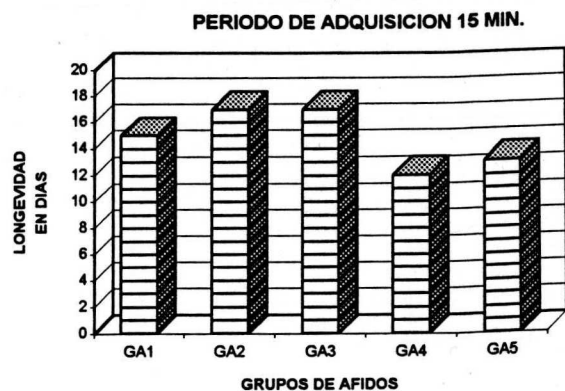
TRANSMISION

NO TRANSMISION

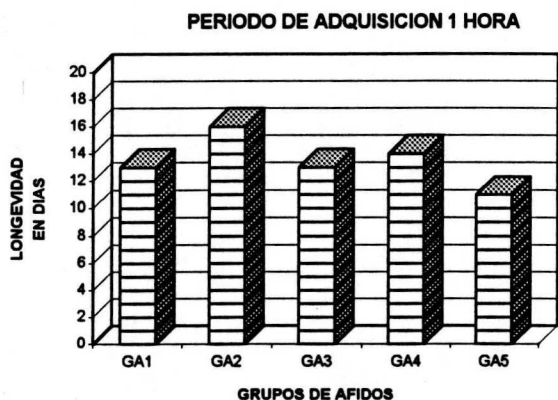
Figuras. 4A., 4B., 4C., 4D., 4E. Y 4F. Longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el VPMJ en diferentes periodos de adquisición, utilizando Ayeahuixtle como planta fuente del viroide.



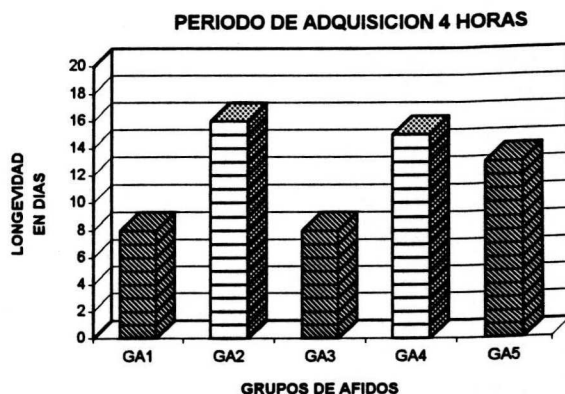
5A.



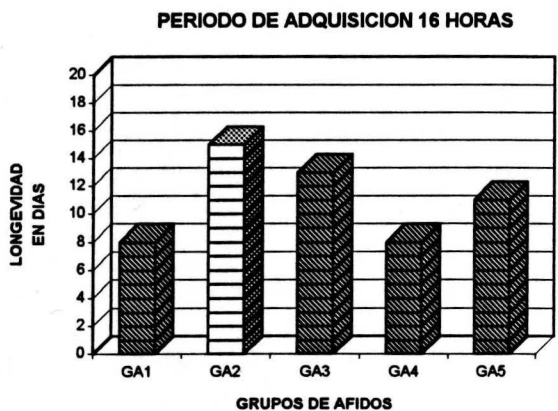
5B.



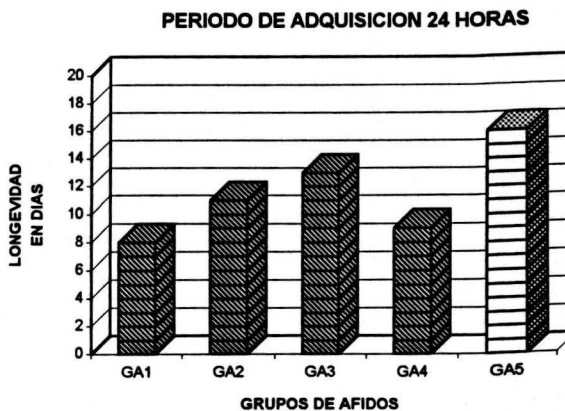
5C.



5D.



5E.



5F.

TRANSMISION

NO TRANSMISION

Figuras. 5A., 5B., 5C., 5D., 5E. Y 5F. Longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el VPMJ en diferentes periodos de adquisicion, utilizando Ayehuixtle como planta fuente del viroide.

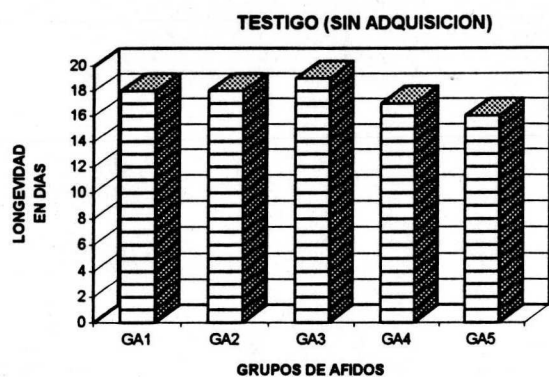
deceso de los áfidos que transmitieron el viroide, comenzó a los 8 días de haber transferido a los áfidos (Figs. 5D, 5E y 5F). La longevidad máxima y mínima que presentaron los últimos áfidos fue de 13 y 8 días respectivamente (Figs. 5D- GA1, GA3, GA5; 5E-GA1, GA3, GA4, GA5 y 5F-GA1, GA2, GA3, GA4).

4.4. Determinación del efecto del VPMJ en la longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en diferentes períodos de adquisición, utilizando Yerbamora como planta fuente

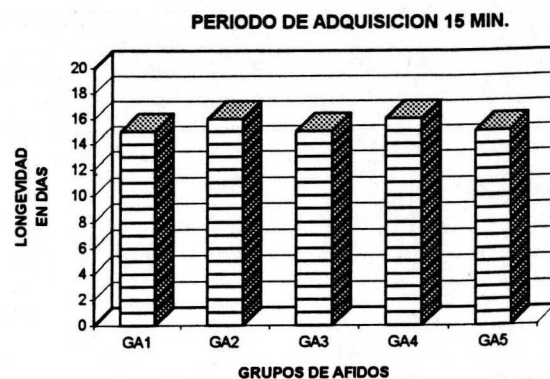
En el experimento 3, el deceso de los áfidos en el tratamiento que se tomó como "testigo" comenzó a partir de los 16 días de haber transferido a los áfidos (Fig. 6A-GA5). La longevidad máxima y mínima que presentaron los últimos áfidos fue de 19 y 16 días respectivamente (Fig. 6A-GA3, GA5). En los tratamientos con períodos de adquisición de 15 min. y 1 hora, el deceso de los áfidos se inició a los 14 días de haberlos transferido (Fig. 6B, 6C). La longevidad máxima y mínima que presentaron los últimos fue de 16 y 14 días respectivamente (Figs. 6B-GA2, GA4 y 6C-GA1, GA2, GA4). En los tratamientos con períodos de adquisición de 4, 16 y 24 horas, el deceso de áfidos que transmitieron el viroide comenzó a los 8 días de haber transferido los áfidos (Figs. 6D, 6E y 6F). La longevidad máxima y mínima que presentaron los últimos áfidos fue de 13 y 8 días respectivamente (Figs. 6D-GA1, GA3, GA4; 6E-GA1, GA2, GA4, GA5; 6F-GA1-GA5).

4.5. Efecto del VPMJ en la longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el viroide en un período de adquisición de 24 horas, utilizando Ayehuixtle como planta fuente

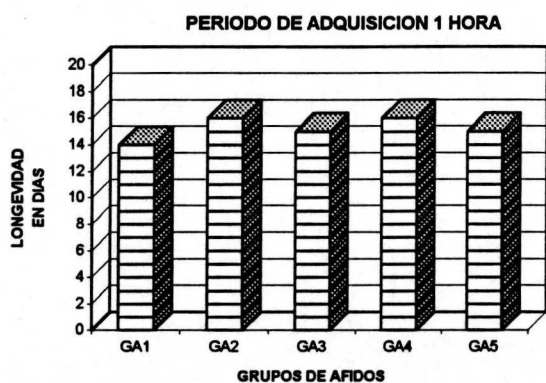
En el experimento 4, el deceso de los áfidos en el "testigo" se inició a partir de los 14 días de haber transferido a los áfidos (Fig. 7A-GA8, GA9). La longevidad máxima y mínima que presentaron los últimos áfidos fue de 22 y 14 días respectivamente (Fig. 7A-GA1, GA3 y GA8, GA9). En el tratamiento 1, el deceso de áfidos



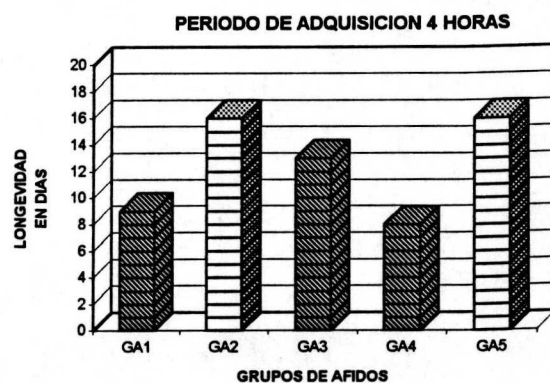
6A.



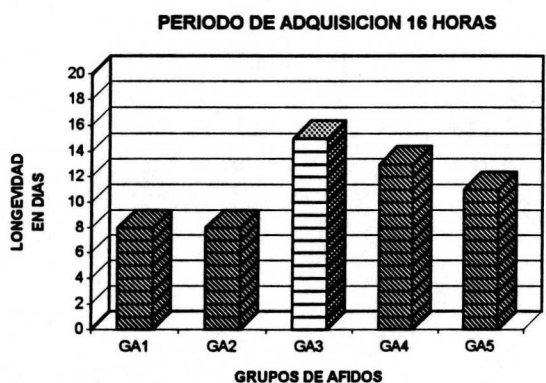
6B.



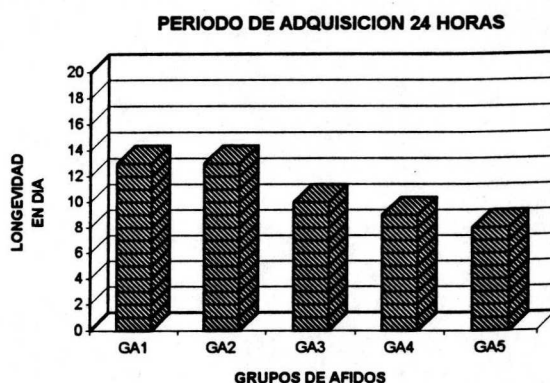
6C.



6D.

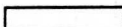


6E.

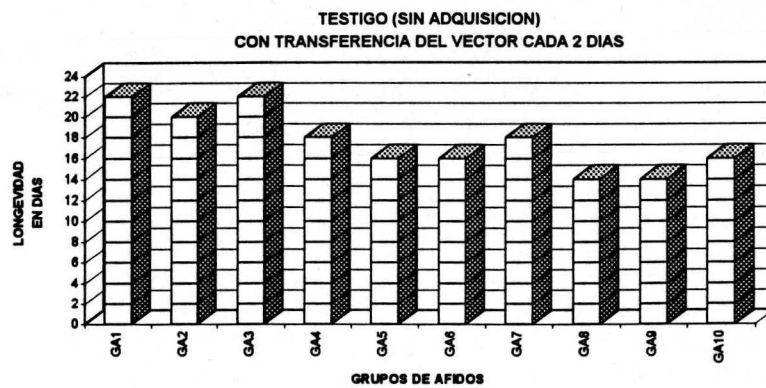


6F.

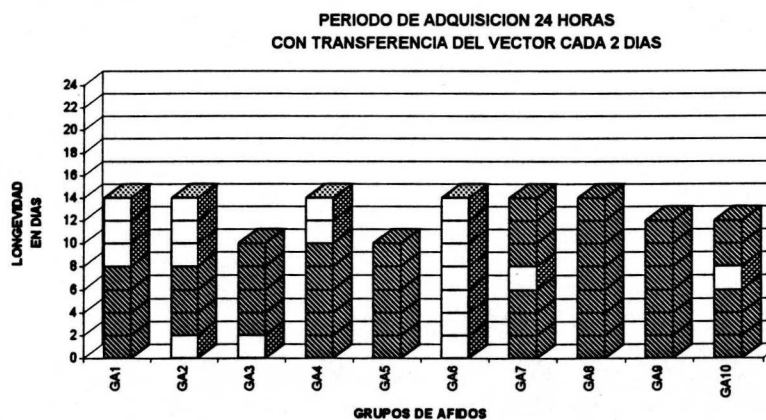
 TRANSMISION

 NO TRANSMISION

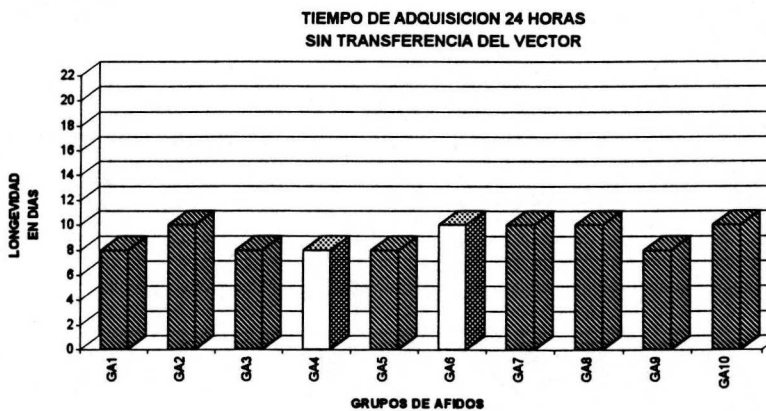
Figuras. 6A., 6B., 6C., 6D., 6E. y 6F. Longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el VPMJ en diferentes periodos de adquisición, utilizando Yerbamora como planta fuente del viroide.



7A.



7B.



7C.

TRANSMISION

NO TRANSMISION

Figuras. 7A., 7B. Y 7C. Longevidad de *Myzus persicae*, obteniendo el VPMJ en un período de 24 horas, con transferencia y sin transferencia del vector a nuevas plántulas de jitomate.

inició a los 10 días de haber transferido a los áfidos. La longevidad máxima y mínima que presentaron los áfidos fue de 14 y 10 días respectivamente (Fig. 7B). En el tratamiento 2, el deceso de los áfidos inició a los 8 días después de haber colocado los grupos de áfidos en las plántulas de jitomate (Fig. 7C-GA1, GA3, GA4, GA5, GA6). La longevidad máxima y mínima que presentaron los áfidos fue de 10 y 8 días respectivamente (Fig. 7C).

DISCUSION

Después de los períodos de adquisición de 4 16 y 24 horas, *Myzus persicae* fue capaz de transmitir el viroide a las plántulas de jitomate. Los áfidos con período de adquisición de 15 min. y 1 hora, no fueron capaces de transmitir el viroide. Esto coincide con algunos resultados obtenidos por Galindo, López y Aguilar (1989); donde reportaron que *Myzus persicae* es capaz de transmitir el viroide después de un período de adquisición de 24 horas. Los áfidos sometidos a tientos de 20 segundos, no fueron capaces de transmitir el viroide.

Cuando los áfidos se transfirieron cada 24 horas a nuevas plántulas de jitomate y la temperatura se mantuvo a 28°C, éstos fueron capaces de transmitir el viroide en forma consecutiva. A temperaturas más altas la transmisión del viroide en algunos casos fue intermitente, las causas de éste efecto hasta el momento son desconocidas.

El mayor y menor tiempo de persistencia del viroide en el áfido fue de 13 y 8 días respectivamente, lo cual coincide con los resultados obtenidos por Galindo et al., (1989).

En el experimento 1, los áfidos continuaron con vida una vez que dejaron de transmitir el viroide sin que hasta el momento se conozcan las causas de éste fenómeno. Esto contradice los resultados obtenidos por Galindo et al., (1989), donde indican que el áfido deja de transmitir el viroide una vez que muere.

Cuando los áfidos fueron sometidos a un período de adquisición de 24 horas utilizando yerbamora como planta fuente del viroide, se obtuvo mayor eficiencia de transmisión (100 %). Posiblemente esto se deba a la diferencia de concentración del viroide que contienen los diferentes hospedantes dependiendo de la especie, como lo indica López en su trabajo de tesis (1986).

Con respecto a la relación Viroide-Vector, existe la posibilidad de que el viroide afecte negativamente la longevidad del áfido acortándole el tiempo de vida, las causas hasta el momento se desconocen. La longevidad que los áfidos presentaron una vez que adquirieron el viroide fue de 8 días mínimo y de 13 días máximo; los áfidos libres de virus o viroides presentaron una longevidad de 16 a 19 días y en algunos casos la longevidad fue hasta de 22 días.

En el experimento 4, los áfidos del tratamiento 2 presentaron la longevidad más corta (8-10 días) comparándola con la longevidad de todos los demás experimentos. Probablemente esto se deba a: 1) Que la proteína alterada en la planta con la presencia del viroide, también tenga efectos en la longevidad del vector. 2) Que al aumentar la concentración del viroide en la planta el áfido lo adquiriera en mayor concentración, alterando aún más la longevidad del áfido y 3) Que la planta avejentada, produzca sustancias desagradables haciéndola menos apetecible y los áfidos muera por falta de alimentación.

Además de utilizar raíz de jitomate, yerbamora y ayehuixlte para inocular plántulas de jitomate, también se puede utilizar tejido de hoja sin peligro de que afecten las ribonucleasas.

CONCLUSIONES

1. El áfidos *Myzus persicae* requiere un período mínimo de adquisición de 4 horas para obtener el viroide de una planta enferma, este tiempo puede ser utilizado en posteriores trabajos para no esperar 24 horas, único tiempo que estaba reportado para la adquisición del viroide.

2.- Con períodos de adquisición de 15 min. y 1 hora, el áfido no es capaz de transmitir el viroide.

3.- Cuando *Myzus persicae* obtiene el viroide en períodos de adquisición de 4, 16 y 24 horas, la capacidad de transmisión no es muy variable si se utiliza la misma especie como planta fuente del viroide.

4.- En el caso de ayehuixtle, yerbamora y jitomate, se puede utilizar tejido de hojas en lugar de raíz para preparar inóculo e infectar mecánicamente plantas sanas.

5.- *Myzus persicae* fue más eficaz transmitiendo el viroide, cuando lo adquirió de yerbamora que cuando lo adquirió de ayehuixtle.

6.- Una vez que *Myzus persicae* adquiere el viroide de una planta enferma lo conserva por el resto de su vida, comprobando de esta manera que el viroide se comporta como persistente.

7.- La longevidad de los áfidos que adquieren el viroide es de 8 a 13 días.

8.- La persistencia de transmisión del viroide esta relacionada con la longevidad de *Myzus persicae*.

9.- Hasta el momento se desconoce como es que el viroide afecta al áfido, acortando su ciclo de vida.

10.- Es necesario ahondar mas sobre éste tema, para asegurar que realmente el viroide es el que altera la longevidad del áfido.

11.- La información obtenida en esta investigación, es una aportación más para tratar de entender algunos aspectos relacionados con la enfermedad "Planta Macho" del jitomate.

BIBLIOGRAFIA

- Bauer, M. L. 1984. Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Editorial Limusa, S. A. México, D. F.
- Belalcázar, C. S. and Galindo, A. J. 1874. Estudio de la "Planta Macho" del jitomate. Agrociencia 18:79-88.
- Branch, A. D., Hugh, D. R., 1984. A replication cycle for viroids and other small infection RNA's. Science. 223:450-55.
- Chávez, B. G. A. 1980. Morfología de la planta en: El cultivo del tomate para consumo fresco en el valle de Culiacan, SARH-INIA.
- Cornuet, P. 1992. Elementos de virología vegetal. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Cruces, C. R. 1986. Lo que México aportó al mundo. Edit. Panorama. México, D.F.
- Diener, T. O. 1979. Subviral pathogens: Viroids and Prions. Plant Disease. 68 (1):4.
- 1982. Viroids and their interactions with host cells. Ann. Rev. Microbial. 36:239-58.
- 1979. Viroids: Structure and function. Science. 205 (4409):859-66.
- Domínguez, R. R., Ayala, O. J. L., Rodríguez, H. C., 1992. Plagas agrícolas. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Domínguez, R. R., 1994. Taxonomía I: Protura a Homóptera, Claves y diagnóstico. Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Galindo, A. J. 1987. Generalidades sobre los viroides y sus enfermedades que causan en: Temas en virología II. Alvizo, V. H. E., Lozoya, S. H. 1987. (Sociedad Mexicana de Fitopatología) Chapingo, México.
- , Smith, D. R. and Diener T. O. 1982. Etiology of Planta Macho a viroid disease of tomato. Phytopathology. 72:49-54.
- 1987b. Tomato Planta Macho. In: Diener, T. O. 1987. The viroids. Academic Press Inc. Chapter 18.

- , Rodríguez, M. R. 1978. Rectificación del agente causal de la "Planta Macho" del jitomate. VIII Congreso Nacional de Fitopatología, Oaxtepec, Morelos. pp. 110-111.
- and Aguilar T. 1985. An aphid species as a vector of the tomato Planta Macho viroids (TPMV). resúmenes del XII Congreso de Fitopatología. Guanajuato, Gto.
- , Smith D. R. and Diener, T. O. 1984. A disease-associated host protein in viroid-infected tomato. *Physiological Plant Pathology*. 24:257-275.
- , López, C. and Aguilar T. 1989. Discovery of the transmitting agent of tomato Planta Macho viroid. *Revista Mexicana de Fitopatología* 7:61-65.
- INEGI. 1993. Anuario estadístico del Edo. de México. INEGI, México, D.F.
- Kiefer, M. C., Owens, R. A. and Diener, T. O. 1983. Structural similarities between viroids and transposable genetic elements. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 80:6234-6238.
- Martínez, S. J. P., 1996. Mexican Papita Viroid. Putative ancestor of crop viroids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 93:9397-9401.
- Matthews, R. E. F. 1992. *Fundamentals of Plant Virology*. Third Edition Academic Press Inc.
- 1991. Viroids, Satellite Viruses, and Satellite RNAs In: *Plant Virology*. Third Edition Academic Press Inc.
- Orózco, V. G. and Galindo, A. J. 1986. Ecology of tomato Planta Macho viroid. I: Natural host plant; Agroecosystem effect on viroid incidence and influence of temperature on viroid distribution. *Rev. Mex. Fitopatología* 4:19-28.
- Orózco, V. G., 1983. Aspectos ecológicos del viroide "Planta Macho" del jitomate. Tesis de Maestría del Colegio de Postgraduados, Chapingo, México.
- Pinto, C. B. 1992. *Virología Agrícola. Parasitología Agrícola*. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Peña-Martínez, M. R. 1992. Identificación de áfidos de importancia agrícola. En: Urias, M. C; Rodríguez, M. R. y Alejandro A. T. *Áfidos como vectores de virus en México Vol. II*.

- Riesner, D. and Gross H. J. 1985. Viroids. Ann. Rev. Biochem. 54:531-64.
- Semancik, J. S. 1979. Small pathogenic RNA in plants-teh viroids. Ann. Rev. Phytopathol. 17:461-84.
- Takahashi, T., Diener, T. O. 1975. Potato spindle tuber viroid. XIV. Replication in nuclei insolated from infected leaves. Virology 64:106-14.
- Urias, M. C., Rodríguez, M. R. y Alejandre, A. T. 1992. Afidos como vectores de virus en México. CEFIT-CP. Vol. I, Contribución a la ecología y Control de áfidos en México.

A P E N D I C E

LISTA DE CUADROS

CUADRO	Pag.
1. Persistencia de transmisión del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en los diferentes períodos de adquisición	59
2. Persistencia de transmisión del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en los diferentes períodos de adquisición	60
3. Persistencia de transmisión del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en los diferentes períodos de adquisición	61
4. Longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el VPMJ en los diferentes períodos de adquisición.	62
5. Longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el VPMJ en los diferentes períodos de adquisición.	63
6. Longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el VPMJ en los diferentes períodos de adquisición.	64
7. Persistencia de transmisión del VPMJ por <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el viroide en un período de adquisición de 24 horas	65
8. Longevidad de <i>Myzus persicae</i> , obteniendo el VPMJ en un período de adquisición de 24 horas	66

CUADRO 1. PERSISTENCIA DE TRANSMISION DEL VPMJ POR *Myzus persicae*, OBTENIENDO EL VIROIDE EN DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION.

		TRANSMISION EN GRUPOS DE PLANTAS EXPUESTAS AL VECTOR EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION														
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION		15 MIN.					1 HORA					4 HORAS				
		P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
5		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
6		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
7		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
9		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
10		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
11		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
15		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
16		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Continuación.....

		TRANSMISION EN GRUPOS DE PLANTAS EXPUESTAS AL VECTOR EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION														
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION		16 HORAS					24 HORA									
		P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5					
1		+	+	+	+	+	+	+	-	+	+					
2		-	+	-	+	+	+	+	-	-	+					
3		-	+	-	+	-	+	+	+	-	+					
4		-	+	-	+	-	+	+	+	-	+					
5		-	+	+	+	-	-	+	-	-	+					
6		-	+	-	+	-	-	+	-	-	+					
7		-	+	-	+	-	-	+	-	-	+					
8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
9		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
10		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
11		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
12		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
13		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
14		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
15		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
16		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					
17		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-					

Fuente de VPMJ: Ayehuixtle;
 (+): Planta infectada; (-): Planta no infectada.
 P1-P5: Series de plantas expuestas al vector.

CUADRO 2. PERSISTENCIA DE TRANSMISION DEL VPMJ POR *Myzus persicae*, OBTENIENDO EL VIROIDE EN DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION.

		TRANSMISION EN GRUPOS DE PLANTAS EXPUESTAS AL VECTOR EN LOS DIFERENTES TIEMPOS DE ADQUISICION														
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION		15 MIN.					1 HORA					4 HORAS				
		P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
1		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
5		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
6		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
7		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
8		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
9		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
10		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
11		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
12		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
13		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
14		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
15		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
16		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
17		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Continuación.....

		TRANSMISION EN GRUPOS DE PLANTAS EXPUESTAS AL VECTOR EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION									
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION		16 HORAS					24 HORA				
		P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
1		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
2		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
3		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
4		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
5		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
6		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
7		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
8		+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
9		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
10		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
11		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
12		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
13		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
14		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
15		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
16		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-
17		-	-	+	+	+	+	+	+	+	-

Fuente de VPMJ: Ayehuixtle.

(+): Planta infectada; (-): Planta no infectada.

P1-P5: Series de plantas expuestas al vector.

CUADRO 3. PERSISTENCIA DE TRANSMISION DEL VPMJ POR *Myzus persicae*, OBTENIENDO EL VIROIDE EN DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICIÓN.

DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	TRANSMISION EN GRUPOS DE PLANTAS EXPUESTAS AL VECTOR EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION														
	15 MIN.					1 HORA					4 HORAS				
	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	+		-
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	+		-
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	+		-
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			+		-
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-			-
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-			-
16		-		-		-	-	-	-			-			-

Continuación.....

DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	TRANSMISION EN GRUPOS DE PLANTAS EXPUESTAS AL VECTOR EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION									
	16 HORAS					24 HORA				
	P1	P2	P3	P4	P5	P1	P2	P3	P4	P5
1			+	+	-	+	+	+	+	+
2			+	+	-	+	+	+	+	+
3			+	+	-	+	+	+	+	+
4			+	+	-	+	+	+	+	+
5			+	+	-	+	+	+	+	+
6			+	+	-	+	+	+	+	+
7			+	+	-	+	+	+	+	+
8			+	+	-	+	+	+	+	+
9			+	+	-	+	+	+	+	+
10				+	+	+	+	+		
11				+	+	+	+			
12				+		+	+			
13				+		+	+			
14				-						
15				-						
16										

Fuente de VPMJ: Yerbamora.

(+): Planta infectada; (-): Planta no infectada.

P1-P5: Series de plantas expuestas al vector.

CUADRO 4. LONGEVIDAD DE *Myzus persicae*, OBTENIENDO EL VPMJ EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION.

TRANSFERENCIA DE AFIDOS EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION																
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	TESTIGO 0 HORAS					15 MIN.					1 HORA					
	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	
0	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	
1	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	
2	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	2/3	3/3	2/3	2/3	2/3	3/3	3/3	3/3	
3	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	3/3	1/3	2/3	2/2	2/2	2/2	2/2	3/3	1/3	2/3	
4	2/3	3/3	3/3	3/3	2/3	3/3	1/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	
5	2/3	3/3	3/3	3/3	2/3	3/3	1/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	
6	2/3	3/3	2/3	3/3	2/3	3/3	1/3	1/3	2/3	1/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	
7	2/3	3/3	2/3	3/2	2/3	3/3	1/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	1/3	1/3	2/3	
8	2/3	3/3	2/3	2/3	2/3	3/3	1/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	1/3	1/3	2/3	
9	2/3	2/3	3/3	2/3	2/3	3/3	1/3	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3	1/3	1/3	1/3	
10	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	2/3	1/3	2/3	1/3	1/3	1/3	2/3	0/3	1/3	1/3	
11	2/3	1/3	2/3	1/3	2/3	2/3	1/3	2/3	1/3	1/3	1/3	2/3		1/3	1/3	
12	1/3	1/3	2/3	1/3	2/3	1/3	0/3	2/3	1/3	1/3	0/3	2/3		1/3	1/3	
13	1/3	1/3	2/3	1/3	2/3	1/3		2/3	1/3	1/3		2/3		1/3	1/3	
14	1/3	1/3	2/3	1/3	0/3	0/3		1/3	1/3	1/3		2/3		0/3	1/3	
15	1/3	1/3	2/3	1/3				0/3	1/3	0/3		2/3			0/3	
16	1/3	1/3	1/3	0/3					1/3			1/3				
17	1/3	1/3	0/3						0/3			0/3				
18	0/3	0/3														

Continuación.....

TRANSFERENCIA DE AFIDOS EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION																
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	4 HORAS					16 HORAS					24 HORAS					
	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	
0	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	
1	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	
2	2/3	3/3	2/3	2/3	3/3	1/3	3/3	3/3	3/3	2/3	2/3	2/3	2/3	3/3	2/3	
3	2/3	3/3	2/3	2/3	3/3	1/3	2/3	1/3	3/2	2/2	2/2	2/2	2/3	2/3	1/3	
4	2/3	3/3	2/3	2/3	3/3	1/3	2/3	1/3	3/3	2/3	1/3	2/3	1/3	2/3	1/3	
5	2/3	3/3	2/3	1/3	3/3	1/3	2/3	1/3	3/3	2/3	0/3	1/3	1/3	2/3	1/3	
6	1/3	3/3	2/3	1/3	2/3	0/3	2/3	1/3	2/3	1/3		1/3	1/3	1/3	1/3	
7	1/3	3/3	1/3	1/2	1/3		2/3	1/3	2/3	1/3		1/3	1/3	1/3	1/3	
8	1/3	3/3	1/3	1/3	1/3		2/3	1/3	2/3	1/3		0/3	0/3	1/3	1/3	
9	1/3	3/3	1/3	1/3	1/3		1/3	1/3	2/3	1/3				1/3	1/3	
10	1/3	2/3	1/3	1/3	1/3		1/3	1/3	2/3	1/3				1/3	1/3	
11	1/3	1/3	0/3	1/3	1/3		1/3	1/3	1/3	1/3				1/3	1/3	
12	1/3	0/3			1/3		1/3	1/3	1/3	1/3				1/3	1/3	
13	0/3				1/3		0/3	1/3	1/3	0/3				0/3	1/3	
14					0/3			1/3	0/3						0/3	
15								0/3								
16																
17																
18																

Fuente de VPMJ: Ayehuixtle.

Numerador: Afidos vivos; Denominador: Afidos al inicio.

A1-A5: Grupos de áfidos transferidos por día .

CUADRO 5. LONGEVIDAD DE *Myzus persicae*, OBTENIENDO EL VPMJ EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION.

TRANSFERENCIA DE AFIDOS EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION																
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	TESTIGO 0 HORAS					15 MIN.					1 HORA					
	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	
0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
1	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
2	5/5	5/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	4/5	
3	5/5	5/5	4/5	4/5	4/5	5/5	4/5	4/5	3/5	4/5	5/5	4/5	5/5	4/5	4/5	
4	4/5	5/5	3/5	4/5	4/5	5/5	4/5	3/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	3/5	
5	4/5	5/5	3/5	3/5	3/5	5/5	3/5	3/5	3/5	4/5	4/5	3/5	4/5	4/3	3/5	
6	4/5	5/5	3/5	3/5	3/5	5/5	3/5	3/5	3/5	4/5	4/5	3/5	3/5	4/5	3/5	
7	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	5/5	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	3/5	3/5	3/5	3/5	
8	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	4/5	3/5	3/5	3/5	2/5	3/5	3/5	2/5	3/5	2/5	
9	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	4/5	3/5	2/5	2/5	2/5	3/5	2/5	2/5	3/5	2/5	
10	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	2/5	1/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	1/5	
11	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	1/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	0/5	
12	2/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	0/5	1/5	1/5	2/5	2/5	1/5		
13	1/5	2/5	2/5	2/5	2/5	1/5	2/5	2/5		0/5	0/5	1/5	1/5	1/5		
14	1/5	2/5	1/5	2/5	2/5	1/5	1/5	2/5				1/5	0/5	0/5		
15	0/5	2/5	1/5	1/5	0/5	0/5	1/5	2/5				1/5				
16		2/5	1/5	1/5			1/5	1/5				0/5				
17		1/5	1/5	0/5			0/5	0/5								
18		0/5	0/5													

Continuación.....

TRANSFERENCIA DE AFIDOS EN LOS DIFERENTES TIEMPOS DE ADQUISICION																
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	4 HORAS					16 HORAS					24 HORAS					
	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	
0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
1	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
2	4/5	4/5	5/5	5/5	5/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	5/5	4/5	5/5	4/5	5/5	
3	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	5/5	4/5	4/5	4/5	5/5	
4	3/5	3/5	4/5	4/5	4/5	3/5	4/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	3/5	4/5	5/5	
5	3/5	3/5	3/5	4/5	4/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	4/5	3/5	4/5	4/5	
6	2/5	3/5	3/5	3/5	4/3	3/5	3/5	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	4/5	
7	2/5	3/5	2/5	3/5	3/5	2/5	3/5	3/5	2/5	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	4/5	
8	0/5	3/5	0/5	2/5	3/5	0/5	2/5	2/5	0/5	2/5	0/5	3/5	2/5	1/5	2/5	
9		2/5		2/5	3/5		2/5	2/5		2/5		2/5	2/5	0/5	2/5	
10		2/5		2/5	2/5		2/5	2/5		1/5		1/5	2/5		2/5	
11		2/5		2/5	2/5		2/5	1/5		0/5		0/5	2/5		2/5	
12		2/5		1/5	1/5		1/5	1/5					2/5		2/5	
13		2/5		1/5	0/5		1/5	0/5					1/5		1/5	
14		1/5		1/5			1/5						0/5		1/5	
15		1/5		0/5			0/5								1/5	
16		0/5													0/5	
17																
18																

Fuente de VPMJ: Ayehuixtle.

Numerador: Afidos vivos; Denominador: Afidos al inicio.

1-A5: Grupo de áfidos transferidos por día.

CUAADRO 6. LONGEVIDAD DE *Myzus persicae*, OBTENIENDO EL VPMJ EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION.

TRANSFERENCIA DE AFIDOS EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION																
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	TESTIGO 0 HORAS					15 MIN.					1 HORA					
	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	
0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
1	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
2	4/5	4/5	4/5	4/5	5/5	4/5	5/5	4/5	4/5	4/5	5/5	4/5	5/5	4/5	5/5	
3	4/5	4/5	4/5	3/5	5/5	4/5	5/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	5/5	4/5	4/5	
4	4/5	4/5	4/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	4/5	
5	4/5	4/5	4/5	3/5	4/5	4/5	4/5	3/5	3/5	4/5	4/5	3/5	4/5	4/3	4/5	
6	4/5	4/5	4/5	3/5	3/5	3/5	4/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	4/5	4/5	
7	2/5	4/5	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	3/5	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	4/5	4/5	
8	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	2/5	3/5	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	4/5	3/5	
9	2/5	2/5	3/5	3/5	2/5	2/5	3/5	3/5	2/5	3/5	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	
10	2/5	2/5	3/5	3/5	2/5	2/5	3/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	3/5	3/5	3/5	
11	2/5	2/5	3/5	3/5	2/5	1/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	1/5	2/5	3/5	3/5	
12	2/5	2/5	3/5	3/5	2/5	1/5	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	1/5	2/5	2/5	2/5	
13	2/5	2/5	2/5	2/5	2/5	1/5	2/5	2/5	1/5	2/5	2/5	1/5	2/5	2/5	1/5	
14	2/5	2/5	1/5	2/5	1/5	1/5	2/5	2/5	1/5	2/5	0/5	1/5	2/5	2/5	1/5	
15	2/5	1/5	1/5	2/5	1/5	0/5	1/5	0/5	1/5	0/5		1/5	0/5	2/5	0/5	
16	2/5	1/5	1/5	2/5	0/5		0/5		0/5			0/5		0/5		
17	1/5	1/5	1/5	0/5												
18	0/5	0/5	1/5													
19			0/5													

Continuación.....

TRANSFERENCIA DE AFIDOS EN LOS DIFERENTES PERIODOS DE ADQUISICION																
DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	4 HORAS					16 HORAS					24 HORAS					
	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	A1	A2	A3	A4	A5	
0	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
1	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	3/5	5/5	5/5	5/5	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	
2	4/5	4/5	4/5	4/5	5/5	3/5	4/5	5/5	4/5	4/5	4/5	5/5	4/5	5/5	4/5	
3	3/5	4/5	4/5	3/5	4/5	3/5	4/5	4/5	4/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	3/5	
4	3/5	4/5	3/5	3/5	4/5	2/5	4/5	4/5	4/5	3/5	4/5	4/5	4/5	4/5	3/5	
5	2/5	3/5	3/5	4/5	4/5	2/5	3/5	4/5	3/5	2/5	3/5	3/5	4/5	3/5	3/5	
6	2/5	3/5	3/5	3/5	3/3	2/5	3/5	3/5	3/5	2/5	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	
7	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	3/5	3/5	2/5	2/5	2/5	3/5	1/5	2/5	
8	2/5	3/5	3/5	2/5	3/5	0/5	0/5	3/5	3/5	2/5	2/5	2/5	2/5	1/5	0/5	
9	0/5	3/5	3/5	0/5	3/5			3/5	2/5	1/5	2/5	2/5	2/5	0/5		
10		3/5	2/5		2/5			2/5	2/5	1/5	2/5	1/5	0/5			
11		3/5	2/5		2/5			2/5	2/5	0/5	2/5	1/5				
12		2/5	2/5		2/5			2/5	1/5		1/5	1/5				
13		2/5	0/5		2/5			2/5	0/5		0/5	0/5				
14		2/5			1/5			2/5								
15		2/5			1/5			0/5								
16		2/5			1/5											
17		0/5			0/5											

Fuente de VPMJ: Yerbamora.

Numerador: Afidos vivos; Denominador: Afidos al inicio.

A1-A5: Grupos de áfidos transferidos por día.

CUADRO 7. PERSISTENCIA DE TRANSMISION DEL VPMJ POR *Myzus persicae*, OBTENIENDO EL VIROIDE EN UN PERIODO DE ADQUISICION DE 24 HORAS.

DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	TRANSMISION EN GRUPOS DE PLANTAS EXPUESTAS AL VECTOR																			
	ADQUISICION 24 HORAS CON TRANSFERENCIA										ADQUISICION 24 HORAS CON TRANSFERENCIA									
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
2	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
4	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
6	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
8	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
10	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
12	-	-		-		-	+	+	+	+										
14	-	-		-		-		+	+											

Fuente de VPMJ: Ayehuixtle.

(+): Planta infectada; (-): Planta no infectada.

P1-P10: Series de plantas expuestas al vector.

CUADRO 8. LONGEVIDAD DE *Myzus persicae*, OBTENIENDO EL VPMJ EN UN PERIODO DE 24 HORAS.

DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	AFIDOS ANALIZADOS																			
	TESTIGO ADQ. 0 HORAS CON TRANSFERENCIA										ADQUISICION 24 HORAS CON TRANSFERENCIA									
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
0	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
2	8/8	7/8	7/8	7/8	6/8	7/8	7/8	7/8	6/8	6/8	8/8	8/8	7/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	5/8	6/8
4	8/8	7/8	6/8	7/8	6/8	7/8	6/8	7/8	5/8	6/8	8/8	6/8	6/8	6/8	6/8	7/8	7/8	6/8	5/8	4/8
6	6/8	6/8	6/8	6/8	5/8	6/8	5/8	6/8	5/8	5/8	6/8	5/8	3/8	4/8	3/8	5/8	5/8	6/8	5/8	4/8
8	6/8	4/8	5/8	5/8	5/8	6/8	6/8	4/8	5/8	5/8	3/8	2/8	3/8	2/8	2/8	3/8	4/8	2/8	3/8	
10	5/8	4/8	3/8	4/8	3/8	2/8	5/8	2/8	3/8	3/8	2/8	2/8	0/8	2/8	0/8	1/8	3/8	4/8	0/8	0/8
12	5/8	2/8	2/8	2/8	2/8	1/8	5/8	1/8	1/8	3/8	2/8	2/8		2/8		1/8	3/8	3/8		
14	3/8	2/8	2/8	2/8	1/8	1/8	3/8	0/8	0/8	2/8	0/8	0/8		0/8		0/8	0/8	0/8		
16	3/8	2/8	1/8	1/8	0/8	0/8	1/8			0/8										
18	1/8	1/8	1/8	0/8			0/8													
20	1/8	0/8	1/8																	
22	0/8		0/8																	

Continuación.....

DIAS DESPUES DE LA ADQUISICION	AFIDOS ANALIZADOS									
	ADQUISICION 24 HORAS SIN TRANSFERENCIA									
	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10
0	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8
2	7/8	8/8	8/8	7/8	6/8	5/8	8/8	8/8	7/8	8/8
4	5/8	5/8	3/8	4/8	2/8	2/8	6/8	3/8	3/8	6/8
6	3/8	2/8	1/8	2/8	1/8	1/8	2/8	2/8	2/8	5/8
8	0/8	1/8	0/8	0/8	0/8	1/8	2/8	2/8	0/8	2/8
10		0/8				0/8	0/8	0/8		0/8
12										
14										
16										
18										
19										
20										
22										

Fuente del VPMJ: Ayehuixtle
 Numerador: Afidos vivos
 Dnominador: Afidos al inicio
 A1-A10: Grupos de áfidos transferidos
 por día.

