

45
2eje.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN



"PROTECCION CRUZADA AL VIRUS DE
LA MANCHA ANULAR DEL PAPAYO"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
INGENIERA AGRICOLA
P R E S E N T A :
SUSANA PANIAGUA BUELNAS

ASESOR: DR. DANIEL TELIZ ORTIZ
COASESOR: BIOL. MARCOS ESPADAS RESENDIZ

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1994

**TESIS CON
FALSA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES-CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

~~"Protección Cruzada del Virus de la Mancha Anular del Papayo"~~

que presenta la pasante: Susana Paniagua Buelnas
con número de cuenta: 3305236-5 para obtener el TITULO de:
Ingeniera Agrícola

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 5 de Septiembre de 1994

PRESIDENTE	Don C. Ma. del Yasmín Cuervo Usan	
VOCAL	Ing. Hilda Carina Gómez Villar	
SECRETARIO	Biol. Marcos Espadas Resendiz	
PRIMER SUPLENTE	Don C. Juan Virgen Vargas	
SEGUNDO SUPLENTE	Ing. Angel López Cortes	

DEDICATORIA

A mis padres Jesús y María por todo el apoyo, cariño y comprensión que siempre nos han brindado.

A mis hermanos Fidencio Maricela, María de la Luz, Felipe, Norma Angélica, Jesús, Maura Marcela, a mis sobrinas Mayra Guadalupe y Cristina y a todos mis sobrinos.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Daniel Téliz Ortiz, por la orientación y dirección en la realización de la tesis. Agradezco sus valiosas sugerencias y su apoyo brindado durante el presente trabajo.

A la Dra. Elizabeth Cárdenas Soriano por su ayuda desinteresada en el proceso de identificación de inclusiones celulares.

Al Dr. Víctor González y al Ing. Onésimo Grimaldi, por su gran ayuda prestada y por sus consejos y sugerencias en la realización de este trabajo.

Al Ing. Tomás Alejandro por su valiosa colaboración para la realización de este trabajo.

Al Ing. Juan Mares del centro de Edafología por la ayuda proporcionada.

Al Laboratorio de Fisiología de Postcosecha del Colegio de Postgraduados por las facilidades brindadas durante el proceso de extracción de clorofilas.

A todos aquellos que colaboraron en la realización de este trabajo.

I N D I C E

	Pág.
INDICE DE CUADROS Y FIGURAS	i
RESUMEN	iv
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
General	3
Particulares	3
HIPOTESIS	3
REVISION DE LITERATURA	4
Características Botánicas	4
Origen y distribución geográfica	4
Clasificación taxonómica	4
Morfología	4
Importancia del cultivo	6
Características de la enfermedad	6
Síntomas de la enfermedad	7
Métodos de control	8
Protección Cruzada	10
Probables mecanismos de la protección cruzada....	10
Aplicación de la protección cruzada	12
Limitaciones en el uso de la protección cruzada..	13
MATERIALES Y METODOS	14
Tratamientos	15
Parámetros de evaluación	16
Altura de planta	16
Diámetro del tallo	16

Número de hojas	16
Tipo y severidad de síntomas	16
Inclusiones celulares	17
Tasa de fotosíntesis aparente	17
Tasa de respiración	17
Tasa de transpiración	17
Conductancia estomática	17
Eficiencia en el uso del agua	18
Area foliar	18
Contenido de clorofila	18
Peso seco del follaje	19
Peso seco y volumen radical	19
RESULTADOS Y DISCUSION	20
ELISA	20
Altura de planta	20
Diámetro de tallo	21
Número de hojas	22
Severidad de síntomas	23
Inclusiones celulares	26
Tasa de fotosíntesis aparente	29
Tasa de respiración	31
Tasa de transpiración	34
Conductancia estomática	34
Eficiencia en el uso del agua	35
Area foliar	36
Contenido de clorofilas	37
Peso seco del follaje	38
Peso seco y volumen radical	38
CONCLUSIONES	41
BIBLIOGRAFIA	42

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

	Pág.
Cuadro 1. Altura de planta (cm) en plantas de papayo inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17 - Mex 1 del VMAP y un tratamiento testigo (plantas sanas) para medir la posible protección cruzada. Montecillo, México. 1994.	21
Cuadro 2. Diámetro de tallo (mm), en plantas de papayo inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un tratamiento testigo (plantas sanas) para medir la posible protección cruzada. Montecillo México. 1994.	22
Cuadro 3. Número de hojas en plantas de papayo inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un tratamiento testigo (plantas sanas) para medir la posible protección cruzada. Montecillo, México. 1994.	23
Cuadro 4. Índice de severidad (Ø) observado en plantas de papayo inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17 - Mex 1 y un grupo testigo (plantas sanas) en condiciones de invernadero. Montecillo, México. 1994.	24
Cuadro 5.- Desarrollo de Inclusiones Celulares del VMAP Mex 17 (atenuado) y Mex 1 (agresivo) inoculados en <u>Cucurbita pepo</u> Grey Zucchini. Montecillo, México. 1994.	27
Cuadro 6.- Tasa de fotosíntesis aparente (Fs), tasa de respiración (Rs), tasa de transpiración (Ts), conductancia estomática (C.E.) y eficiencia en el uso del agua (EUA) en una hoja de plantas de <u>Carica papaya</u> inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas) en condiciones de invernadero a los 62 días después de la inoculación retardadora. Montecillo, México. 1994.	30

Cuadro 7.- Tasa de fotosíntesis aparente (Fs), tasa de respiración (Rs), tasa de transpiración (Ts), conductancia estomática (C.E.) y eficiencia en el uso del agua (EUA) en una hoja de plantas de **Carica papaya** inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas), en condiciones de invernadero a los 77 días después de la inoculación retardadora. Montecillo, México. 1994. 30

Cuadro 8.- Tasa de fotosíntesis aparente, tasa de respiración y Tasa de transpiración estimada por planta en **Carica papaya** inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17 - Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas) en condiciones de Invernadero a los 62 DDI retardadora. 32

Cuadro 9.- Tasa de fotosíntesis aparente, tasa de respiración y tasa de transpiración estimada por planta en **Carica papaya** inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17 - Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas) en condiciones de invernadero a los 77 DDI retardadora. Montecillo, México. 1994. 32

Cuadro 10. - Peso seco (g) de la parte aérea y raíz, volúmen de raíz en mm desplazados de agua y area foliar (cm²) en plantas de **Carica papaya** inoculadas con los aislamientos Mex 17 (atenuado), Mex 1 (agresivo), Mex 17-Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas). Montecillo, México. 1994. 36

Cuadro 11. - Contenido de clorofila total, clorofila A y clorofila B en mg/g de hoja, en plantas de **Carica papaya** inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17 - Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas). Montecillo, México. 1994. 37

FIGURAS

Figura 1. Índice de severidad observado en papayo inoculado con los aislamientos del VMAP Mex 17 (atenuado) Mex 1 (agresivo), Mex 17 - Mex 1 (protegido) y un grupo testigo (plantas sanas). Montecillo, Méx. 1994. 25

Fig. 2. Dinámica de inclusiones celulares del VMAP Mex 17 (atenúado) y Mex 1 (agresivo) en plantas de calabaza Cucurbita pepo Grey Zucchini. Montecillo, México. 28

Fig. 3. Efecto de los aislamientos del VMAP Mex 17 Mex 1, Mex 17 - Mex 1 y un grupo testigo (plantas sanas) sobre la tasa de fotosíntesis aparente y tasa de respiración en plantas de papayo, a los 62 días después de la inoculación retadora. 33

Fig. 4. Efecto de los aislamientos del VMAP Mex 17 Mex 1, Mex 17 - Mex 1 y un grupo testigo (plantas sanas) sobre la tasa de fotosíntesis aparente y tasa de respiración en plantas de papayo, a los 77 días después de la inoculación retadora. 33

RESUMEN

El virus de la mancha anular del papayo (VMAP) es la enfermedad más severa que infecta al papayo en México. Se han probado varios métodos de control, entre ellos la Protección Cruzada, la cual ocurre cuando una planta se inocula con una variante atenuada de un virus y posteriormente por una variante agresiva del mismo sin que los síntomas de la última aparezcan. En México se ha trabajado con aislamientos del VMAP procedentes de Veracruz, encontrándose el aislamiento Mex 17 el cual produjo síntomas benignos en papayo, catalogándose como una variante atenuada, por lo cual se trabajó en pruebas de protección cruzada con este aislamiento.

El estudio se llevó a cabo en el invernadero de virus del Colegio de Postgraduados. Semillas de papayo cv. Cera se sembraron en bolsas de polietileno negro. Las plántulas de papayo se inocularon cuando presentaban de 3 a 4 hojas trilobuladas con las cepas Mex 17 (atenuada) y Mex 1 (agresiva) mediante la técnica de frotis. El inoculo se extrajo de plantas de calabaza Cucurbita pepo Grey Zucchini infectadas por separado con las dos variantes, macerando el tejido en buffer de fosfatos de potasio 0.02 M y pH 7 en proporción 1/10 (p/v). Los tratamientos que se formaron fueron a) inoculación con mex 17, b) inoculación con Mex 1, c) inoculación con Mex 17 y a los 25 días retada con Mex 1, d) inoculación con Mex 1 a los 25 días posteriores a la primera inoculación y e) inoculación con agua como testigo. La infección se comprobó por la técnica ELISA 22 días después de la inoculación incluyendo en el experimento solo aquellas plantas positivas en ELISA, por lo cual se manejaron 9 repeticiones por tratamiento. Para evaluar los tratamientos se midió la altura de planta, diámetro del tallo, área foliar, peso seco del follaje, peso seco y volumen de raíz, número de hojas, tasa de fotosíntesis aparente, tasa de respiración, tasa de transpiración, conductancia estomática, eficiencia en el uso del agua y se cuantificó el contenido de clorofilas. Así mismo se determinó un índice de severidad, mediante una escala arbitraria con valores desde 1 a 5. Los parámetros se analizaron mediante un diseño completamente al azar y se compararon las medias mediante las pruebas de Tukey y Duncan con el 0.05 de probabilidad.

Se encontró que Mex 17 bajo las condiciones en que se desarrolló el experimento no protegió a las plantas de papayo o la protección fué incompleta puesto que se observaron síntomas severos después de los 40 a 50 días. El tratamiento protegido redujó significativamente los parámetros de altura de planta en 21%, diámetro del tallo 27%, número de hojas 24%, área foliar 64%, peso seco del follaje 58%, peso seco de raíz 60%, volúmen de raíz 55%, así como el contenido de clorofila total 44%, presentando un comportamiento similar a los tratamientos inoculados con la variante agresiva Mex 1.

No se observó un efecto sobre la tasa de fotosíntesis entre los tratamientos, pero en la tasa de respiración se observó un incremento en los tratamientos inoculados con el virus Mex 1 así como en el tratamiento protegido, en comparación a las plantas sanas, y la misma tendencia presentó la tasa de transpiración.

INTRODUCCION

El papayo es un cultivo tropical de gran importancia a nivel nacional, se produce en más de 18 estados de la República Mexicana, pero la mayor parte de la producción se ve afectada fuertemente por enfermedades de origen viroso, entre estas, el virus de la mancha anular del papayo (VMAP) es la más severa y ha cambiado la naturaleza perenne o semiperenne del cultivo y lo ha hecho anual (Téliz et al., 1991a; Yeh et al., 1988).

El virus de la mancha anular del papayo es un potyvirus con partículas filamentosas, flexibles, de aproximadamente 800 nm de longitud x 12 nm de diámetro, se transmite mecánicamente y por muchas especies de áfidos vectores de forma no persistente (Purcifull et al., 1984). Debido a la severidad de esta enfermedad se han probado varios métodos para su control (Galindo et al., 1978; Becerra, 1988; 1991; Nieto, 1990). La protección cruzada es otra opción para controlar la enfermedad (Yeh et al., 1988).

La protección cruzada es un proceso en el cual las plantas infectadas sistémicamente con una variante atenuada de un virus son protegidos de los efectos severos de una segunda variante del mismo virus. La protección cruzada se ha utilizado con éxito en Hawaii para controlar el VMAP. La variante atenuada HA 5-1 que se utilizó, se obtuvo por mutagénesis con ácido nitroso, ya que no se encontró una variante benigna en forma natural (Yeh y Gonsalves, 1984; Yeh et al., 1988). En Veracruz, se utilizó este método protegiendo las plantas con la variante HA 5-1 (Téliz et al., 1987), sin embargo, los resultados obtenidos no fueron totalmente convincentes respecto a una total protección, aun cuando las plantas protegidas superaron al testigo en todas las variables evaluadas y esto se atribuyó a que la variante del virus presente en Veracruz es diferente de la que prevalece en Hawaii, en virtud de que aislamientos de Veracruz no forman lesiones locales en *Chenopodium quinoa* y en *Ch. amaranticolor* mientras que aislamientos de Hawaii si las producen (Téliz et al., 1987).

Se realizaron colectas de hojas con diferentes tipos de síntomas del VMAP en el estado de Veracruz con el propósito de encontrar una variante atenuada de origen mexicano para utilizarse en pruebas de protección cruzada, estas muestras colectadas se inocularon en papayo y en *Cucumis metuliferus* hospedantes sistémicos del virus, sobresaliendo uno de estos aislamientos ya que ocasionó síntomas atenuados, a este aislamiento se le llamó Mex 17 (Téliz, 1994). Cárdenas (1992), en estudios posteriores, confirmó el comportamiento benigno de este aislamiento, señalando que las inclusiones que induce Mex 17 y la expresión de síntomas leves lo colocan como una variante atenuada, diferente de los otros aislamientos de Veracruz.

O B J E T I V O S

GENERAL

Evaluar el efecto de Protección Cruzada de la cepa atenuada Mex 17 contra cepas agresivas del VMAP en papayo.

PARTICULARES

1.- Determinar el nivel de protección que induce la cepa atenuada Mex 17 en papayo.

2.- Identificar diferencias en el tipo de inclusiones que forman las cepas agresiva Mex 1 y atenuada Mex 17 del VMAP.

3.- Correlacionar las inclusiones celulares producidas por las dos cepas del VMAP con la protección cruzada.

HIPOTESIS DE TRABAJO

La cepa atenuada Mex 17 al infectar plantas de papayo y tal vez ocupar los sitios de infección de las células, protegerá a las plantas de una segunda infección con una cepa agresiva.

REVISIÓN DE LITERATURA

Características Botánicas

Origen y distribución geográfica.

El papayo tiene su origen en América Central, nunca se le ha encontrado en estado silvestre, pero existen otras especies estrechamente relacionadas tales como *Carica candamarscensis*, *C. monoica* y *C. cauliflora*. Fue llevado a Filipinas por los españoles, posteriormente llegó a otras regiones del sudeste Asiático y África. Actualmente se encuentra en todos los países tropicales y subtropicales (Cobley, 1976; Williams y Rajaratham, 1979; Samson, 1991).

Clasificación taxonómica.

Reino :	Vegetal
Tronco :	Cormophyta
División:	Autophyta
Subdivisión:	Angiosperma
Clase :	Dicotyledoneae
Subclase:	Archichamydae
Orden :	Violales
Sub-orden:	Carinicieae
Familia :	Caricaceae
Género :	Carica
Especie :	papaya

El género *Carica* comprende 22 especies, siendo la más importante económicamente *Carica papaya* L., debido a que produce frutos comestibles. Comúnmente el papayo recibe varios nombres tales como: "pawpaw", "mamao", "lechosa" y "fruta bomba" (Cobley, 1976; Rovira y Alvarez, 1986; Samson, 1991).

Morfología.

El papayo es un árbol pequeño de madera suave, normalmente sin ramificación, de crecimiento rápido, con hojas en racimos

terminales y vasos de látex por todos los tejidos. El tallo es delgado, erecto, algo flexible, de 2 a 10 m de altura, hueco entre los nudos excepto en plantas jóvenes; consiste principalmente en parénquima leñoso y presenta unas cicatrices triangulares de gran tamaño, causadas por la caída de hojas e inflorescencias.

Las hojas presentan peciolo largos y huecos, la lámina es grande, palmeada, con lóbulos profundos, dentados, de color verde oscuro en el haz y verde claro en el envés, las nervaduras son hundidas y de color blanco amarillento. Se encuentran arregladas en un espiral de $2/5$.

La raíz es napiforme, crece casi vertical en terrenos profundos; se considera extensa y densa o superficial, dependiendo del tipo del suelo en el cual se desarrolle (Samson, 1991).

Las inflorescencias son axilares, colgantes y bracteales. Las flores pueden ser unisexuales o hermafroditas, pero sus tipos y otras características han determinado la separación de varias clases de plantas, las cuales pueden reducirse a tres principales:

1. Femeninas, flores solamente pistiladas.
2. Hermafroditas, llamadas monoicas o andromonoicas con flores estaminadas y pistiladas en la misma inflorescencia.
3. Masculinas o andróicas, flores solo estaminadas.

Los sexos en las plantas pueden variar dependiendo de la estación o de la edad del árbol. Cuando se corta un árbol masculino viejo puede dar lugar a un cambio completo de sexo, apareciendo brotes con flores femeninas y posteriormente frutos (Rovira y Alvarez, 1986).

El fruto es una baya grande, carnosa y hueca. Los frutos formados a partir de flores femeninas son de oblongos a casi esféricos, pero si se forman a partir de flores hermafroditas presentan forma de pera, cilíndrica o estriada. La cáscara es delgada, verde cuando joven, tendiendo a amarilla cuando madura. La pulpa es de amarilla a anaranjada, en algunos cultivares es rojiza y posee un agradable sabor. Alrededor de la cavidad se depositan las semillas, las cuales son negras encerradas en un arilo transparente, subácido y mucilaginoso (Samson, 1991).

Importancia del cultivo

El papayo es un frutal tropical importante a nivel nacional, su consumo se realiza tanto como fruta fresca como por sus propiedades medicinales e industriales. Este frutal se produce en más de 18 estados de la República Mexicana, destinándose aproximadamente 24 000 ha a su cultivo, con una producción estimada de 880 000 ton; los estados productores de papayo más importantes son: Guerrero, Veracruz, Oaxaca, Michoacán, Yucatán, Jalisco, Nayarit y San Luis Potosí (COABASTO, 1990).

Otro aspecto destacable del cultivo es que se cultiva en mayor proporción en condiciones de temporal y en suelos marginales, por lo que el agricultor obtiene de su cultivo ingresos favorables en condiciones limitadas (Téliz, 1990).

Dentro de la problemática total del cultivo, existen muchos factores limitantes de la producción tales como plagas y enfermedades, entre estas últimas destacan las de naturaleza viral, puesto que repercuten en mermas severas en la producción y por su misma naturaleza no existe un método de control eficiente.

La enfermedad de la mancha anular del papayo (Papaya ringspot virus) es la enfermedad viral más severa y destructiva, se encuentra ampliamente distribuida en países tropicales donde se cultiva el papayo (Story y Halliwell, 1969; Ishii, 1972; Femi Lana, 1980; Wan and Conover, 1983; Yeh and Gonsalves, 1984; Purcifull et al., 1984).

En México es la enfermedad más importante, adquirió importancia a partir de 1974 en la zona Costera del Golfo de México y apareció con anterioridad a ese año en las áreas productoras de la Costa del Pacífico (INIA, 1983), diseminándose a las demás zonas productoras del país (Galindo et al., 1978; Ochoa, 1992; Téliz et al., 1991a).

Características de la enfermedad

La enfermedad es causada por el Virus de la Mancha Anular del Papayo, VMAP (Papaya ringspot virus, PRV), el cual es miembro del grupo de los potyvirus. Este virus es una partícula filamentosa flexible de alrededor de 780 nm de longitud x 12 nm de diámetro, constituido por una cadena de ARN, se transmite en

forma mecánica y por muchas especies de áfidos de manera no persistente. Se reporta que el PRV-P se transmite por 21 especies de 11 géneros de áfidos (Purcifull et al., 1984); entre los principales vectores transmisores se encuentran: *Aphis gossypii* G, *A. nerii* F, *A. citricola*, *A. maidis*, *A. cracivora*, *Myzus persicae*, *Macrosiphum solanifolii*, *Toxoptera aurantii* y *T. citricidus* (Story y Halliwell, 1969; López, 1972; Solano, 1975; Femi Lana, 1980).

El rango de hospedantes incluye especies de las familias Caricaceae, Chenopodiaceae y Cucurbitaceae (Purcifull et al., 1984), aunque se encontró una variante que infectó a *Melothria guadalupensis* la cual presentó lesiones locales (López, 1972).

El virus es indistinguible serológicamente del virus del mosaico de la sandía, este recientemente fue reclasificado como virus de la mancha anular del papayo variante sandía (VMAP-S) (Purcifull et al., 1984). Otra variante de este virus es el VMAP tipo T encontrada en la isla de Guadalupe, la cual no infecta al papayo (Quiot-Douine et al., 1986).

El virus induce típicamente dos tipos de inclusiones virales en sus hospedantes: inclusiones citoplásmicas cilíndricas e inclusiones amorfas. Las inclusiones cilíndricas son estriadas y forman agregados de estructura fibrosa claramente visibles en el microscopio de luz, las inclusiones amorfas son cuerpos densos (Purcifull et al., 1984).

Síntomas de la enfermedad.

Los síntomas que ocasiona en papayo son muy variados. En hojas se observa aclaramiento de nervaduras, moteados, mosaicos y en estados más severos deformación y agujeteado. En tallo y peciolo se observan manchas alargadas de aspecto aceitoso o húmedo. En frutos pequeños se presentan manchas anulares de color verde que al acercarse a la madurez se tornan grisáceas o de color beige. Las plantas afectadas manifiestan poco desarrollo y el número de frutos producidos es muy bajo y de tamaño reducido, además son más susceptibles a condiciones ambientales desfavorables, tales como frío o sequía.

Este virus ha ocasionado la disminución en el ciclo de cultivo normal del papayo (semiperenne), haciéndolo anual y cuando la infección ocurre en plantas chicas, la producción es muy baja o nula y es común que el productor abandone el cultivo (Téliz, 1990).

Métodos de control.

Las estrategias de control utilizadas hasta el momento incluyen varias prácticas culturales entre las que se encuentran: el manejo de fechas de siembra y densidades de plantación (Garza, 1978; Nieto, 1990), el uso de barreras biológicas, aceites minerales y trampas amarillas para interferir en la actividad del vector (Galindo et al., 1978; Becerra, 1988, 1991; Mosqueda et al., 1990). Así como el uso de material resistente, Conover (1976) y Conover et al., (1986) mediante un programa de mejoramiento en papayo obtuvieron el cultivar "Cariflora" altamente tolerante al VMAP. En Veracruz, México se probó este material, resultando tan susceptible como el material criollo que se cultiva en la región, lo cual sugiere la posible existencia de otras razas del VMAP diferentes a las de Florida, Las Antillas y Taiwan, lugares donde este material es tolerante (Becerra et al., 1989).

Estos métodos de control por sí solos no han tenido un efecto claro sobre el control de la enfermedad, pero en conjunto han logrado retrasar la aparición de la infección, logrando incrementar los niveles de producción (Becerra, 1991).

La protección cruzada es otra alternativa de control para esta enfermedad. Esta ocurre cuando una planta es inoculada por una variante atenuada de un virus y posteriormente por una variante agresiva del mismo, sin que los síntomas de la última aparezcan. Cada virus de este par es capaz de proteger una planta contra los efectos del otro, es decir, la variante A protege contra la variante B y viceversa. Al virus que se inócula primero se le llama protector y al segundo retador. Además este fenómeno es una característica de virus estrechamente relacionados (Ponz and Bruening, 1986).

El uso de la protección cruzada en el cultivo del papayo constituye un método muy atractivo, puesto que las medidas de control utilizadas hasta el momento han sido inefectivas o solo de beneficios marginales (Yeh y Gonsalves, 1984).

Este método está siendo utilizado con gran éxito en Hawaii a nivel comercial (Yeh et al., 1988), para implementarlo se buscó en forma natural variantes atenuadas a través de colectas de campo; dado que no se encontró en forma natural ninguna variante lo bastante atenuada, se formaron mutantes atenuadas. Savia cruda de calabaza infectada con PRV-P, se trató con ácido nítrico (pH 6.0) a 20/30°C y se inoculó a *Chenopodium quinoa*. De las lesiones locales desarrolladas se seleccionaron 2 mutantes, las cuales al inocularse en plántulas de papaya, permanecieron

con pocos síntomas o presentaron un moteado difuso, sin reducir el tamaño de la planta, estas mutantes se designaron como PRV HA 5-1 y PRV HA 6-1.

Al probarse en protección cruzada, se encontró que la efectividad de la misma fue afectada por el tiempo de la inoculación reto. Si la inoculación reto se realizó en menos de 18 días después de la inoculación protectora (HA 5-1 y HA 6-1), no se presentó la protección ó fue incompleta (retraso de síntomas severos). Si el intervalo de tiempo de la inoculación reto se incrementó a 26 días o más, se obtuvo protección completa. Así mismo se observó que inoculando sobre las hojas jóvenes no expandidas, no se obtuvo protección, mientras que cuando se inoculaba en hojas totalmente expandidas estas permanecían con síntomas suaves o asintomáticas durante 3 meses (Yeh y Gonsalves, 1984).

Se encontró que la mutante PRV HA 5-1 proporcionó protección cruzada completa contra variantes severas de PRV HA tanto en invernadero como en campo (Yeh y Gonsalves, 1984; Yeh et al., 1988).

En campo, en condiciones de alta temperatura, las plantas de papayo inoculadas con la mutante HA 5-1 crecieron bien y no mostraron síntomas conspicuos, sin embargo, cuando la temperatura bajo alrededor de 20°C y bajo condiciones de nublados y lluvia, aparecieron manchas cloróticas en hojas y pequeñas manchas anulares en los frutos. Cuando la temperatura subió a 25°C o más las hojas nuevas no presentaron las manchas cloróticas y las manchas en frutos fueron poco aparentes cuando estos maduraron (Yeh, 1990).

La variante atenuada se formó en Hawaii donde se tiene un alto grado de protección contra variantes severas (90-100%) (Yeh y Gonsalves, 1984). Sin embargo se observó una menor protección (50 - 70 %) cuando se utilizó para proteger contra variantes severas de Taiwan (Wang et al., 1987). En Thailandia, también se encontró una protección incompleta cuando se utilizó la variante PRV HA 5-1 contra variantes severas del país (Yeh, 1990).

En México Téliz et al. (1987) en el estado de Veracruz trabajaron con la variante atenuada PRV HA 5-1 en papayo tipo cera, inoculando plántulas de un mes de edad. Se encontró que las plantas protegidas superaron al testigo en todas las variables evaluadas aunque solo se encontró significancia estadística en los parámetros de producción por planta, diámetro de tallo, sólidos solubles y peso por fruto. Aún cuando se observaron síntomas claros de la enfermedad en las plantas protegidas, el índice de severidad fue menor en relación al testigo. El índice de severidad, la producción y la calidad de

los frutos sugirieron un éxito parcial de la protección cruzada, esto se atribuyó, a que la fluctuación térmica del estado de Veracruz pudo disminuir la capacidad de multiplicación y translocación de la variante atenuada erosionando su capacidad competitiva contra la fuerte y constante presión de inóculo de la variante veracruzana. Lo que sugirió la búsqueda de una variante atenuada procedente de un aislamiento mexicano, sin embargo, este trabajo se obstaculizó por la ausencia de un hospedante que reaccione con síntomas de lesiones locales, ya que a diferencia de los aislamientos de otros países, los de México no producen lesiones locales en *Chenopodium quinoa*.

Se observa entonces que la mutante del PRV HA 5-1 es eficiente para proteger plantas de papayo en Hawaii, no así en México, Taiwan y Thailandia en donde se presentó una protección cruzada incompleta o se produjo el rompimiento de la misma (Téliz et al., 1987; Wang et al., 1987; Yeh, 1990).

Protección cruzada

La primera descripción de la Protección Cruzada fue realizada por McKinney (1929) quien propuso el término de "Protección Cruzada"; observó que una variante del virus mosaico del tabaco (TMV) que inducía un mosaico verde, prevenía contra otra variante del TMV que inducía un mosaico amarillo. Thung (1931) repitió el experimento realizado por McKinney, no logrando aislar el segundo virus de la planta doblemente inoculada, por lo cual sugirió que no se multiplicó. Salaman (1933) encontró que plantas de tabaco infectadas con una variante atenuada del virus X de la papa (PVX) fueron inmunes a variantes más severas del virus X, pero no al virus Y de la papa (PVY) o al mosaico del tabaco (TMV). Kunkel (citado por Price, 1964) encontró una forma de cuantificar la protección cruzada, en base al número de lesiones locales producidas por el virus, usó como virus retador la variante Aucuba del TMV, la cual produce lesiones locales en *Nicotiana sylvestris* y observó que la protección fué confinada a las células invadidas por el primer virus.

Probables mecanismos de la Protección Cruzada.

Son numerosos los trabajos realizados en Protección Cruzada (Price, 1964; Matthews, 1970), en la mayoría de ellos se ha tratado de dilucidar el mecanismo por el cual funciona. Se han postulado varias hipótesis para explicar como el virus protector puede restringir la replicación o dispersión del virus retador. Algunas de las hipótesis propuestas por Matthews (1970) y por

Ponz y Bruening (1986) son:

a) La variante protectora consume o se apropia de algún material derivado del hospedero el cual es esencial para la variante retardadora.

b) La variante protectora produce una sustancia que interfiere con la replicación de la variante retardadora, (con su replicasa). Matthews (1970), menciona una variación a esta hipótesis; menciona que la planta infectada por un virus puede producir una sustancia protectora semejante a los anticuerpos en animales, sin embargo, aunque grandes moléculas pueden circular en las plantas esto no se compara con el sistema complejo de órganos y células involucradas en la producción de anticuerpos en animales por lo que esta teoría no tiene mucho peso.

c) La replicasa del virus retardador no es tan selectiva, de tal forma que se copia más frecuentemente el ácido nucleico del virus protector que el ácido nucleico del virus retardador. Una variación a este supuesto fué hecha por Gibbs (1969), quien sugiere que la replicasa del virus protector ligada al ARN del virus retardador forma un complejo no productivo.

d) Otra hipótesis plantea, que el ARN de la variante retardadora no puede iniciar eficientemente la infección ya que vuelve a encapsidarse en la cubierta excedente del virus protector o a causa de que el virion retardador no puede descubrirse en presencia de la cubierta proteica de la otra variante y por lo tanto no puede iniciar la infección. Esta hipótesis esta apoyada por De Zoeten y Fulton (1975) así como por Sherwood y Fulton (1982) y Dodds et al., (1985). Sin embargo, Zaitlin (1976), encontró evidencias contrarias a esta teoría al observar que mutantes de capsido del virus mosaico del tabaco (TMV) que no se ensambalan con el ARN protegen al tabaco en contra de la variante común.

e) Palukaitlis y Zaitlin (1984) plantean que las moléculas de ARN(+) del virus protector, se enlazan a las moléculas de ARN(-) del virus retardador y así evitan la transcripción del ARN(+) del virus retardador. Huss et al., (1989) en un trabajo realizado con variantes del virus de la hoja de abanico de la vid (GFLV) y del mosaico de arabis (ArMV) sobre protección cruzada concordaron con esta hipótesis.

f) Una última hipótesis menciona que el virus protector establece un mecanismo específico para dispersarse a través de la planta, de tal forma que cuando el virus retardador inicia su infección, todos los sitios de infección se encuentran ocupados por lo cual no puede establecerse y si lo hace, su dispersión es

lenta y solo en los sitios que no fueron ocupados por la primera variante. Esta hipótesis concuerda con los resultados de Dodds (1982) y Dodds et al., (1985) quienes demostraron que una variante del virus mosaico del pepino (CMV) retardadora fué capaz de incrementarse en plantas de tomate que fueron protegidas con otras variantes de CMV, pero solo en las hojas que no fueron inoculadas.

El concenso general indica que para estar inmune una célula debe ser completamente ocupada por el virus protector. Sin embargo, Shalla y Peterson (citados por Cadena, 1987) encontraron que existió protección en una planta de tabaco donde sólo el 20% de las células se encontraban infectadas por una variante atenuada del TMV, por lo cual concluyeron que el resto de las células estuvieron protegidas por una sustancia liberada por las células infectadas.

Dada la variabilidad observada en el fenómeno de protección cruzada y que este se ha presentado además en virus de ADN (CaMV) y en viroides "potato Spindle Tuber Viroid (Singh et al., 1990), implica que no todos los procesos utilizan el mismo mecanismo, por lo cual más de una de las hipótesis discutidas pueden explicarlo.

Aplicación de la protección cruzada.

La primera aplicación en la agricultura a nivel comercial de la protección cruzada, se realizó con la mutante atenuada del TMV M II-16, la cual no produce síntomas en tomate. Esta mutante protegió el cultivo de tomate contra variantes severas de TMV tanto en invernadero como en campo con gran éxito, por lo cual fué utilizada en una alta proporción por varios países, logrando mejorar significativamente sus niveles de producción (Rast, 1972; Fletcher, 1978).

La enfermedad Tristeza de los Cítricos es otro ejemplo claro del uso de la protección cruzada. Esta enfermedad es causada por el virus tristeza de los cítricos (VTC). El hecho de no tener material resistente a este virus y de no contar con métodos efectivos de protección sugirieron la utilización de la protección cruzada. En Brasil fué implementado un programa de protección cruzada al probar la eficacia de 6 variantes atenuadas de las cuales tres protegieron al naranjo dulce, dos al limón Galego y una a la toronja Rubi Red. En 1980, existían ocho millones de plantas de cítricos protegidas contra el VTC por variantes atenuadas. Este método se ha utilizado también en Florida, Australia, India, Israel, Japón, Sudamérica y Sudafrica para controlar esta enfermedad (Costa y Muller, 1980; Cadena, 1987; Gonsalves y Garnsey, 1989; Van Vuuren et al., 1993).

Otras enfermedades en donde se ha evaluado la protección cruzada son: el Virus del Encorramiento del Maracuya, Virus del Brote Hinchado del Cacao, Virus del Mosaico del Durazno (Fletcher, 1978; Fulton, 1986), en Vid para el Virus de la Hoja de Abanico (GFLV y ARMV) (Huss et al., 1988). En cultivos anuales como Chile se ha utilizado la protección cruzada para el Virus Mosaico del Chile (PepMV) en condiciones de invernadero con buen éxito (Tanzi et al., 1988); en tomate contra el Virus Mosaico del Pepino (CMV) utilizando una variante asintomática la cual porta un ARN satélite obteniéndose una protección del 95% en condiciones de campo (Gallitelli et al., 1991; Montasser et al., 1991); en cucurbitáceas (calabaza, melón y pepino) para el Virus Mosaico Amarillo de la Calabaza (ZYMV) utilizando una variante atenuada la cual produce un moteado foliar ligero pero sin síntomas en frutos y produce un alto grado de protección en invernadero y campo (Wang et al., 1991; Lecoq et al., 1991).

Limitaciones en el uso de la Protección Cruzada.

Se menciona que la protección cruzada no es un buen método de control debido a que se presentan algunos inconvenientes, Fulton (1986) comenta los siguientes:

- El virus protector puede perder efectividad, resultando en algunos casos, una protección cruzada incompleta, esto, debido a que las variantes obtenidas bajo ciertas condiciones no tienen el comportamiento esperado en el campo.

- La variante protectora puede dispersarse a otros hospederos, en los que su efecto atenuado puede ser severo. Este factor debe ser considerado principalmente cuando se usan patógenos con amplio número de hospedantes.

- Puede presentarse una reacción sinérgica con un segundo virus no emparentado. Russell (citado por Fulton, 1986) encontró que las hojas de remolacha infectadas con virus son más susceptibles que hojas normales a ciertas enfermedades fungosas. Otro caso que se comenta es con respecto al virus Y de la papa (PVY), el cual en combinación con una variante asintomática de PVX ocasiona una enfermedad más severa.

- El virus protector puede mutar a formas más severas y causar una enfermedad destructiva.

- Otro aspecto es la dificultad y el costo para inocular el cultivo a ser protegido, sin embargo esto puede ser salvado (Rast, 1972; Costa y Muller, 1980; Yeh et al., 1988; Lecoq y Lemaire, 1991).

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó la especie *Carica papaya* cv. Cera y dos aislamientos del VMAP procedentes de Veracruz: la cepa atenuada Mex 17 y una mezcla de cepas agresivas colectadas en huertos de papayo, a la cual se le llamó Mex 1. El experimento se realizó en el invernadero de virus del Colegio de Postgraduados el cual se encuentra en la Universidad Autónoma de Chapingo y en una cámara bioclimática con temperaturas durante el día de 33°C y 18°C durante la noche, con un fotoperíodo de 12 horas, ubicada en Chapingo, en el Centro de Botánica.

Las semillas de papayo cv. Cera se obtuvieron del Campo Agrícola Experimental Cotaxtla perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). Se remojaron en agua corriente y posteriormente se frotaron para eliminar la sarcotesta, después se secaron a temperatura ambiente. Las semillas se trataron con Captan 50 PH durante 5 minutos y se sembraron en bolsas de polietileno negro con una capacidad de 1 kg de sustrato, a 1 cm de profundidad, sembrándose tres semillas por maceta. Se utilizó como sustrato tierra de monte + agrolita estéril en relación 3:1, la semilla se inoculó con la endomicorriza V-A *Glomus* sp. Zac 19, usando 10 g por maceta, la cual fué proporcionada por el Dr. Ronald Ferrera-Cerrato del Laboratorio de Microbiología del Colegio de Postgraduados. Esta inoculación se realizó para vigorizar el desarrollo de las plantas (Sánchez et al., 1993).

Las plantas se regaron cada tercer día y se fertilizaron cada dos semanas con una solución nutritiva compuesta por N:P:K (250:250:250 g diluidos en 20 l de agua) utilizando como fuente Urea, Super fosfato de calcio simple y Sulfato de amonio. Se realizaron las aplicaciones necesarias de insecticidas (Malathion, Folimat y Talstar), para el control de plagas (araña roja *Tetranychus* spp. y Trips *Frankliniella occidentalis* principalmente).

La cepa atenuada Mex 17 fué inoculada en 72 plantas de papayo y con Mex 1 (cepa agresiva) se inocularon 36 plantas. Las plántulas fueron inoculadas cuando tenían 3 a 4 hojas trilobuladas. El inóculo se extrajo de plantas de calabaza (*Cucurbita pepo* var. Grey zucchini) infectadas por separado con ambas cepas del VMAP. El tejido se maceró en solución amortiguadora de fosfatos de potasio 0.02 M y pH 7 en proporción 1:2 (p/v), inoculándose mediante frotado de savia en todas las hojas expandidas, previamente espolvoreadas con carborundum 600 mallas (técnica de frotis). Las plantas testigo se inocularon con agua.

La siembra del papayo se realizó en el invernadero de virus y ahí permanecieron las plantas hasta que se realizó la segunda inoculación (inoculación retardadora), después de esta inoculación las plantas se transfirieron a la cámara bioclimática hasta el final del experimento.

Para verificar la presencia del VMAP en las plantas inoculadas, estas se evaluaron entre los 20 a 25 días posteriores a la inoculación mediante la técnica serológica ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay); siguiendo el método descrito por Téliz y Mora (1986).

De las plantas de papayo inoculadas con el VMAP atenuado y agresivo se tomaron 2 cm de tejido foliar de hojas nuevas como muestra para probar en ELISA. Cada muestra se distribuyó en los pozos de la placa ELISA considerando una repetición para cada una y se incluyeron extractos de savia de plantas de papayo sanas como testigo negativo, extractos de plantas de papayo infectadas previamente de forma mecánica en invernadero con síntomas aparentes, como testigo positivo así como muestras con solución buffer como blancos para calibrar el espectrofotómetro.

Los pozos positivos se detectaron por apreciación visual (cambios de color en los pozos) y por lecturas en el espectrofotómetro a 450 nm de intensidad.

Tratamientos

Las plantas inoculadas con Mex 17 se dividieron en dos lotes de 9 plantas cada uno, de acuerdo a los resultados positivos en ELISA, uno se mantuvo solo con la cepa atenuada Mex 17 y las del segundo lote se retaron con la cepa agresiva Mex 1 (doble inoculación), así mismo se inoculó un lote de 9 plantas con la cepa agresiva Mex 1 en este segundo tiempo de inoculación. Formandose los siguientes tratamientos:

Tratamientos

	1a. Inoculación	2a. inoculación 25 DDPI*
Papaya cv. cera	1) Mex 1	
	2) Mex 17	
	3) Mex 17	--- Mex 1
	4)	--- Mex 1
	5) Testigo (Plantas sanas)	

* 25 DDPI.- 25 días después de la primera inoculación
Parámetros de evaluación.

Parámetros de evaluación

Para determinar el nivel de protección de la cepa Mex 17 contra la cepa agresiva del VMAP, se analizaron las siguientes variables:

a) **Altura de planta.**- Se tomó desde el suelo hasta la base de la hoja más alta.

b) **Diamétero del tallo.**- La lectura se tomó a partir de los 5 cm de la base del tallo, utilizando un vernier.

c) **Número de hojas.** Se contó el número de hojas que presentaba la planta al momento de la lectura.

d) **Tipo y severidad de síntomas.**- El tipo de síntomas se registró mediante observaciones y la severidad se determinó mediante la siguiente escala:

NIVEL	DESCRIPCION
1	Planta sana
2	Aclareamiento de nervaduras y/o manchas aceitosas en tallo.
3	Mosaico intervenal; Aclareamiento fuerte de nervaduras; deformación en 1 ó 2 hojas.
4	Mosaico intervenal severo; deformación y/o reducción en más de 2 hojas.
5	Reducción y/o deformación de hojas nuevas; mosaico severo en la mayoría de las hojas y poco vigor de la planta.

Así mismo se determinaron índices de severidad para cada tratamiento mediante la siguiente expresión:

$$I_s = \frac{\sum X_i N_i}{\sum X_i}$$
$$I_s = (X_1 N_1 + X_2 N_2 + \dots + X_n N_n) / X_1 + X_2 + \dots + X_n$$

Donde:

I_s = Índice de severidad.

N_i = Nivel de daño i .

X_i = Número de plantas con el nivel i de daño.

e) **Inclusiones celulares.**- Para la observación de inclusiones se utilizó la especie **Cucurbita pepo** var. **Grey Zucchini**, hospedante sistémico del virus y **Carica papaya** L. y se realizó mediante el método descrito por Cárdenas (1986). Las plantas de calabaza se inocularon en etapa cotiledonaria con las dos cepas del VMAP (Méx 17 y Méx 1) mediante la técnica de frotis.

Se realizaron desprendimientos de epidermis del envés de las hojas de calabaza con pinzas de punta fina, se tñieron con el colorante azul de bromofenol y con rodamina verde de metilo durante 15 minutos, enjuagándose con agua corriente y agua destilada respectivamente, se montaron entre porta y cubreobjetos con unas gotas de glicerina, se observaron al microscopio de luz con el objetivo de inmersión (100x). Se examinaron muestras cada tercer día para observar el desarrollo de las inclusiones y se registró la frecuencia de aparición dentro de las células. Se trataron de detectar las posibles diferencias entre las inclusiones formadas por las cepas utilizadas. En papayo dado que no se desprende fácilmente la epidermis, se tomaron porciones de hoja y se frotó con una lija de agua, tñiéndose y montándose de la forma antes descrita, las observaciones se realizaron después de la segunda inoculación (inoculación retardadora).

f) **Tasa de fotosíntesis aparente (Fs), tasa de respiración (Rs), tasa de transpiración (Ts), conductancia estomática (CE).**- Estas variables se midieron utilizando un sistema de fotosíntesis portátil "IRGA" analizador de rayos al infrarojo, modelo LI-6200 (LI-COR, Inc). Las plantas se sacaron de la cámara bioclimática 2 hrs antes de realizar las mediciones con el propósito de que estas se aclimataran al medio exterior y esto no afectara sobre los datos a obtener. Se midió sobre una superficie x de 12 cm de las hojas de papayo. La fotosíntesis se cuantificó en consumo de $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ bajo condiciones de luz de sol. La respiración se cuantificó en $\text{ug CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ producido en condiciones de obscuridad. La transpiración se cuantificó en $\text{mg H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Posteriormente se estimaron los promedios por planta mediante las siguientes expresiones (Gonzalez, 1994):

$$Fs/\text{planta } \text{ug CO}_2 \text{ s}^{-1} = Fs (\text{ug CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}) \times \text{Area Foliar (m}^2\text{)}.$$

$$Rs/\text{planta } \text{ug CO}_2 \text{ s}^{-1} = Rs (\text{ug CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}) \times \text{Area Foliar (m}^2\text{)}.$$

$$Ts/\text{planta } \text{mg H}_2\text{O s}^{-1} = Ts (\text{mg H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}) \times \text{Area Foliar (m}^2\text{)}.$$

g) **Eficiencia en el uso del agua (EUA).** Se determinó mediante la siguiente expresión:

$$EUA = F_s/T_s \text{ ug CO}_2 / \text{mg H}_2\text{O}.$$

h) **Area foliar.** Se cuantificó el área foliar total para cada repetición, utilizando un integrador de área foliar modelo LI 3100 (LI-COR, Inc) registrándose en cm^2 .

i) **Contenido de clorofila.**- Para extraer las clorofilas se realizó el método propuesto por Sestak et al., (1971):

i) Se tomaron muestras de cada tratamiento consistentes de tejido foliar, muestreando las hojas de plantas con síntomas característicos.

ii) Para cada tratamiento se pesaron 4 g de la muestra previamente cortada en trozos pequeños.

iii) Se colocaron en un vaso de precipitados con acetona al 80% como extrayente, dejándose reposar por un período de 24 a 48 horas a baja temperatura (4°C) y en condiciones de obscuridad.

iv) Después de este tiempo se transfirió a un mortero y se trituró cada muestra lavando con acetona al 80 %, esto se realizó en condiciones de obscuridad. Se filtró añadiendo carbonato de sodio anhidro y se aforó a 50 ml con acetona al 80%

v) Se tomaron alícuotas de 2 ml para tomar lecturas en el espectrofotómetro a tres diferentes longitudes de onda: 663, 652 y 645 nm.

Para obtener la concentración de clorofilas se utilizó la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} \text{Clorofila}_a &= 12.7 A_{663} - 2.59 A_{645} && (\text{mg/ml}) \\ \text{Clorofila}_b &= 22.9 A_{645} - 4.68 A_{663} && (\text{mg/ml}) \\ \text{clorofila total}_{a+b} &= 20.2 A_{645} + 8.2 A_{663} && (\text{mg/ml}) \end{aligned}$$

Donde:

A = Absorbancia y los subíndices indican la longitud de onda.

Después se transformó de mg/ml a mg/g de hoja mediante la siguiente fórmula (Saucedo, 1989):

$$\text{Concentración mg/g de hoja} = \frac{C \times V}{1\ 000} \times \frac{1}{P}$$

Donde:

C = Concentración en mg/ml
V = Volúmen aforado (ml) - 50 ml
P = Peso de muestra (g) - 4 g
1 000 = Factor de conversión

j) **Peso seco del follaje.**- Al finalizar el experimento las plantas se colocaron en bolsas de papel, etiquetadas y se secaron en estufa a una temperatura de 60°C durante 3 días, una vez secas se tomó el peso de la parte aérea (hojas y tallo).

k) **Peso seco y volumen radical.**- Para obtener el volumen radical, se utilizó una probeta graduada de 100 ml, la cual se llenó con agua, se sumergió la raíz y se registró el volumen desplazado de agua. Posteriormente se pusieron a secar las raíces registrando su peso seco.

Las mediciones de altura, diámetro del tallo, número de hojas y tipo y severidad de síntomas se hicieron cada 15 días a partir de que se observaron los primeros síntomas en las plantas hasta finalizar el experimento. Las tasas de fotosíntesis aparente, respiración, transpiración, conductancia estomática y eficiencia en el uso del agua se tomaron dos veces antes de terminar el experimento. El índice de área foliar, peso seco de la parte aérea, peso seco y volumen radical así como cuantificación de clorofilas, se realizaron al final del experimento.

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un diseño completamente al azar adecuado para trabajos en invernadero considerando 9 repeticiones (1 planta = 1 repetición) por tratamiento. Se realizó la prueba de medias Tukey con una α de 0.05 de probabilidad para las variables de altura de planta, diámetro del tallo, número de hojas, área foliar, contenido de clorofilas, peso seco de follaje y peso seco y volumen radical. Para las variables tasa de fotosíntesis, tasa de respiración, tasa de transpiración, conductancia estomática y eficiencia en el uso del agua se utilizó la prueba de Duncan con una probabilidad de 0.05 %.

RESULTADOS Y DISCUSION

ELISA

Las inoculaciones realizadas con la cepa Mex 1 (agresiva) y Mex 17 (atenuada), presentaron diferentes porcentajes de infección. Se probaron por serología ELISA 60 plantas inoculadas con la cepa Mex 17 y de ellas solo 20 resultaron positivas; con la cepa Mex 1 se probaron 30, siendo positivas 26 plantas.

Los porcentajes de transmisión mecánica fueron para Mex 17 (atenuada) de 33.33% y para Mex 1 (agresiva) de 86.66%, observándose un alto porcentaje de transmisión mecánica en esta última variante, sobre plantas de papayo que fueron inoculadas bajo las mismas condiciones.

Para realizar el experimento se usaron solo aquellas plantas inoculadas con Mex 17 que resultaron positivas en ELISA, por lo cual se usaron solo 9 repeticiones por tratamiento.

Altura de planta

Las diferencias en altura de planta fueron altamente significativas entre los tratamientos.

Los tratamientos inoculados con la cepa severa Mex 1 y el tratamiento protegido, estadísticamente fueron iguales. Sin embargo el tratamiento protegido presentó la menor altura de planta con respecto a los demás. El tratamiento con mayor altura de planta fué el testigo (plantas sanas) (40.43 cm) siguiéndole el inoculado con Mex 17 (37.19 cm), los tratamientos inoculados con la cepa agresiva presentaron una reducción del 14.49 % con respecto al testigo y el tratamiento protegido redujó su crecimiento en un 21.37 % (Cuadro 1). Esta reducción, mucho más marcada del tratamiento protegido en comparación a los tratamientos que tenían solo a la cepa agresiva, pudo deberse al efecto de la doble inoculación, puesto que debió presentarse un daño fisiológico mayor en la planta.

Cuadro 1. Altura de planta (cm) en plantas de papayo inoculadas con los aislamientos del VMAP Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un tratamiento Testigo (plantas sanas) para medir la posible protección cruzada. Montecillo, México. 1994.

TRATAMIENTO	DIAS DESPUES DE LA INOCULACION RETO				
	3	18	36	56	78
Mex 1	17.49 a	20.99 a	27.89 a	32.57 b	34.04 bc
Mex 17	16.12 a	19.50 a	27.19 a	34.86 ab	37.19 ab
Mex 17-Mex 1	15.80 a	18.39 a	26.17 a	29.71 b	31.79 c
-Mex 1	18.90 a	21.01 a	26.82 a	33.91 b	34.57 bc
Testigo	16.94 a	20.84 a	28.77 a	38.10 a	40.43 a
Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Tukey alfa = 0.05.					

Diamétero de tallo

En cuanto a este parámetro, durante el transcurso del tiempo del experimento, siempre existieron diferencias entre los tratamientos (Cuadro 2). El tratamiento testigo (plantas sanas) fue siempre superior a los demás tratamientos y al final presentó el mayor grosor de tallo (8.90 mm); el tratamiento con la cepa atenuada Mex 17 aunque fue mayor que los severos y el protegido estadísticamente fue igual a estos últimos.

Las plantas que fueron protegidas con la cepa atenuada y retadas con la cepa agresiva no desarrollaron un engrosamiento mayor en el tallo que las plantas inoculadas con la cepa agresiva Mex 1 (6.47 y 6.40 respectivamente) y estadísticamente fueron similares (Cuadro 2),

El diámetro del tallo es un factor del rendimiento que influye notablemente sobre la producción del papayo (Mederos, *et al*, 1985); la infección por el VMAP tiende a disminuir este parámetro en plantas infectadas y por lo tanto los niveles de

producción son menores. En el tratamiento con la cepa atenuada (Mex 17) que no presenta síntomas o son muy ligeros también se observó reducción en el tallo, por lo cual es posible pensar en que también se reducirán sus rendimientos comparándolo con una planta sana, y para el tratamiento protegido esta reducción es mucho mayor.

Cuadro 2. Diámetro de tallo (mm), en plantas de papayo inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un tratamiento testigo (plantas sanas) para medir la posible protección cruzada. Montecillo, México. 1994

TRATAMIENTO	DIAS DESPUES DE LA INOCULACION RETO				
	3	18	36	56	78
Mex 1	3.16 ab	4.32 a	5.39 b	6.44 b	6.40 b
Mex 17	2.92 b	4.02 a	5.61 ab	7.01 b	7.24 b
Mex 17-Mex 1	3.00 b	3.99 a	5.63 ab	6.59 b	6.47 b
-Mex 1	3.73 a	4.62 a	5.34 b	6.71 b	6.71 b
Testigo	3.43 ab	4.74 a	6.49 a	8.48 a	8.90 a

Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Tukey alfa = 0.05.

Número de hojas

Las diferencias en cuanto a número de hojas entre los tratamientos fueron significativas. El tratamiento testigo fue similar al atenuado y al severo en el segundo tiempo de inoculación, aunque presentó el mayor número de hojas (6 Hojas) al final del experimento (Cuadro 3).

Se observó que en las plantas infectadas con virus (atenuado o severo) hubo una tendencia a perder más hojas que en una planta sana, por lo cual se evidencia que el virus está afectando las

funciones fisiológicas y biológicas de la planta y por tanto su expresión morfológica. En el tratamiento protegido se observó el menor número de hojas (4.56), comportándose igual que el tratamiento con la cepa agresiva (4.56) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Número de hojas en plantas de papayo inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un tratamiento Testigo (plantas sanas) para medir la posible protección cruzada. Montecillo, México. 1994

TRATAMIENTO	DIAS DESPUES DE LA INOCULACION RETO				
	3	18	36	56	78
Mex 1	7.56 a	7.56 a	9.67 a	6.33 ab	4.56 b
Mex 17	7.56 a	7.67 a	10.0 a	6.56 ab	5.0 ab
Mex 17-Mex 1	7.11 a	6.67 ab	9.33 ab	6.44 ab	4.56 b
-Mex 1	9.11 a	5.33 b	7.56 b	5.44 b	5.00 ab
Testigo	7.67 a	7.22 ab	9.00 ab	7.44 a	6.00 a
Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Tukey alfa = 0.05.					

Severidad de síntomas

En el tratamiento inoculado con la cepa severa Mex 1, los síntomas se hicieron evidentes a los 18 días después de la inoculación y durante todo el experimento se presentaron síntomas severos. En el tratamiento protegido (Mex 17-Mex1), los síntomas se observaron después de 40 - 50 días de la inoculación protectora (Cuadro 4).

En el tratamiento inoculado con la variante severa al tiempo de la inoculación reto, los primeros síntomas se presentaron después de los 18 días pero estos fueron de poca severidad, presentándose síntomas muy severos después de los 50 días (Fig. 1).

El índice de severidad calculado en el tratamiento protegido fue menor con respecto a los tratamientos con la variante severa en un promedio de 0.63. Con los índices de severidad obtenidos para cada tratamiento se observó que en el tratamiento protegido (Mex 17 - Mex 1), la protección no se presentó o fué incompleta, puesto que aunque las plantas tuvieron un índice de severidad menor al de los tratamientos con la cepa severa Mex 1, estuvo muy por encima del tratamiento con la cepa atenuada Mex 17, el cual mostró síntomas ligeros solo al final del experimento (Fig. 1).

Cuadro 4. Índice de Severidad (Ø) observado en plantas de papayo inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 y un grupo testigo (plantas sanas) en condiciones de Invernadero. Montecillo, México. 1994.

DIAS DESPUES DE LA INOCULACION RETADORA	TRATAMIENTO				
	MEX 1	MEX 17	MEX17-MEX1	-MEX1	TESTIGO
3	2.11	1.11	1.11	1.0	1.0
18	3.44	1.11	1.11	1.88	1.0
36	3.33	1.11	1.44	1.88	1.0
56	3.44	2.0	3.11	3.11	1.0
78	4.22	2.0	3.67	4.38	1.0

(Ø) Escala de severidad.

- 1) Planta sana.
- 2) Aclaramiento de nervaduras y/o manchas aceitosas.
- 3) Mosaico, deformación en 1 ó 2 hojas.
- 4) Mosaico severo, deformación y/o reducción en más de 2 hojas.
- 5) Mosaico muy severo, deformación de hojas nuevas y poco vigor de planta.

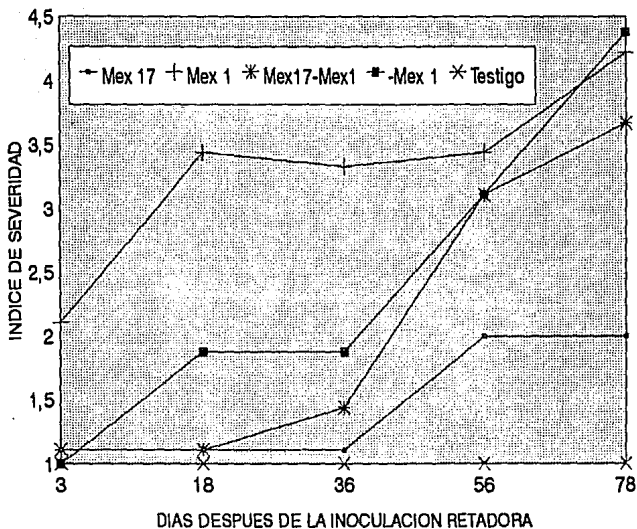


FIGURA 1.- Índice de severidad observado en papayo inoculado con los aislamientos del VMAP Mex 17 (atenuado), Mex 1 (agresivo), Mex 17-Mex 1 (protegido) y un grupo testigo (plantas sanas). Montecillo, Méx. 1994.

Las plantas se mantuvieron en el invernadero desde la germinación hasta que se realizó la segunda inoculación, trasladándose posteriormente a una cámara bioclimática. Las condiciones prevalecientes en este invernadero influyeron notablemente sobre la expresión de los síntomas, ya que, cuando la temperatura aumentaba los síntomas se expresaban más rápido y más severos que bajo condiciones más frías, bajo las cuales los síntomas se atenúan. Al pasar las plantas a la cámara bioclimática se controló esta variable puesto que la cámara mantuvo una temperatura de 33°C durante el día y 18°C durante la noche.

Inclusiones celulares

Después de 12 días de haber infectado calabaza, se encontraron inclusiones celulares fibrosas en material inoculado con VMAP Mex 1. En plantas inoculadas con VMAP Mex 17 no se encontraron inclusiones en el mismo periodo de evaluación. A los 14 días después de la infección el número de inclusiones encontradas en material con Mex 1 fue mayor y además se observaron inclusiones fibrosas vacuoladas, en Mex 17 aparecieron inclusiones fibrosas. A los 18 días después de la inoculación eran más abundantes las inclusiones, tanto las inducidas por la cepa Mex 1 como por la Mex 17, observándose mayor abundancia en las inducidas por el material agresivo (Mex 1). A partir de esta fecha se observaron inclusiones irregulares en material con Mex 1, las cuales fueron más abundantes en días posteriores (Cuadro 5. Fig 2)).

En las plantas de calabaza inoculadas con Mex 17 no aparecieron inclusiones irregulares para ninguna fecha de muestreo y esto resultados coinciden con Cárdenas (1992) quien reporta que esta cepa no induce inclusiones irregulares.

En plantas de papayo infectadas y con síntomas no se observaron inclusiones celulares, para ninguna de las dos cepas y en ninguna fecha de muestreo, aun cuando se procedió correctamente en la tinción del material y en el raspado de las hojas para tener una mayor superficie de observación, por lo cual, aunque se conocía que una cepa inducía un tipo de inclusiones diferenciable a la otra, no se pudo constatar por medio de las inclusiones celulares si se presentó el fenómeno de protección cruzada.

CUADRO 5.- Desarrollo de Inclusiones Celulares del VMAP Mex 17 (atenuado) y Mex 1 (agresivo) inoculados en Cucurbita pepo Grey Zucchini. Montecillo, México. 1994.

Días después de la Inoculación	MEX 17		MEX 1	
	Tipo	Número	Tipo	Número
12	-	-	IF	3
14	IF	2	IF IFV	12 8
16	IF	11	IF IFV	11 8
18	IF	24	IF II	36 4
20	IF	18	IF II	30 14
24	IF	22	IF II	33 11

IF Inclusión Fibrosa
 IFV Inclusión Fibrosa Vacuolada
 II Inclusión Irregular

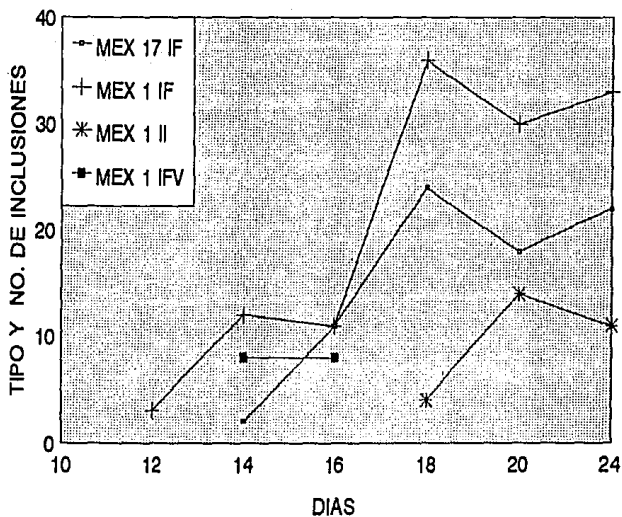


Fig. 2. Dinámica de inclusiones celulares del VMAP Mex 17 (atenuado) y Méx 1 (agresiva) en plantas de calabaza Cucurbita pepo Grey Zucchini. Montecillo, México.

Tasa de fotosíntesis aparente

En la primera evaluación realizada, 66 días después de la inoculación retardadora, no se presentaron diferencias entre los tratamientos sobre la fotosíntesis, sin embargo, se observó que en plantas sanas y con la variante atenuada Mex 17 la actividad fotosintética fue mayor en comparación a los otros tratamientos (Cuadro 6). Aunque no se encontraron diferencias entre los tratamientos por efecto del VMAP, en otro estudio se ha reportado una disminución del 57 % en la fotosíntesis de hojas de papayo cv. Kapoho infectadas con PRV comparándolas con hojas sanas (Marler, et al., 1993). En una segunda evaluación (77 días después de la inoculación retardadora) se presentaron diferencias entre los tratamientos; el tratamiento inoculado con Mex 1 presentó la mayor actividad fotosintética (2.57 unidades), aunque el tratamiento inoculado con Mex 1 al momento de la inoculación retardadora presentó la menor tasa fotosintética (0.64 unidades), las plantas sanas (testigo) y las inoculadas con la variante atenuada Mex 17 presentaron también un nivel alto de actividad fotosintética siendo distintas estadísticamente al tratamiento protegido (Mex 17-Mex 1) y al tratamiento con Mex 1 (Cuadro 7).

En el estudio realizado por Marler et al., (1993) encontraron que la capacidad fotosintética en plantas de papayo infectadas con VMAP depende de los síntomas que se presenten; al medir el flujo de CO₂ en áreas asintomáticas en hojas de plantas infectadas con el virus no encontraron diferencias con respecto a hojas sanas, concluyeron que la fotosíntesis total del dosel de plantas infectadas con el virus va a depender del porcentaje de hojas con síntomas y la severidad de estos. En otro estudio realizado por Téliz et al., (1991b) reportaron también diferencias en la fotosíntesis de hojas con distintos tipos de síntomas (mosaico, amarillamiento, mano de chango) con respecto a hojas sanas.

En este trabajo aunque se tuvieron plantas con síntomas de mosaico severo no se encontraron diferencias en fotosíntesis, sin embargo, aun cuando no se encontraron diferencias en fotosíntesis medida en una superficie de hoja de papayo, el virus sí afectó el área foliar de las plantas, por lo cual, la tasa de fotosíntesis total estimada de la planta disminuyó observándose diferencias significativas entre los tratamientos (Fig. 3 y 4). El tratamiento protegido presentó la menor tasa de fotosíntesis total en la planta disminuyendo esta en un 66.91 % con respecto al testigo (sano), y el tratamiento con la cepa Mex 1 disminuyó su tasa fotosintética en un 63.15 %, siendo estadísticamente iguales ambos tratamientos (Cuadro 8).

Cuadro 6.- Tasa de fotosíntesis aparente (Fs), tasa de respiración (Rs), tasa de transpiración (Ts), conductancia estomática (C.E.) y eficiencia en el uso del agua (EUA) en una hoja de plantas de *Carica papaya* inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas) en condiciones de Invernadero a los 62 días después de la inoculación retardadora. Montecillo, México. 1994.

TRATAMIENTO	Fs $\frac{\mu\text{gCO}_2}{\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}}$	Rs $\frac{\mu\text{g}_2\text{CO}_2}{\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}}$	Ts $\frac{\text{mg}_2\text{H}_2\text{O}}{\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}}$	C.E. $\frac{\mu\text{CO}_2}{\text{m}^{-2}}$	EUA $\frac{\mu\text{gCO}_2/\text{mg H}_2\text{O}}$
Mex 1	4.126 a	2.132 a	12.470 a	2.363 a	0.332 b
Mex 17	4.577 a	2.272 a	6.940 bc	0.733 bc	0.695 ab
Mex 17-Mex1	4.013 a	1.806 a	8.154 b	1.133 b	0.523 ab
-Mex1	4.177 a	2.256 a	7.516 b	0.842 bc	0.553 ab
Testigo	4.293 a	1.517 a	4.914 c	0.489 c	0.892 a

Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Duncan alfa = 0.05.

Cuadro 7.- Tasa de fotosíntesis aparente (Fs), tasa de respiración (Rs), tasa de transpiración (Ts), conductancia estomática (C.E.) y eficiencia en el uso del agua (EUA) en una hoja de plantas de *Carica papaya* inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas), en condiciones de Invernadero a los 77 días después de la inoculación retardadora. Montecillo, México. 1994.

TRATAMIENTO	Fs $\frac{\mu\text{gCO}_2}{\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}}$	Rs $\frac{\mu\text{g}_2\text{CO}_2}{\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}}$	Ts $\frac{\text{mg}_2\text{H}_2\text{O}}{\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}}$	C.E. $\frac{\mu\text{CO}_2}{\text{m}^{-2}}$	EUA $\frac{\mu\text{gCO}_2/\text{mg H}_2\text{O}}$
Mex 1	2.57 a	2.003 a	4.957 a	0.222 a	0.523 bc
Mex 17	1.768 ab	1.123 b	2.288 b	0.108 b	0.774 ab
Mex 17-Mex1	1.500 bc	1.514 ab	2.568 b	0.112 b	0.613abc
-Mex1	0.644 c	1.219 ab	1.469 b	0.06 b	0.424 c
Testigo	1.714 ab	0.998 b	1.910 b	0.091 b	0.877 a

Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Duncan alfa = 0.05.

Marler et al., (1993) trabajaron sobre el efecto del VMAP en fotosíntesis en papayo y encontraron que esta decreció en un 57 % en hojas infectadas con respecto a hojas sanas y además se observó que la capacidad fotosintética depende directamente de los síntomas que se presenten, ellos encontraron que la medición del flujo de CO₂ en áreas asintomáticas en hojas de plantas infectadas con PRV no fueron diferentes a las plantas sanas y por tanto la fotosíntesis de todo el follaje de plantas infectadas con PRV depende del porcentaje de hojas con síntomas y la severidad de estos.

Tasa de respiración

Para la primera evaluación realizada no se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos, aun cuando hubo una tendencia a incrementar la tasa de respiración en los tratamientos inoculados con el VMAP agresivo y/o atenuado en comparación a plantas sanas (testigo) (Cuadro 6). En la segunda evaluación se observaron diferencias entre los tratamientos, encontrándose la mayor actividad respiratoria en el tratamiento inoculado con Mex 1, mientras que los tratamientos con Mex 17 y -Mex 1 disminuyeron su actividad respiratoria (la cual fué mayor en la primera evaluación), el tratamiento protegido mantuvo su respiración en niveles normales durante la primera evaluación, sin embargo para la segunda evaluación se notó un incremento de esta con respecto a las plantas sanas (Cuadros 6 y 7).

Las plantas enfermas por la infección del VMAP tendieron a incrementar su tasa de respiración respecto a las plantas sanas, pero después, esta disminuyó manteniéndose en niveles normales, lo cual es una característica que puede ocurrir cuando un patógeno afecta la respiración (Agrios, 1985).

El tratamiento inoculado con Mex 1, el cual presentó una tasa de respiración alta en la primera evaluación, para la segunda evaluación no disminuyó su tasa de respiración como se observó en los otros tratamientos y esto pudo deberse al mayor daño fisiológico que indujo el virus en las plantas.

Marler et al., (1993) encontraron también que la respiración en las hojas de papayo se incrementó por la infección del VMAP hasta 1.6 veces más que en plantas sanas. En este estudio se incrementó la respiración 1.4 veces más que en plantas sanas.

Cuadro 8.- Tasa de fotosíntesis aparente, tasa de respiración y tasa de transpiración estimada por planta en **Carica papaya** inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17 - Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas) en condiciones de Invernadero a los 62 DDI retardora. Montecillo, México. 1994.

TRATAMIENTO	FOTOSÍNTESIS ug CO ₂ s ⁻¹	RESPIRACION ug CO ₂ s ⁻¹	TRANSPIRACION mg H ₂ O s ⁻¹
Mex 1	0.0661 c	0.0342 b	0.1998 a
Mex 17	0.124 b	0.0616 a	0.1881 a
Mex 17-Mex 1	0.0593 c	0.0267 b	0.1206 b
-Mex 1	0.0671 c	0.0362 b	0.1207 b
Testigo	0.1794 a	0.0634 b	0.2054 a

Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Duncan alfa = 0.05.

Cuadro 9.- Tasa de fotosíntesis aparente, tasa de respiración y tasa de transpiración estimada por planta en **Carica papaya** inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17 - Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas) en condiciones de Invernadero a los 77 DDI retardora. Montecillo, México. 1994.

TRATAMIENTO	FOTOSÍNTESIS ug CO ₂ s ⁻¹	RESPIRACION ug CO ₂ s ⁻¹	TRANSPIRACION mg H ₂ O s ⁻¹
Mex 1	0.0412 abc	0.0321 ab	0.0794 a
Mex 17	0.0479 ab	0.0304 ab	0.062 ab
Mex 17-Mex 1	0.0222 bc	0.0224 b	0.038 b
-Mex 1	0.0103 c	0.0196 b	0.0236 c
Testigo	0.0715 a	0.0417 a	0.0798 a

Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Duncan alfa = 0.05.

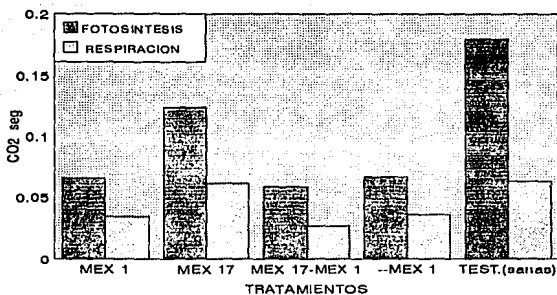


Fig. 3. Efecto de los aislamientos del VMAP Max 17, Max 1, Mex 17-Mex 1 y un grupo testigo (Plantas sanas) sobre la tasa de fotosíntesis aparente y tasa de respiración en plantas de papayo, a los 62 días después de la inoculación retardora.

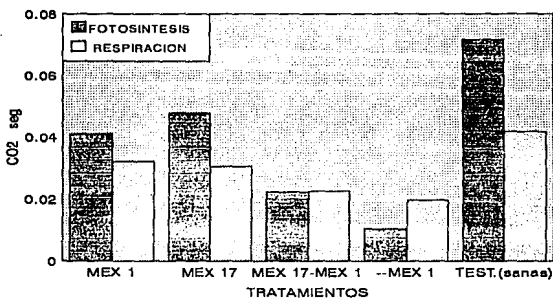


Fig. 4. Efecto de los aislamientos del VMAP Max 17, Max 1, Mex 17-Mex 1 y un grupo testigo (Plantas sanas) sobre la tasa de fotosíntesis aparente y tasa de respiración en plantas de papayo, a los 77 días después de la inoculación retardora.

Al considerar la respiración total estimada de la planta se observó que los tratamientos inoculados con el virus tienen una menor respiración que las plantas sanas (Cuadro 8 y 9), sin embargo, en estos tratamientos (-Mex 1 y Mex 17-Mex 1) la fotosíntesis total de la planta es más baja y tienen una menor área foliar, por lo cual son menos eficientes en producir fotosintatos que una planta sana (Fig 4).

Tasa de transpiración

En la primera evaluación (62 DDI retadora), se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Las plantas infectadas con el VMAP Mex 1 aumentaron su transpiración hasta 2.5 veces más que plantas sanas y el tratamiento protegido incremento su transpiración 1.6 veces más que el testigo, las plantas infectadas con Mex 17 tuvieron un incremento de 1.4 (Cuadro 6).

En la segunda evaluación (77 DDI retadora) se observó nuevamente el incremento en transpiración de las plantas inoculadas con el VMAP. Con la cepa Mex 1 se mantuvo el incremento 2.5 veces más que las plantas sanas y en el tratamiento protegido fué 1.3 veces mayor (Cuadro 7).

Conductancia estomática

La conductancia estomática registra la facilidad con la cual se mueve el CO₂ dentro de la hoja en el proceso de fotosíntesis y la facilidad con la cual el vapor de agua se mueve a través de los estomas en el proceso de transpiración.

Entre los tratamientos se presentaron diferencias en este parámetro, a los 62 días posteriores a la inoculación retadora en el tratamiento Mex 1 se dió la mayor conductancia estomática y el menor valor correspondió al tratamiento testigo (Cuadro 6), a los 77 días después de la inoculación retadora se observó la misma relación pues el valor mayor correspondió al tratamiento Mex 1 y el menor al tratamiento testigo, el tratamiento protegido presentó también un valor alto de conductancia estomática (Cuadro 7).

Se observó una relación directa entre la transpiración y la conductancia estomática pues a una transpiración alta correspondió una mayor conductancia estomática, de tal forma que fué mayor el flujo de agua hacia el exterior de la hoja que el flujo de CO₂ hacia el interior de la hoja, puesto que los valores de fotosíntesis no se relacionan tan estrechamente con los valores de conductancia estomática (Cuadro 6 y 7).

Eficiencia en el uso del agua

Los tratamientos fueron diferentes estadísticamente con respecto a este parámetro en el primer muestreo realizado. El tratamiento testigo presentó la mayor eficiencia en el uso del agua a los 62 DDI retadora. Los tratamientos inoculados con el VMAP Mex 1 tanto solo como en combinación con Mex 17 (protegido) presentaron una reducción en este factor, esto es, fueron menos eficientes en el aprovechamiento del agua (Cuadro 6).

Considerando que en estos tratamientos (Mex 1; Mex 17-Mex 1 y -Mex 1), el sistema radical fué más pequeño y que la transpiración se incrementó notablemente, esto puede explicar estas deficiencias, puesto que se redujó la superficie de absorción de agua en comparación a las plantas sanas y se tenía un mayor pérdida del agua por la transpiración.

En el tratamiento con Mex 17 solamente, también se afectó la eficiencia en el uso del agua de las plantas, siendo menor que las plantas sanas, pero mayor que en los tratamientos con el virus agresivo (Cuadro 6).

Para el segundo muestreo realizado (77 DDI retadora), nuevamente se presentaron diferencias entre los tratamientos, observándose en el tratamiento protegido y en los tratamientos inoculados con mex 1 los más bajos valores para esta variable, Mex 17 fué mas eficiente que los tratamientos anteriores en el aprovechamiento del agua, pero menos eficiente que las plantas sanas (Cuadro 7).

Area foliar

Se presentaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos con respecto al área foliar. Las plantas sanas presentaron la mayor área foliar observándose una reducción de 61.66 % para el tratamiento inoculado con la variante agresiva Mex 1. Las plantas crecieron menos aunado a la deformación y reducción que se presentó en el follaje. La variante atenuada a pesar de no mostrar síntomas severos indujó un menor crecimiento de hojas. El tratamiento protegido tuvo la menor área foliar, observando un comportamiento similar a los tratamientos inoculados con la variante agresiva (Cuadro 10).

Se observa entonces que las plantas de papayo infectadas con el VMAP tienden a perder más hojas y a desarrollarse en menor proporción, aunado a esto se presentó una reducción en su fotosíntesis e incrementó en la respiración, lo cual ocasiona una reducción en el crecimiento y tal vez también en el rendimiento.

Cuadro 10. - Peso seco (g) de la parte aérea y raíz, volumen de raíz en mm desplazados de agua y área foliar (cm²) en plantas de *Carica papaya* inoculadas con los aislamientos Mex 17 (atenuado), Mex 1 (agresivo), Mex 17-Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas). Montecillo, México. 1994.

TRATAMIENTO	AREA FOLIAR cm ²	PESO SECO		VOLUMEN mm
		PARTE AEREA g	RAIZ g	
Mex 1	160.25 c	1.72 b	0.35 b	3.89 b
Mex 17	271.00 b	2.46 ab	0.52 b	5.06 b
Mex 17-Mex 1	147.95 c	1.44 b	0.34 b	3.89 b
-Mex 1	160.56 c	1.57 b	0.41 b	3.71 b
Testigo	417.96 a	3.45 a	0.86 a	8.72 a

Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Tukey alfa = 0.05.

Contenido de clorofilas

La cuantificación de clorofilas reportó una disminución significativa de estas por efecto del virus agresivo VMAP Mex 1 (Cuadro 11).

El contenido de clorofila total en plantas infectadas con VMAP Mex 1 se redujó en 53.08% con respecto a plantas sanas. En el tratamiento protegido se presentó una reducción de clorofilas del 44.56% y el virus atenuado Mex 17 las redujó en un 24.03%.

Aún cuando se observó una reducción en el contenido de clorofilas en las plantas infectadas con VMAP Mex 1 ó Mex 17, esto no se reflejó en una menor actividad fotosintética, considerando que el medidor de fotosíntesis (IRGA) mide fotosíntesis por unidad de superficie.

Cuadro 11. - Contenido de clorofila total, clorofila A y clorofila B en mg/g de hoja, en plantas de *Carica papaya* inoculadas con los aislamientos Mex 17, Mex 1, Mex 17-Mex 1 del VMAP y un grupo testigo (plantas sanas). Montecillo, México. 1994.

TRATAMIENTO	C L O R O F I L A (mg/g de hoja)			
	TOTAL	A	B	R A/B
Mex 1	0.738 b	0.448 b	0.394 b	1.137
Mex 17	1.195 ab	0.631 ab	0.557 ab	1.133
Mex 17-Mex 1	0.872 b	0.486 b	0.380 b	1.279
-Mex 1	1.012 ab	0.551 b	0.455 b	1.211
Testigo	1.573 a	0.809 a	0.738 a	1.096
Promedios con la misma letra en las columnas son estadísticamente iguales. Tukey alfa = 0.05.				

La relación obtenida entre clorofila a/b en general para los cinco tratamientos fué muy baja, considerando que la proporción entre estas es generalmente de 1.5 a 3.5 (Sestak, et al., 1971). Vargas (1984) reportó que la síntesis de clorofila a es mayor en relación a la b en plantas de maíz normales. En este trabajo con papayo se observó que la proporción de síntesis de clorofila a es similar a la b y esto fué homogéneo en todos los tratamientos evaluados.

Cuando se trabaja en condiciones de invernadero la cantidad de clorofila tiende a disminuir por efecto de la menor irradiación que se tiene dentro del invernadero (Sestak et al., 1971), dado que el trabajo se realizó en condiciones de invernadero y en cámara bioclimática esto puede ser una de las causas de la baja relación observada aunque no se descarta la posibilidad de que haya ocurrido una degradación de los pigmentos fotosintéticos durante el método de extracción realizado.

Peso seco del follaje

La variante agresiva del VMAP provocó un pobre desarrollo de las plantas, ya que redujó en un 54.5% su producción de materia seca comparándolo con plantas sanas (Cuadro 10).

Las diferencias entre los tratamientos fueron altamente significativas. El tratamiento testigo presentó el mayor peso seco (1.72 g). La variante atenuada disminuyó este parámetro en 28.69% con respecto al testigo.

El tratamiento protegido se comportó de manera similar a la variante agresiva, presentando el menor peso seco (1.44 g) equivalente a un decremento del 58.26% .

Peso seco y volumen radical

La raíz se ve afectada a causa del virus. Mientras en plantas sanas se presentó un buen desarrollo de la raíz, en plantas infectadas con la cepa agresiva Mex 1 el volumen se redujó en 57.45 % y el peso en 59.30 %. La variante atenuada redujó el volumen de raíz en 41.97 % y el peso en un 39.53 % con respecto al testigo. En el tratamiento protegido también se presentaron reducciones en la raíz semejantes al tratamiento inoculado con la cepa agresiva (Cuadro 10).

Las plantas enfermas tienen un menor desarrollo radicular y por tanto una menor capacidad de absorción de agua y nutrientes, lo cual es un factor más que contribuyó al poco desarrollo que presentaron.

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

El proceso de protección cruzada no se presentó en las plantas que se inocularon primero con la variante atenuada Mex 17 y posteriormente con Mex 1, aunque el índice de severidad alcanzado fué menor en 0.63 unidades al tratamiento inoculado con Mex 1 en la última evaluación, se presentaron síntomas severos después de los 40-50 días aumentando la severidad al finalizar el experimento (Fig. 1).

Las plantas que se protegieron (Mex 17 - Mex 1) presentaron un pobre desarrollo expresando los más bajos valores en altura de planta (31.79 cm), diámetro de tallo (6.47 mm), número de hojas (4.56), área foliar (147.95 cm²), peso seco de follaje y raíz (1.44 y 0.34 g) y volúmen de raíz (3.89 g) y estadísticamente fueron similares a los tratamientos inoculados con la variante severa Mex 1. En el parámetro eficiencia en el uso del agua presentó un valor mayor que el tratamiento Mex 1 pero menor a Mex 17 o a las plantas sanas, aunque estadísticamente no se observaron diferencias entre el tratamiento protegido, Mex 1 y Mex 17 pero sí fueron diferentes al testigo (Cuadros 1,2,3 y 10).

Con respecto a los parámetros fisiológicos, en tasa de fotosíntesis aparente por hoja no se registraron diferencias entre los tratamientos, pero al estimar la tasa de fotosíntesis por planta el tratamiento protegido expresó bajos valores (0.0593 y 0.00222 para la 1a. y 2a. evaluación) siendo estadísticamente diferente a los tratamientos Mex 17 y Testigo (plantas sanas), pero igual al tratamiento Mex 1 (Fig. 3 y 4). En cuanto al contenido de clorofila total el tratamiento protegido expresó también el menor valor (0.872 mg/g) siendo estadísticamente igual a Mex 1. La tasa de respiración y la tasa de transpiración tendieron a incrementarse en las plantas a causa del virus expresando los valores más altos los tratamientos inoculados con Mex 1, Mex 17-Mex 1 y Mex 17 (Cuadros 6 y 7).

Tanzi et al., (1988) trabajaron con una variante atenuada del Virus Mosaico del Chile (PepMV) y tampoco encontraron protección en las plantas de Chile y lo atribuyeron a una difusión no constante en la planta por la variante atenuada M-1, de tal forma que cuando se inoculó la variante agresiva los sitios de infección en las células no estaban totalmente ocupados.

La concentración de la variante atenuada en pruebas de protección cruzada es importante, pues se busca tener la mayor concentración del virus antes de inocular la variante agresiva.

Yeh y Gonsalves (1984) encontraron que la efectividad de la protección cruzada se afectaba por el tiempo en que se hacía la inoculación reto. Si inoculaban la variante agresiva antes de los 26 días, la protección era incompleta o no se presentaba, y cuando se hacía después de los 26 días se obtenía una protección completa. Por lo cual para este trabajo se consideró la premisa de que el VMAP alcanza su mayor concentración a los 25 días de acuerdo a lo reportado por estos autores. Sin embargo los resultados obtenidos en este trabajo fueron diferentes puesto que la protección, si se presentó, fue incompleta.

Esto puede deberse a que VMAP Mex 17 tal vez necesita más tiempo para alcanzar una concentración adecuada y por tanto ocupar todos los sitios de infección de las células de la planta, no permitiendo el establecimiento de la cepa agresiva; o puede ser que su velocidad de translocación sea baja tal como lo reportó Tanzi et al., (1988) en Chile.

Otro aspecto relevante en este trabajo fueron las condiciones ambientales en que se desarrolló las cuales influyeron en el comportamiento de las plantas, ya que el papayo es un cultivo de zonas tropicales que requiere temperaturas cálidas para un óptimo desarrollo. Al cambiar el cultivo a una zona templada el crecimiento de las plantas fué muy lento no alcanzando un desarrollo óptimo (aún cuando se trabajo en invernadero y en cámara bioclimática), lo cual sugiere que el virus pudo haber tenido similarmente un comportamiento diferente al que tendría en condiciones óptimas del cultivo; por lo cual tal vez la respuesta en campo sea diferente a lo que se obtuvo en este trabajo. Por lo cual es conveniente continuar con las pruebas de protección cruzada con Mex 17 en campo, bajo condiciones de crecimiento natural del papayo.

CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos se desprenden las siguientes conclusiones, las cuales son preliminares puesto que este trabajo será continuado con pruebas de campo.

1. El VMAP Mex 17 no fué eficiente para proteger a plantas de papayo, ya que aparecieron síntomas severos después de los 40-50 días bajó las condiciones en las que se desarrolló el experimento.
2. Las plantas del tratamiento protegido (Mex 17-Mex 1) presentaron un comportamiento similar a las inoculadas con mex 1 (agresiva) reduciendo significativamente altura de planta (21%), diámetro del tallo (27%), número de hojas (24%), área foliar (64%), peso seco de follaje y raíz (58 y 60%), volúmen de raíz (55%) y contenido de clorofila total (44%), con respecto a plantas sanas.
3. VMAP Mex 1 afectó significativamente el desarrollo de las plantas expresando reducciones en altura de planta (15.81%), diámetro de tallo (28%), área foliar (62%), peso seco de parte aérea y raíz (50 y 59%), Volumen radical (55%) y contenido de clorofila total (53%) en comparación a plantas sanas
4. En Cucurbita pepe Grey Zucchini el tipo de inclusiones que indujeron VMAP Mex 1 y Mex 17 fueron diferentes, Mex 1 indujó inclusiones celulares fibrosas e inclusiones irregulares y Mex 17 indujó solo inclusiones celulares fibrosas.
5. No fué posible confirmar la protección cruzada por medio de las inclusiones celulares puesto que estas no se encontraron en papayo.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G.N. 1988. Fitopatología. Edit. Limusa. México, D.F. 756 p.
- Becerra, L. E.N. 1988. Ensayos de barreras de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y preferencia al color de papayo (*Carica papaya* L.) por áfidos vectores del virus de la mancha anular del papayo. XV Congreso Nacional de Fitopatología. Xalapa, Ver. pp 100.
- Becerra, L. E.N., Mosqueda V.R., y De los Santos, R. F. 1989. Evaluación de la papaya "Cariflora" por su tolerancia al virus mancha anular del papayo en Veracruz, México. XVI Congreso Nacional de Fitopatología, Montecillo, México. pp. 132.
- Becerra, L. E.N. 1991. Evaluación de varias prácticas culturales para reducir la incidencia del virus de la mancha anular del papayo. XVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Puebla de los Angeles. pp. 166.
- Cadena, H.M.A. 1987. Protección inducida por virus fitopatógenos contra enfermedades virosas. En: Temas en virología II. Ed. Alvizo Villasana H.F., Lozoya Saldaña H. Sociedad Mexicana de Fitopatología, Chapingo, México. pp. 64-77.
- Cárdenas, S.E. 1986. Diagnostico de virus mediante inclusiones virales. Folleto. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 69 p.
- Cárdenas, S.E. 1992. Caracterización de aislamientos del virus de la mancha anular del papayo, patogenesis y epidemiología de la enfermedad de la mancha anular del papayo en *Carica papaya* L. Tesis de Doctor en ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillos, México.
- COABASTO. 1990. Sistema Producto Papayo para el Distrito Federal. Servicio Nacional de Información de Mercados. Banco Nacional del Pequeño Comercio.

- Cobley, L.S. 1976. An introduction to the Botany of tropical crops. Second ed. Longman. London. pp. 181-185.
- Conover, R.A. 1976. A program for development of papayas tolerant to the Distortion Ringspot Virus. Proc. Fla. Hort. Soc. 89: 229-231.
- Conover, R.A., Litz, R.E., and Malo, S.E. 1986. "Cariflora" a Papaya Ringspot Virus tolerant papaya for South Florida and the Caribbean. HortScience. 21(4): 1072.
- Costa, A.S. and Muller, G.W. 1980. Tristeza Control by Cross Protection: U.S - Brazil cooperative success. Plant Disease. 64(6): 538-541.
- De Zoeten, G. A., and Fulton, R. W. 1975. Understanding generates possibilities. Phytopathology. 65: 221-222.
- Dodds, J.A. 1982. Cross-protection and interference between electrophoretically distinct strains of cucumber mosaic virus in tomato. Virology 118:235-240.
- Dodds, J.A., Lee, S.Q., and Tiffany, M. 1985. Cross protection between strains of cucumber mosaic virus: Effect of host and type of inoculum on accumulation of virions and double-stranded RNA of the challenge strain. Virology. 144: 301-309.
- Femi Lana, A. 1980. Transmission and properties of viruses isolated from *Carica papaya* in Nigeria. Journal of Horticultural Science. 55(2): 191-197.
- Fletcher, J.T. 1978. The use of avirulent virus strains to protect plants against the effects of virulent strains. Annals of Applied Biology. 59(1): 110-114.
- Fulton, R.W. 1986. Practices and precautions in the use of cross protection for plant virus disease control. Ann. Rev. Phytopathol. 24:67-81.
- Galindo, A.J., E. Olivas, y R. Rodríguez. 1978. Experimento para controlar el virus de la mancha anular del papayo. VIII Congreso Nacional de Fitopatología. Oaxtepec, Morelos. 44-45 p.

- Gallitelli, D., Vovlas, C., Martelli, G., Montasser, M.S. Tousignant, M.L., and Kaper, J.M. 1991. Satellite-Mediated Protection of Tomato Against Cucumber Mosaic Virus: II. Field Test Under Natural Epidemic Conditions in Southern Italy. *Plant Disease*. 75: 93-95.
- Garza, L.J.G. 1978. Estudios sobre virosis de Papaya *Carica papaya* L. en el estado de Colima. VIII Congreso Nacional de Fitopatología. Oaxtepec, Morelos. 43-44 p.
- Gibbs, A. 1969. Plant virus classification. *Adv. Virus Res.* 14:263-328.
- Gonzalez, V. 1984. Comunicación personal. Centro de Genética. Colegio de postgraduados. Montecillo, México.
- Gonsalves, D. and Garnsey, S.M. 1989. Cross-Protection Techniques for control of plant virus diseases in the tropics. *Plant Disease*. 73(7): 592-596.
- Huss, B., Walter, B., and Fuchs, M. 1989. Cross-protection between arabis mosaic virus and grapevine fanleaf virus isolates in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Applied Biology*. 114(1): 45-60.
- INIA. 1983. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el cultivo de frutales tropicales y subtropicales. INIA. SARH. México. 8-10 p.
- Ishii, M. 1972. Observations on the spread of papaya ringspot virus in Hawaii. *Plant Disease Reporter*. 56(4): 331-333.
- Lecoq, H., Lemaire, J.M., and Wipf-Scheibel, C. 1991. Control of Zucchini Yellow Mosaic Virus in Squash by Cross Protection. *Plant Disease* 75(2):208-211.
- López, P.O. 1972. Identificación de las virosis de la lechosa (*Carica papaya* L.) en Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía*. VI(4): 5-36.

- Marler, Thomas E., Mickelbart, Michael V. and Quitugua, Roland. 1993. Papaya Ringspot Virus influences net gas exchange of papaya leaves. HortScience 28(4):322-324
- Matthews, R.E.F. 1970. Plant virology. Academic Press INC. New York. 778 p.
- Mckinney, H.H. 1929. Mosaic diseases in the Canary Islands, West Africa and Gibraltar. J. Agric. Res. 39:557-558.
- Mederos, O.E., Orquín L.J., y Hernández, L.A. 1985. Estudio preliminar de la influencia del diámetro del tallo sobre la producción de flores y frutos en la planta de fruta bomba (*Carica papaya* L.) var. Maradol Roja. Centro Agrícola. 12(3):89-96.
- Montasser, M.S., Tousignant, M.E., and Kaper, J.M. 1991. Satellite-Mediated Protection of Tomato Against Cucumber Mosaic Virus: I. Greenhouse Experiments and Simulated Epidemic Conditions in the Field. Plant disease. 75: 86-92.
- Mosqueda, V.R., Becerra, L, E.N., y De los Santos, R.F. 1990. Aplicación de aceites en papayo para retrasar la epidemia del virus de la mancha anular del papayo. XVII Congreso Nacional de Fitopatología. Culiacan, Sinaloa. pp. 93
- Nieto, A.D. 1990. Epidemiología del virus de la mancha anular del papayo bajo diferentes fechas de siembra, densidades de plantación y localidades en Veracruz. Tesis de M.C. Colegio de Postgraduados. México. 68 p.
- Ochoa, A.S. 1992. Algunos estudios de la Mancha Anular del Papayo en el Valle de Apatzingán, Mich. Tesis Profesional, Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo, México. 61 p.
- Palukaitlis, P., Zaitlin, M. 1984. A model to explain the "cross-protection" phenomenon show by plant viruses and viroids. In: Plant Microbe Interactions. Molecular and Genetic Perspectives. Eds. T. Kosuge, and E.N. Nester. New York: Macmillan.

- Ponz, F., and Bruening, G. 1986. Mechanisms of resistance to plant viruses. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24:355-81.
- Price, W. C. 1964. Strains, mutation, acquired immunity, and interference. In: *Plant virology*. Ed. M.K. Corbett y H.D. Sisler. University of Florida Press. p. 93-117.
- Purcifull, D.E., Edwardson, J., Hiebert, E. and Gonsalves, D. 1984. Papaya ringspot virus. Descriptions of plant viruses. No. 292 (revisión del No. 84): *Commonw. Mycol. Inst./Assoc. Appl. Biol. Key Surrey, England*.
- Quiot-Douine, L., Purcifull, D.E., Hiebert, E., and de Mejía, M.V.G. 1986. Serological relationships and in vitro translation of an antigenically distinct strain of papaya ringspot virus. *Phytopathology*. 76(3): 346-351.
- Rast, A.Th.B. 1972. M II-16, an artificial symptomless mutant of tobacco mosaic virus for seedling inoculation of tomato crops. *Neth. J. Pl. Path.* 78: 110-112.
- Rovira, L.A., y Alvarez, C.R. 1986. El lechoso. Ed. América. Caracas Venezuela. pp. 21-34.
- Salaman, R.N. 1933. Protective inoculation against a plant virus. *Nature*. 131: 468.
- Samson, J.A. 1991. *Fruticultura Tropical*. Ed. Limusa, México. pp. 305-320.
- Sánchez-Espíndola, M.E., González Ch, M.C., Ferrera-Cerrato, R y Téliz-Ortiz, D. 1993. Inducción del vigor en plantúlas de *Carica papaya* L. bajo el efecto de la micorriza vesículo-arbuscular *Glomus* sp. como factor de desarrollo. En: *Avances de Investigación, Sección de microbiología de suelos*. Eds. Jesús Pérez Moreno y Ronald Ferrera Cerrato. CEDAF. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx. pp. 123-133.
- Saucedo, V.C. 1989. Manual de prácticas del laboratorio de fisiología de postcosecha. Folleto. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx. pp. 31-33.

- Sestak, Z., Catsky, J., and Jarvis, P.G. 1971. Plant photosynthetic production. Manual of methods. Dr. W. Junk N.V., Publishers, The Hague. pp. 672-698.
- Sherwood, J.L., and Fulton, R. W. 1982. The specific involvement of coat protein in tobacco mosaic virus cross protection. *Virology*. 119: 150-158.
- Singh, R.P., Boucher, A., and Somerville, T.H. 1990. Cross-Protection with strains of Potato Spindle Tuber Viroid in the Potato plant and other solanaceous hosts. *Phytopathology*. 80(3): 246-250.
- Solano, A.I. 1975. Plagas y enfermedades del papayo. FIRA, México. p. 27-35.
- Story, G.E. and Halliwell, R.S. 1969. Identification of distortion ringspot virus diseases of papaya in the Dominican Republic. *Plant Disease Reporter*. 53(9): 757-760.
- Tanzi, M, Betti, L., and Canova, A. 1988. Protection of pepper crops under glass against PepMV artificial infection with the mild mutant M-1: analysis of its influence on growth and yield. *Advances in Horticultural Science*. 2(1): 19-22.
- Téliz, O. D. 1990. Apuntes del curso: Enfermedades de Frutales. Centro de Fitopatología. Colegio de Postgraduados. (Mimeografiado).
- Téliz, O. D. 1994. Comunicación personal. Centro de Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México.
- Téliz, O. D. y Mora, G. 1986. Inmunosorbencia con enzimas conjugadas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 4:133-141.
- Téliz, D., Mora, G., Gonsalves, D., Avila, C. y Duran, F. 1987. Intento de control del virus de la mancha anular del papayo en Veracruz mediante protección cruzada. XIV Congreso Nacional de Fitopatología. Morelia Michoacan. pp. 118.

- Téliz, D., Mora, A.G., Nieto, O.D., Gonsalves, D., García, E., Mathela, L. y Avila, C. 1991a. La mancha anular del papayo en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 9:64-68.
- Téliz, O.D., González, H.V.A., Nieto, A.D. y Mora, A.A. 1991b. Efecto del virus mancha anular en la fisiología del papayo. *Congreso Nacional de Fitopatología*. Puebla de los Angeles. pp. 82.
- Thung, T.H. 1931. Smetstof en plantecel by enkele virus ziekten van de tabakplant. *Rev. Appl. Mycol.* II:750-751. (Abst. 1932).
- Van Vuuren, S.P., Collins, R.P., and da Graca, J.V. 1993. Evaluation of Citrus Tristeza Virus Isolates for Cross Protection of Grapefruit in South Africa. *Plant Disease* 77(1): 24-28.
- Vargas O.M.A. 1984. Estudio anatómico, bioquímico y ontogenico de la hoja del mutante "Hoja arrugada" en Maíz (*Zea mays* L.). Tesis Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx.
- Wan, S.H., and Conover, R.A. 1983. Incidence and distribution of papaya viruses in Southern Florida. *Plant Disease*. 67(4):353-356.
- Wang, H.L., Yeh, S.D., Chiu, R.J., Gonsalves, D. 1987. Effectiveness of cross-protection by mild mutants of papaya ringspot virus for control of ringspot disease of papaya in Taiwan. *Plant Disease*. 71(6):491-497.
- Wang, H.L., Gonsalves, D., Provvidenti, R., and Lecoq, H.L. 1991. Effectiveness of cross protection by a mild strain of Zucchini Yellow Mosaic Virus in Cucumber, Melon and Squash. *Plant Disease*. 75(2): 203-207.
- Williams, C.N., and Rajaratham, J.H. 1979. Tree and field crops of the Wettest Regions of the tropics. *Intermediate Tropical Agricultural Series*. Longman, London. p. 106-110.

Yeh, S.D. and Gonsalves D. 1984. Evaluation of induced mutants of papaya ringspot virus for control by Cross Protection. *Phytopathology*. 74(9):1086-1094.

Yeh, S.D., Gonsalves, D., Wang, H.L., Namba, R., and Chiu, R.S. 1988. Control of papaya ringspot virus by cross protection. *Plant Disease*. 72(5):375-380.

Yeh, S.D. 1990. Control of Ringspot Disease of Papaya by induced mild virus strains. *Acta Horticulturae*. July (275): 753-760.

Zaitlin, M. 1976. Viral Cross Protection: more understanding is needed. *Phytopathology*. 66: 382-383.