

El marchitamiento súbito de la
sandía [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai]
en Puerto Rico

Por

Laura Glenys Polanco Florián

Tesis sometida en cumplimiento parcial
de los requisitos para el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

Protección de Cultivos

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGUEZ
2009

Aprobado por:

Lydia I. Rivera Vargas Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

José Carlos V. Rodrigues Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Consuelo Estévez de Jensen Ph.D.
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Eshal Jiménez Ph.D.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Miguel Muñoz Ph.D.
Director de Departamento

Fecha

ABSTRACT

Watermelon [*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun & Nakai] vine decline has caused great economic losses in the southwestern region of Puerto Rico. During 2007 and 2008 fields trials were conducted at the Agricultural Experiment Station at Juana Díaz, Puerto Rico, to determine watermelon susceptibility and vectors role in the disease. In a randomized complete block design with four replicates, cultivar Royal Sweet was planted with application of insecticides were compared with UV reflective plastic mulch treatment and an untreated control. The treatment with insecticide and fungicide increased yield in a 40% when compared to the control. Cultivars Royal Sweet, Starbright, Sangría, Regency XR-212 were planted with no application of insecticides or fungicides. The disease was present and because of the severity of the disease there was no commercial production of fruit. Serological tests identified mixed infections of the same viruses. The most important vector was whitefly, *Bemisia tabaci*. *Aphis gossypii*. Weed species infected with potyvirus were: *Momordica charantia*, *Cucumis anguria*, *C. dipsaceus*, *Cissus verticellata*, *Ipomea ochracea*, *I. trifolia* and *Merremia umbellate*. The disease was transmitted by mechanic inoculation to healthy plants and were positive for a potyvirus different from ZYMV and PRSV. This was corroborated with RT-PCR and PCR.

RESUMEN

El marchitamiento súbito de la sandía [*Citrullus lanatus* (Thunb) Matsun & Nakai] es una enfermedad que ha causado grandes pérdidas en el suroeste de Puerto Rico. En la Estación Experimental Agrícola de Juana Díaz, Puerto Rico durante los años 2007 y 2008 se realizaron varios experimentos para determinar la importancia de insectos vectores en el desarrollo de la enfermedad y conocer la susceptibilidad de cultivares comerciales de sandía. En un diseño de bloques completos al azar con cuatro repeticiones, se sembró el cultivar Royal Sweet con aplicaciones de insecticidas solos y combinados con fungicidas (en rotación: en comparación con un tratamiento con plástico reflectivo UV y un grupo (control). El tratamiento con insecticida y fungicida presentó un incremento de 40% en el rendimiento en comparación con el control. En dos experimentos separados se determinó la respuesta de los cultivares “Royal Sweet”, “Starbright”, Sangría, “Regency” XR-212 (primer experimento) y “Companion”). No se realizó ninguna aplicación de insecticidas o fungicidas. En el primer experimento no se presentó la enfermedad. En el segundo experimento a causa de la severidad de la enfermedad, no hubo producción de frutos comerciales. En los experimentos los insectos vectores de virus más importantes fueron la mosca blanca, *Bemisia tabaci* y *Aphis gossypii*. Las especies de malezas infectadas con virus fueron: *Momordica charantia*, *Cucumis anguria*, *Cucumis dipsaceus*, *Cissus verticellata*, *Ipomea ochracea*, *I. trifolia*, *Merremia umbellata* y *Jasminum fluminense*. El síntoma de marchitamiento fue transmitido a las plantas de sandía. La presencia de virus en las plantas con marchitamiento súbito fueron positivas para un potyvirus diferente de ZYMV y PRSV. Esto fue corroborado con las pruebas moleculares de RT-PCR y PCR.

A mi madre por su inmenso amor, sus oraciones, su ejemplo y consejos

A mis hermanos Ulises, Amalia, José Daniel, Fernando y José

A Fernando Félix por su amor y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más profundo agradecimiento a Dios por ser la fuente de la sabiduría, por guiarme y ayudarme a realizar este trabajo.

A la Secretaría de Estado de Agricultura (SEA) por brindarme la oportunidad de superarme. Agradezco inmensamente al Centro para el Desarrollo Agroforestal (CEDAF) por proporcionarme los recursos económicos para la realización de esta maestría. Deseo agradecer también al Ing. Luís Garrido Jansen y la Ing. Caridad Nolasco por la confianza depositada en mí. De igual forma agradezco al Ing. Pedro Pablo Peña por sus consejos y motivaciones.

Expreso mis más sinceros agradecimientos a mi consejera de tesis, la Dra Consuelo Estévez de Jensen por su amistad, consejos y correcciones. A los miembros del comité graduado, la Dra Lydia Rivera Vargas y al Dr José Carlos V. Rodríguez por sus comentarios y revisión de este manuscrito. A la Dra. Linda Beaver por su colaboración. A las secretarias del Departamento de Protección de Cultivos la Sra Maria Pagán y Sra Jeannette Morales por tolerarme y ayudarme durante todo el transcurso de esta maestría y por su gran disposición de servir.

A todo el personal de la Estación Experimental Agrícola Juana Díaz, especialmente Irma Cabrera por su colaboración en la identificación de insectos, a Carlos Almodóvar y Ariel Aponte por su ayuda en el trabajo de campo. Asimismo quiero agradecer a Gladys Soto

por su amistad. Además, quiero agradecer al Dr Alejandro Segarra por su ayuda en la identificación de insectos. A la Sra Petra Rivera por permitirnos evaluar las fincas comerciales.

Quiero agradecer de manera especial la amistad y el apoyo de Edward Roa, quien ha sido para mí como un hermano. Igualmente agradezco a Manuel Pérez, José Miguel García, Angélica Peluffo y Alejandro Pujols porque me han demostrado que puedo contar con ellos. A Jessica Torres, Omara Ortiz, Nuris Montero, Orlando Félix, Yumeris Fernández, Yolenny Sánchez, Lenny Pérez, Ivone Ventura y Juan Darío Cruz, Doris Ramírez, Margarita Torres, Yomaree Cortés y a todos los que me acompañaron en este camino y contribuyeron a llegar a la meta.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
ABSTRACT.....	II
RESUMEN.....	III
DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTOS.....	V
TABLA DE CONTENIDO.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE APÉNDICES.....	XII
1. INTRODUCCIÓN	13
OBJETIVOS.....	16
2. REVISION DE LITERATURA	17
2.1 El marchitamiento súbito de la sandía.....	17
2.2. Enfermedades virales	20
2.2.1. Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)	22
2.2.2. Papaya rinspot virus (PRSV).....	22
2.3. Principales enfermedades de la sandía en Puerto Rico	23
3. MATERIALES Y METODOS	26
3.1. Experimento de campo.....	26
3.1.1 Localización del experimento.....	26
3.1.2. Temperatura y pluviometría	26
3.1.3. Descripción de los tratamientos.....	28
3.1.4. Experimentos de cultivares.....	31
Cultivares I 3/mayo/2007 17/julio/2007	31
Tratamientos I 7/septiembre/2007 9/noviembre/2007.....	31
Tratamientos II 14/febrero/2008 24/abril/2008	31
Cultivares II 1/abril/2008 28/mayo/2008.....	31
3.1.5. Catastro de insectos y métodos de monitoreo.....	32
3.1.6. Montaje e identificación	33
3.1.7. Incidencia e identificación de virus	34
3.1.9. Determinación de malezas hospederas	35
3.1.10. Evaluación del marchitamiento súbito en predios comerciales	35
3.1.11. Transmisión mecánica con savia infectada con virus.....	36
3.1.14. Rendimiento	38
3.1.14. Análisis estadístico	38
4. RESULTADOS	40
4.1. Primer experimento utilizando cinco cultivares de sandía.....	40
4.1.1. Dinámica poblacional de insectos	40
4.1.2. Incidencia de virus y análisis serológico	44
4.1.3. Rendimiento	46
4.2. Primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos	47
4.2.1 Dinámica poblacional.....	47
4.2.2. Incidencia de virus y análisis serológico	50
4.2.2. Incidencia de virus y análisis serológico	51
4.2.3. Rendimiento	51

4.3. Segundo ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos.....	52
4.3.1. Dinámica poblacional.....	52
4.3.2. Incidencia de virus y análisis serológico	56
4.3.3. Rendimiento	58
4.4. Segundo ensayo utilizando cinco cultivares de sandía.....	59
4.4.1. Dinámica poblacional.....	59
4.4.2. Incidencia de virus y análisis serológico	63
4.4.3. Rendimiento	64
4.5. Identificación de insectos vectores.....	65
4.5.1 <i>Bemisia tabaci</i>	65
4.5.2 <i>Aphis gossypii</i>	66
4.5.3 <i>Thrips palmi</i>	66
4.5.4 <i>Frankliniella</i> spp.	66
4.6. Determinación de malezas hospederas.....	68
4.7. Finca MS Farm, Santa Isabel, P. R.	74
4.8.1. Inoculación mecánica	75
4.8.2. Transmisión por áfidos	77
4.8.3. Transmisión con mosca blanca.....	77
5. DISCUSIÓN	79
Determinación de malezas hospederas.....	84
6. CONCLUSIONES.....	87
7. RECOMENDACIONES	88
8. LITERATURA CITADA	89
APÉNDICES	94

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Arreglo al azar de cinco tratamientos y cuatro bloques en el cultivo de sandía, Juana Díaz, P. R.....	29
Cuadro 2. Descripción de cinco tratamientos, frecuencia de aplicación y dosis de insecticidas y fungicidas en el cultivo de sandía, Juana Díaz, P. R.....	30
Cuadro 3. Descripción de las fecha de siembras y cosechas de sandía, durante los experimentos donde se utilizaron cinco tratamientos y cinco cultivares, Juana Díaz, P. R.....	31
Cuadro 4. Número promedio de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos utilizando dos método de muestreo: visual y trampa, durante el primer ensayo con cinco cultivares, en los meses de mayo a julio de 2007, Juana Díaz, P. R.	43
Cuadro 5. Resultados de las pruebas serológicas realizadas a los experimentos de sandía para Zucchini yellow mosaic virus, Papaya ringspot virus y potyvirus, Juana Díaz, P. R.	45
Cuadro 6. Número promedio de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos utilizando dos métodos de muestreo: visual y trampa, durante el primer ensayo con cinco tratamientos en los meses de septiembre a noviembre de 2007, Juana Díaz, P. R.....	50
Cuadro 7. Número promedio de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos utilizando dos método de muestreo: visual y trampa, durante el segundo experimento con cinco tratamientos, en los meses de febrero a abril de 2008, Juana Díaz, P. R.	55
Cuadro 8. Número promedio de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos utilizando dos método de muestreo: visual y trampa, durante el segundo experimento con cinco cultivares en los meses de abril a mayo de 2009., Juana Díaz, P. R.	62
Cuadro 9. Pruebas serológicas realizadas a las malezas cercanas a los predios de sandía, en abril 2008 y marzo 2009, Juana Díaz P.R.....	71
Cuadro 10. Pruebas serológicas realizadas a las malezas cercanas a los predios de sandía, en los meses de febrero y marzo del 2009, Santa Isabel, P.R.	73

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1.	Temperatura mensual mínima, promedio y máxima en la EEA de Juana Díaz, P. R. durante el año 2007.....	27
Figura 2.	Temperatura mensual mínima, promedio y máxima en la EEA de Juana Díaz, P. R. durante el año 2008.....	27
Figura 3.	Precipitación mensual en centímetros cúbicos durante los años 2007 y 2008, en la EEA de Juana Díaz, P. R.	28
Figura 4.	Vista parcial del experimento donde se puede apreciar la malla colocada en la hilera del centro cubriendo 3 plantas, en los dos ensayos con los cinco tratamientos, septiembre del 2007 y febrero del 2008, Juana Díaz, P. R.	30
Figura 5.	Dinámica poblacional de mosca blanca durante el primer ensayo con 5 cultivares de sandía, en los meses de mayo a julio 2007, Juana Díaz, P. R.	41
Figura 6.	Dinámica poblacional de áfidos durante el primer ensayo con 5 cultivares de sandía, en los meses de mayo a julio 2007, Juana Díaz, P. R.	41
Figura 8.	Rendimiento de cinco cultivares de sandía, en julio del 2007, Juana Díaz, P. R.	46
4.2.	Primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos	47
Figura 9.	Dinámica poblacional de mosca blanca durante el primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos en los meses septiembre a noviembre del 2007, Juana Díaz, P. R.	48
Figura 10.	Dinámica poblacional de mosca blanca durante el primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos en los meses septiembre a noviembre del 2007, Juana Díaz, P. R.	48
Figura 11.	Dinámica poblacional de trípodos durante el primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos en los meses septiembre a noviembre del 2007, Juana Díaz, P. R.	49
Figura 12.	Rendimiento de frutos comerciales en el primer ensayo con aplicación de insecticidas y fungicidas en comparación con el plástico reflectivo y sin aplicaciones de químicos en sandía, en el mes de noviembre del 2007, Juana Díaz, P. R.	52
Figura 13.	Dinámica poblacional de mosca blanca durante el segundo experimento con cinco tratamientos, en los meses de febrero a abril del 2008, Juana Díaz, P. R.	53
Figura 14.	Dinámica poblacional de áfidos durante el segundo experimento con cinco tratamientos, en los meses de febrero a abril del 2008, Juana Díaz, P. R.	54
Figura 15.	Dinámica poblacional de trípodos durante el segundo experimento con cinco tratamientos, en los meses de febrero a abril del 2008, Juana Díaz, P. R.	54
Figura 16.	Síntomas observados en plantas de sandía en el campo.....	57

Figura 17.	Rendimiento durante el segundo experimento con cinco tratamientos en sandía, Juana Díaz, Puerto Rico.....	58
Figura 18.	Dinámica poblacional de mosca blanca durante el segundo experimento con cinco cultivares en los meses de abril a mayo del 2009, Juana Díaz, P.R.....	60
Figura 19.	Dinámica poblacional de áfidos durante el segundo experimento con cinco cultivares en los meses de abril a mayo del 2009, Juana Díaz, P.R.	60
Figura 20.	Dinámica poblacional de trípodos durante el segundo experimento con cinco cultivares en los meses de abril a mayo del 2009, Juana Díaz, P.R.....	61
Figura 21.	Parcela experimental afectada por el marchitamiento súbito mostrando muerte generalizada de plantas, Juana Díaz, P. R.....	64
Figura 22.	Rendimiento durante el segundo experimento con cinco cultivares en sandía, en el mes de mayo del 2008, Juana Díaz, Puerto Rico.....	65
Figura 23.	Insectos identificados en los ensayos de sandía. A. Ninfas de mosca blanca. B. Moscas blancas adultos. C. Colonias de áfidos en hojas de sandía. D. <i>Aphis gossypii</i> . E. <i>Thrips palmi</i> . F. <i>Frankliniella</i> spp.....	67
Figura 24.	Malezas pertenecientes a la familia cucurbitaceae en el cultivo de sandía, Juana Díaz. A. <i>Momordica charantia</i> L., B. <i>Cucumis anguria</i> L. C. <i>Cucumis dipsaceus</i> Ehrenb. D. <i>Luffa aegyptiaca</i>	69
Figura 25.	Malezas identificadas en el cultivo de sandía, Juana Díaz, P. R. A. <i>Amaranthus dubius</i> Mart., B. <i>Cyperus rotundus</i> L., C. <i>Parthenium hysterophorus</i> L., D. <i>Echinochloa colona</i> L., E. <i>Portulaca oleracea</i> L. y F. <i>Tianthemas portulascatrum</i> L.....	70
Figura 26.	Aclaramiento de venas observado en la maleza <i>L. aegyptiaca</i> en el sector La Cuarta, Juana Díaz, P. R.....	72
Figura 27.	Resultados de la inoculación mecánica. A. Plantas de sandía muertas a los 14 días post-inoculación. B. Plantas control no afectadas por la enfermedad.....	75
Figura 28.	Plantas de calabaza 7 días postinoculación. En la planta de la izquierda se observa síntomas de moteado, la planta de la derecha (control) no presenta ningún síntoma.	77

LISTA DE APÉNDICES

	Página
Apéndice 1. Análisis de suelo.....	94
Apéndice 2. Protocolo de la prueba ELISA para Potyvirus y PRSV.....	94
Apéndice 3. Análisis de Correlación entre el número de plantas con síntomas y el número de insectos vectores de virus. Tratamientos II.....	96

1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de sandía [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai] para el año 2008 fue de 93 millones de toneladas métricas. Los principales productores de sandía son: China (71%), Turquía (4.5%), Estados Unidos (1.8%), México (1.0%), España (0.8%) y Brasil (0.7%) (Anónimo, 2008). En Puerto Rico, la sandía se cultiva en el suroeste de la isla, principalmente en los municipios de Santa Isabel, Juana Díaz, Salinas, Guánica y Cabo Rojo. Para el año 2007, la siembra total de sandía en la isla fue de 1.8 hectáreas distribuidas en 45 productores, con una producción de 7308 toneladas. La aportación de la sandía al ingreso bruto agrícola (IBP) para ese mismo año fue de 2.1 millones de dólares (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2007).

En Puerto Rico la sandía se puede cultivar en cualquier época del año y las variedades más utilizadas son ‘Royal Sweet’ y ‘Starbright’. La siembra se realiza por transplante, la semilla es germinada en viveros que se dedican a la producción y distribución de plántulas. La preparación del terreno consiste de dos cortes de arado y rastrillado. Existen tres tipos de suelos predominantes en la zonas productoras de sandía y corresponden a suelos sueltos, pesados y poco profundos (Martínez, 2000).

En Puerto Rico la sandía es afectada por varias enfermedades fungosas que reducen su producción y calidad. Entre las de mayor importancia se encuentra la gomosis del tallo ocasionada por *Dydimella bryoniae* Auersw., seguida por problemas causados por hongos de suelo como el sancocho de plántulas causado por *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. y *Rhizoctonia solani* Kühn. Otras enfermedades de importancia en diferentes épocas del año son el añublo lanoso causado por *Pseudoperospora cubensis*

Berk & Curtis y el añublo polvoriento causado por *Oidium* spp. Las manchas foliares producidas por *Alternaria cucumerina* (Ellis & Everh.) y *Cercospora* spp. son de menor importancia y dependen de condiciones favorables para su desarrollo, tales como alta humedad relativa y temperaturas moderadas (Estévez et al., 2006).

Las prácticas fitosanitarias en el momento del trasplante incluyen una aplicación al suelo alrededor de la planta de metalaxyl (Fenilamida) para proteger las plántulas de sancocho de plántulas causado por *Phytophthora* sp. y *Pythium* spp. Se realizan aplicaciones semanales con chlorotalonil (Cloronitrilo) y manzate (Ditiocarbamato) son utilizados para el control de enfermedades foliares como *A. cucumerina* y el añublo polvoriento. Para el control del tizón gomoso causado por *Didymella bryoniae* se realizan aplicaciones semanales de azoxystrobin (Metoxiacrilato).

Una enfermedad nueva que ha causado pérdidas considerables en la sandía es el marchitamiento súbito de la sandía. Esta enfermedad ha afectado considerablemente la producción de sandía en el suroeste de Puerto Rico desde el año 2004 (Estévez et al., 2006). Sin embargo, son comunes los síntomas de virus que incluyen: mosaico, clorosis, deformación y enrollamiento de hojas, y presencia de ampollas en las hojas. A los 40 y 45 días después del trasplante, los síntomas iniciales de la enfermedad se observan como necrosis en los márgenes de las hojas y en la parte apical del tallo; posteriormente se observa necrosis en los entrenudos y amarillamiento de las ramas. En ocasiones se ha observado que las plantas se marchitan y mueren en pocos días. En algunos casos durante la formación del fruto se puede observar decoloración interna y el sabor de la fruta se torna insípido; éstos se deforman y cesan su crecimiento. El fruto se torna verde pálido y

se observan anillos en la corteza. La planta inicia marchites gradual y luego de pocos días la planta se marchita y muere. La raíz carece de raicillas y en la base del tallo en un corte transversal el xilema se presenta de color miel. En ciertas ocasiones se observa decoloración vascular.

En los últimos tres años las pérdidas en la producción de sandía superan el 50%, cifras que muestra la importancia de la enfermedad en Puerto Rico. Por lo cual es necesario determinar la etiología de la enfermedad y conocer su epidemiología. Esto permitirá establecer medidas adecuadas de control para minimizar las pérdidas.

OBJETIVOS

Los objetivos de la presente investigación son: identificar el agente causal del marchitamiento súbito de la sandía, determinar la susceptibilidad de cultivares de sandía a la enfermedad y estudiar la importancia de insectos vectores en la enfermedad.

2. REVISION DE LITERATURA

La sandía (*Citrullus lanatus*) pertenece a la familia Cucurbitaceae y es originaria de África (Central y Sur) de donde fue diseminada al Mediterráneo, la India y al Medio Oriente (Janick y Paris, 2006). La sandía fue cultivada en el desierto de Kalahari (África Central) para luego llegar a Europa. En el año 961 ya se cultivaba en Córdoba y en 1158 en Sevilla, España. La sandía llegó al nuevo mundo con los españoles y para el año 1576 era cultivada por los colonos españoles en Florida (Bisognim, 2002).

2.1 El marchitamiento súbito de la sandía

El marchitamiento súbito de la sandía es una enfermedad reciente que ha producido grandes pérdidas en muchos países productores de este cultivo (Sales et al., 2006). En el sureste y oeste de Florida (USA) las pérdidas causadas por la enfermedad se calculan en 60 millones de dólares para el 2005. En la etapa vegetativa del cultivo la enfermedad pasa desapercibida ya que la marchites y pudrición de frutos ocurre al final del ciclo del cultivo (Adkins et al., 2007).

Existe controversia sobre el agente causal de esta enfermedad, y se han reportado un sinnúmero de agentes bióticos y abióticos como responsables del decaimiento de la sandía. Esta enfermedad se inicia con síntomas de amarillamiento y muerte de las hojas, que también está asociado a pudriciones en las raíces, lo cual no es siempre notable (Aegerter et al., 2000). En Israel y Brasil se han reportado dos especies de hongos relacionados al marchitamiento súbito: *Monosporascus eutypoides* (Petra) Arx y *M. cannonballus* Pollack & Uecker. En España se reporta el colapso y muerte súbita de las

cucurbitáceas causado por *Acremonium* spp. (Bruton et al., 2000). *Monosporascus cannonballus* es un ascomiceto, siendo las ascosporas responsables del inóculo en el suelo produciendo peritecios en las raíces de su hospedero. Al finalizar el ciclo del cultivo, las ascosporas pueden permanecer en el suelo por varios años, independientemente se cultiven cucurbitáceas (Sales et al., 2006).

En el 'Lower Río Grande' de Texas se reportaron dos especies de hongos responsables del marchitamiento súbito de la sandía: *Monosporascus eutypoides* (Petra) Arx y *M. cannonballus* Pollack & Uecker (Bruton et al., 2000). También existen informes de especies de bacterias limitadas al floema del género *Liberobacter* asociadas a este marchitamiento súbito (Bruton et al., 1998). Estudios posteriores indican que la bacteria *Serratia marcescens* (Nima) es el agente causal del marchitamiento súbito y colapso de plantas de sandía, donde el insecto *Anasa tristis* (D Geer) (Hemiptera, Coreidae) es el vector del patógeno (Bruton et al., 2003).

Investigaciones recientes realizadas por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA por sus siglas en inglés) y la Universidad de Florida indican que el agente causal del marchitamiento súbito de la sandía es causado por el *Squash vine yellowing virus* (SqVYV) transmitido por la mosca blanca, *Bemisia tabaci* biotipo B (Egel et al., 2007). También han determinado la presencia de infecciones mezcladas de SqVYV y *Papaya ringspot virus* tipo watermelon (PRSV-W). Las evidencias indican que el SqVYV ha causado severas pérdidas desde el año 2003 en el estado de Florida, donde la enfermedad progresa rápidamente e incrementa la incidencia desde 10 a más de 80% en una semana (Adkins et al., 2007). El virus PRSV ha sido relacionado con SqVYV

produciendo el marchitamiento súbito, aunque el SqVYV sólo es suficiente para ocasionar la enfermedad (Egel et. al. 2007).

Desde el año 1980, en Indiana (USA), el marchitamiento súbito afecta el cultivo de sandía. Durante ese período las pérdidas superaron el 20%. Especialmente en el año 2000, la enfermedad afectó más del 50% del área cultivada de sandía. Incluso, los síntomas de marchitamiento y muerte de plantas, se presentan en plantaciones de sandía tratadas con bromuro de metilo, y las rotaciones de cultivo no ha sido efectiva en reducir la incidencia ni la severidad de la enfermedad (Egel et al., 2000).

En Kentucky, algunos cultivos de cucurbitáceas mostraron síntomas de enanismo, mosaicos y deformación de hojas en los años 2007 y 2008. Mediante el ensayo inmunológico ligado a enzimas (ELISA) detectaron un Potyvirus diferente al *Watermelon mosaic virus* (WMV), ZYMV y PRSV. Además las plantas que presentaron estos síntomas reaccionaron negativamente a las pruebas de ELISA realizadas para otros virus que pertenecen a los géneros cucumovirus, tospovirus, comovirus, tobamovirus y nepovirus. Los investigadores indicaron que ocurre en Kentucky una raza diferente de WMV que no reacciona a las pruebas de ELISA (Vincelli et al., 2009).

En Ecuador se ha reportado esta enfermedad afectando el cultivo de sandía antes de la floración. Esta enfermedad ha causado epidemias, reduciendo considerablemente los rendimientos. Se han reportado los siguientes síntomas: aclaramiento pronunciado de venas, hojas erectas, manchas cloróticas intervenales, presentándose mayormente en los brotes nuevos de la planta (Ochoa, 2007).

En Puerto Rico, la enfermedad se observó por primera vez en el año 2004 en fincas comerciales en Santa Isabel. Las plantas de sandía presentaron decaimiento durante los meses de octubre a enero (Estévez et al., 2006). La enfermedad está asociada a temperaturas moderadas comunes durante esa época del año (Polanco et al., 2007b). En aquellas fincas donde se siembra la sandía en monocultivo, la enfermedad llega a causar pérdidas mayores al 50%, debido a que el colapso de la sandía se produce durante la época de la primera cosecha (Estévez et al., 2006).

2.2. Enfermedades virales

Las enfermedades virales son un factor limitante en la productividad de la sandía y causan pérdidas económicas en todas las zonas productoras, ya que su control es difícil (Xu et al., 2004). Alrededor de 30 virus pertenecientes a varias familias y géneros, han sido reportados infectando semillas y cultivos de cucurbitáceas en el campo (Adkins et al., 2007, Sevik et al., 2003). Los virus causan grandes pérdidas en siembras comerciales de cucurbitáceas en todo el mundo (Adkins et al., 2007). Los síntomas que presentan las plantas infectadas con virus son: mosaico, distorsiones en las hojas, reducción en tamaño del fruto, malformaciones, entre otros (Sevik et al., 2003).

La sandía es atacada por varios virus entre los cuales están: *Papaya ringspot virus* (PRSV-W), generalmente llamado *Watermelon Mosaic Virus-1* (WMV-1) (Bruton et al., 2002), el cual es transmitido por especies de áfidos (*Aphis* spp.) de manera no persistente (Agrios, 2005). Otro virus comúnmente hallado en el cultivo de sandía es el *Watermelon mosaic virus 2* (WMV-2) transmitido por áfidos (Ullman et al., 1991). También se han reportado el *Watermelon chlorotic stunt virus* (WCSV) transmitido por la mosca blanca

(*Bemisia tabaci* Gennadius) (Idris et al., 2006), el ZYMV, el cual es transmitido por áfidos (Escudero, 1992), y el *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) (Sugiyama et al., 2006). Además el SqVYV transmitido por la mosca blanca (*B. tabaci*) que en muchas ocasiones se encuentra asociado con el PRSV-W (Adkins et al., 2007).

Los vectores de virus en las plantas son taxonómicamente muy diversos y pueden ser artrópodos, hongos y/o nemátodos (Froissart et al., 2002). Entre los principales artrópodos vectores de virus en la sandía están los áfidos (*Aphis* spp.) (Sánchez et al., 2001) y los trípodos (*Thrips palmi* Karny), provocando en las plantas anillos cloróticos o necróticos, manchas en las hojas, tallos y frutos, enanismo, enrollamiento y malformaciones de frutos (Agrios, 2005). La mosca blanca (*Bemisia tabaci*), ha sido reportada transmitiendo hasta cinco virus en varios cultivos de la familia cucurbitaceae (Brown et al., 2002). En la India se ha identificado el *Pumpkin yellow mosaic virus* (PYMV) transmitido por *B. tabaci*. En California y Arizona se ha reportado el *Lettuce infectious yellow virus* (LIYV). En Estados Unidos, México y algunos países de Suramérica el *Squash leaf curl virus* (SLCV) (Zouba et al., 1998). Los virus son transmitidos cuando el vector *B. tabaci* se alimenta de las hojas, succionando la savia, ya que poseen un aparato bucal picador succionador (Molinari et al., 2007).

Otras formas de diseminación de los virus ocurre mediante semillas, polen, propagación vegetativa, medios mecánicos como heridas, herramientas de labranzas, por injerto o el roce de plantas enfermas con plantas sanas (Agrios, 2005).

2.2.1. Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV)

El ZYMV fue reportado por primera vez en 1981 en Italia y en Francia. Desde entonces se ha reportado en 22 países en cinco continentes, causando frecuentemente devastadoras epidemias, siendo la sandía particularmente afectada. El virus produce mosaicos, malformaciones, reducción de la lámina foliar, necrosis y reducción en tamaño y malformación de semillas. En los países tropicales está asociado con el WMV. El agente causal es un potyvirus con 750 nm de largo aproximadamente, conteniendo una fibra de RNA. El ZYMV es propagado por varias especies de áfidos, mecánicamente y por semillas (Zitter et al., 1998).

En siembras experimentales y comerciales, varios estudios realizados entre 1982 y 1991 en la zona sur de Puerto Rico, identificaron diferentes virus en cucurbitáceas. Entre ellos están el ZYMV, WMV-2, PRSV y SqMV (Escudero, 1992). El ZYMV fue reportado por primera vez en Puerto Rico en el año 1982, y en el 1989 destruyó alrededor de 0.14 hectáreas de melones (*Cucumis melo*), asociado al WMV-2. El ZYMV es muy común en el área de producción de vegetales al suroeste de la isla, y se encuentra comúnmente en la sandía (Escudero, 1992).

2.2.2. Papaya rinspot virus (PRSV)

El PRSV pertenece al género de los potyvirus. Este virus es transmitido de una planta a otra por varias especies de áfidos y mecánicamente. La transmisión por semillas no ha sido reportada. El PRSV-W afecta plantas en la familia cucurbitaceae en todo el mundo (You et al., 2005). PRSV puede causar mosaicos y amarillamientos en las hojas

de melón y sandía, pero los ápices de las hojas infectadas en sandía tienden a ser erectas con mosaicos. En infecciones severas en la sandía, los frutos pueden desarrollar manchas de anillos en la corteza. Las pérdidas económicas causadas por PRSV son más comunes en las zonas tropicales y subtropicales, donde se cultivan las cucurbitáceas durante todo el año y donde las especies de cucurbitáceas silvestres actúan como hospederos del virus (Horlock y Persley, 2004).

Entre los géneros de virus que se encuentran infectando las cucurbitáceas se incluyen los géneros *Begomovirus* (Brown et al., 2002), *Crinivirus* (Rubio et al., 1999), *Endornavirus* (Coutts, 2005), *Tobamovirus* (Yeon Yoon et al., 2001), *Ipomovirus* y *Potyvirus*, (Adkins et al., 2007), *Tymovirus* (Bernal et al., 2000) y *Tospovirus* (Yeh et al., 1994).

2.3. Principales enfermedades de la sandía en Puerto Rico

En Puerto Rico el sancocho de plántulas, es común en zonas de monocultivo en Santa Isabel. Se observa a los pocos días después del trasplante, cuando las plántulas se marchitan y colapsan aun cuando la humedad del suelo es la óptima para el cultivo. Se presentan lesiones en la base del tallo, las plántulas se mantienen pequeñas y débiles y las raíces jóvenes son escasas y de color marrón o negro. El sancocho de plántulas en Puerto Rico es causado comúnmente por los siguientes patógenos: *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia* sp. (Estévez et al., 2006).

Las principales enfermedades foliares son la mancha producida por *Alternaria cucumerina* Ellis & Everh. que se observa en todas las variedades cultivadas de sandía,

donde su severidad es moderada. En épocas de lluvia la severidad puede alcanzar el 50% en el área foliar (Polanco et al., 2007a). Los síntomas se presentan en las hojas maduras como pequeñas manchas amarillas que luego se agrandan hasta que las hojas mueren, afectando tanto la calidad como la cantidad de los frutos, ya que producen manchas en los frutos (Kucharek, 2000).

La mancha foliar causada por *Cercospora* es muy común en la zona suroeste de Puerto Rico, observándose en la etapa vegetativa del cultivo (Estévez et al., 2006). El agente causal es *Cercospora citrullina* Cooke y los síntomas son lesiones que surgen primero en las hojas más jóvenes, defoliación y reducción del tamaño de los frutos. Sin embargo, se reportan escasas pérdidas económicas asociadas a esta enfermedad (Zitter et al., 1998)

El añublo lanoso causado por *Pseudoperonospora cubensis* Berk. & Curtis es una enfermedad emergente en las zonas productoras de sandía en Puerto Rico. La enfermedad disminuye la producción, y se observa durante los meses de diciembre, enero y febrero. Es muy severa antes del llenado de fruto, y posterior a esta etapa no representa un problema de importancia en el cultivo (Estévez et al., 2006).

El añublo polvoriento (*Oidium* spp.) es muy común en las cucurbitáceas en las zonas productores de sandia en Puerto Rico. Esta enfermedad está relacionada con la presencia de períodos secos y temperaturas cálidas en los meses de julio y agosto. Su severidad ha aumentado en los últimos años (Estévez et al., 2006).

En Puerto Rico, el tizón gomoso es una enfermedad importante en la época lluviosa entre los meses de octubre y noviembre (Estévez et al. 2006). El agente causal es *Dydimella bryoniae* (Auersw.) y su estado asexual es *Phoma cucurbitacearum* Sacc. (Gusmini et al., 2005). Los síntomas de la enfermedad son severa defoliación y necrosis en los tallos (St. Amand et al., 1995), muerte de plántulas, manchas en las hojas, canchales en los tallos y pudriciones en los frutos (Somai et al., 2002). Las estructuras reproductivas del hongo se desarrollan en las manchas de las hojas, en el tallo y en el fruto. El hongo permanece en el suelo en residuos de las plantas infectadas (Keinath, 2002). El tizón gomoso ha ocasionado epidemias en sandía en el sureste de Estados Unidos, lo que llevó a los agricultores a abandonar las siembras antes de la cosecha (Gusmini et al., 2005).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1. Experimento de campo

3.1.1 Localización del experimento

El estudio se llevó a cabo en la Estación Experimental Agrícola (EEA) de Juana Díaz, de la Universidad de Puerto Rico (latitud N18° 01' 31" y longitud 66° 31' 34" O), con una elevación de 23 metros sobre el nivel del mar. El tipo de suelo característico de la zona es suelto, profundo con permeabilidad mediana a baja. Para la preparación del terreno se realizaron dos cortes de arado y rastrillado para luego proceder a colocar las coberturas plásticas, excepto al tratamiento 3 que fue cubierto con plásticos reflectivos de luz ultravioleta. Se instaló un sistema de riego por goteo y se realizaron aplicaciones de fertilizantes de acuerdo al análisis químico de suelo (Apéndice 1), con nitrógeno (N), fósforo (P₂O₂) y potasio (K₂O) (20-20-20) al momento de la siembra y durante la floración.

3.1.2. Temperatura y pluviometría

Se obtuvieron los índices de temperatura mensual mínima, promedio y máxima en la EEA de Juana Díaz, durante los años 2007 y 2008 (Figs. 1-2). Además se midió la precipitación en centímetros cúbicos durante el mismo período (Fig. 3).

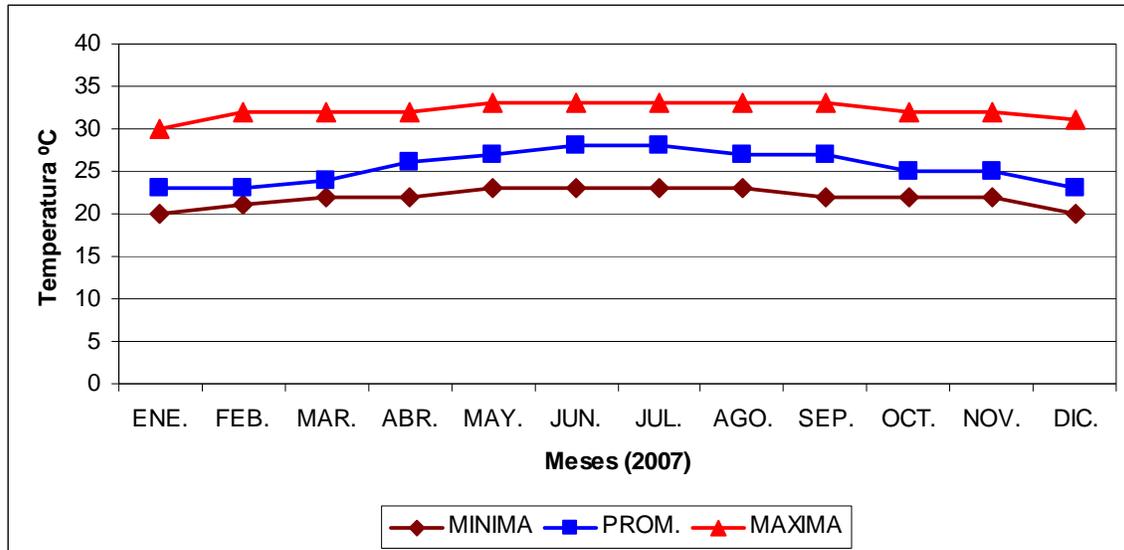


Figura 1. Temperatura mensual mínima, promedio y máxima en la EEA de Juana Díaz, P. R. durante el año 2007.

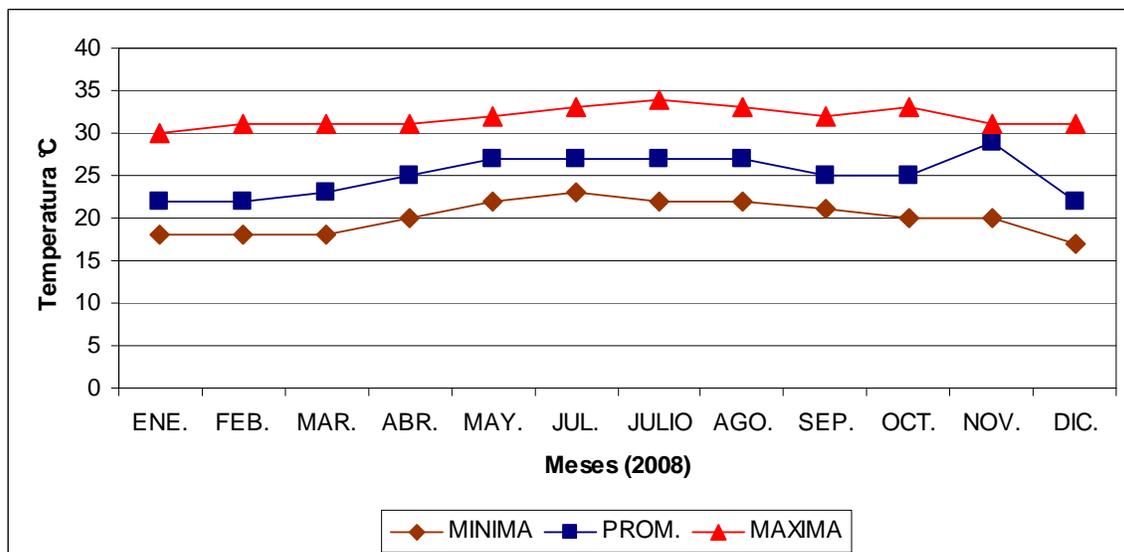


Figura 2. Temperatura mensual mínima, promedio y máxima en la EEA de Juana Díaz, P. R. durante el año 2008.

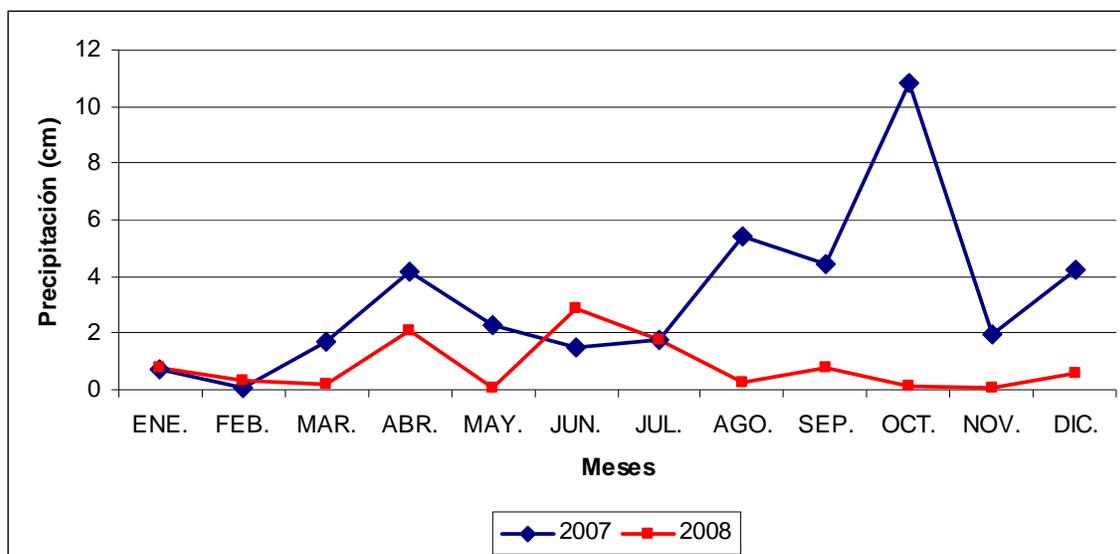


Figura 3. Precipitación mensual en centímetros cúbicos durante los años 2007 y 2008, en la EEA de Juana Díaz, P. R.

3.1.3. Descripción de los tratamientos

El experimento consistió de cinco tratamientos distribuidos en bloques completos al azar y cuatro repeticiones, para un total de 20 unidades experimentales. Los tratamientos fueron los siguientes: Tratamiento 1: Insecticidas: thiamethoxam al momento de la siembra, endosulfan cada 14 días, *Bacillus thuringiensis* cada 7 días, lannate, una aplicación a los 45 días después de la siembra para control de minadores (*Liriomiza* spp); Tratamiento 2: Insecticidas/fungicidas: se aplicó según descrito para el tratamiento 1 y para la aplicación de fungicidas se utilizó metalaxyl en el momento del transplante, luego se realizó una aplicación de mancozeb durante la primera semana, chlorotalonil a los 14 días, una aplicación de piroclostrobin a los 21 días, se realizó una aplicación de sulfato de cobre a los 28 días y a los 35 días se realizó una aplicación de thiophanate methyl; Tratamiento 3: se utilizó plástico reflectivo ultravioleta (UV Reflective Mulch) y aplicaciones de Dipel cada 14 días; Tratamiento 4: Fungicidas: se

aplicaron los fungicidas según descrito para el tratamiento 2; Tratamiento 5: ninguna aplicación (control) (Cuadro 2). En cada tratamiento se colocó una malla protectora de insectos, sostenida con tubos PVC, de 178 x 163 cm en la hilera del centro cubriendo tres plantas, también colocadas al azar, para determinar si se presentaban síntomas de marchitamiento en ausencia de vectores (Fig. 4). Dentro de las mallas se aplicó endosulfan luego del transplante.

La dimensión de cada unidad experimental fue de 6 x 5 m., con cinco hileras y diez plantas en cada una, a una distancia de 1 m entre hilera y 0.5 m entre plantas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Arreglo al azar de cinco tratamientos y cuatro bloques en el cultivo de sandía, Juana Díaz, P. R.

I	II	III	IV
5	3	4	3
3	2	1	4
4	1	2	5
1	4	5	2
2	5	3	1

Cuadro 2. Descripción de cinco tratamientos, frecuencia de aplicación y dosis de insecticidas y fungicidas en el cultivo de sandía, Juana Díaz, P. R.

Tratamientos	Ingrediente activo	Frecuencia de aplicación	Dosis del producto comercial
1. Insecticidas:	Platinum (thiamethoxam)	al transplante	60 mililitros/100 litros
	Thiodan (endosulfan)	14 días	332 mililitros/100 litros
	Dipel (<i>B. thuringiensis</i>)	7 días	120 gramos/1000 litros
	Lannate (methomyl)	1 aplicación a los 45 días	283 gramos/100 litros
	Abamectin (abamectina)	1 aplicación	62 mililitros/100litros
2. Insecticidas + Fungicidas:	según descrito para los tratamientos 1 y 4.		
3. Plásticos Reflectores:	fueron colocados antes de la siembra.		
4. Fungicidas:	Ridomil (metalaxyl)	al transplante	125 gramos/100 litros
	Manzate (mancozeb)	1ra semana	250 gramos/100 litros
	Cabrio (piraclostrobin)	2da semana	120 gramos/100 litros
	Eqqus (chorotalonil)	4ta semana	500 mililitros/100 litros
	Kocide (sulfato de cobre)	5ta semana	332 mililitros/100 litros
	Topsin (thiophanato methyl)	6ta semana	150 gramos/100 litros
5. Control:	ninguna aplicación		



Figura 4. Vista parcial del experimento donde se puede apreciar la malla colocada en la hilera del centro cubriendo 3 plantas, en los dos ensayos con los cinco tratamientos, septiembre del 2007 y febrero del 2008, Juana Díaz, P. R.

3.1.4. Experimentos de cultivares

Durante los meses comprendidos entre mayo y julio del 2007 se estableció un ensayo utilizando cuatro cultivares diploides de sandía: ‘Royal Sweet’, ‘Starbright’, Sangría, ‘Regency’ y uno triploide: ‘XR-212’. No se utilizaron aplicaciones de fungicidas ni herbicidas. El control de malezas se realizó mediante deshierbas manuales. Para el control de minadores se aplicó abamectina (187 mililitros/300 litros) a los 14 días luego del trasplante (DLT) en todas las unidades experimentales.

Se estableció una segunda siembra durante los meses de septiembre a noviembre del 2007 utilizando los mismos tratamientos, como se describe en la sección 3.1.3. Un tercer ensayo fue establecido durante los meses de febrero a abril del 2008, utilizando los tratamientos antes descritos. El último ensayo fue realizado durante los meses de abril a mayo del 2008. Los cultivares de sandía utilizadas fueron: “Royal Jubilee”, “Regency”, XR-212, “Companion” y “Royal Sweet” (Cuadro 3).

Cuadro 3. Descripción de las fecha de siembras y cosechas de sandía, durante los experimentos donde se utilizaron cinco tratamientos y cinco cultivares, Juana Díaz, P. R.

Experimentos	Fecha de siembra	Fecha de cosecha
Cultivares I	3/mayo/2007	17/julio/2007
Tratamientos I	7/septiembre/2007	9/noviembre/2007
Tratamientos II	14/febrero/2008	24/abril/2008
Cultivares II	1/abril/2008	28/mayo/2008

3.1.5. Catastro de insectos y métodos de monitoreo

Una semana posterior al trasplante se inició el catastro de insectos para determinar la población de mosca blanca, áfidos y trípodos. Todos los artrópodos identificados como vectores de virus fueron colectados y llevados al laboratorio de la EEA de Juana Díaz para su montaje e identificación.

Para determinar la dinámica poblacional de mosca blanca, áfidos y trípodos utilizando dos métodos: 1) colocando trampas pegajosas amarillas (Olson Products) de 12 x 7.5 cm adheridas a una estaca de madera a una altura de 18 cm del suelo. 2) visualmente seleccionando cinco plantas al azar (1 por hilera) de cada unidad experimental y realizando conteos. Las trampas pegajosas fueron llevadas al laboratorio para realizar el conteo de especímenes utilizando un estereoscopio (NIKON modelo SMZ645).

La colección de trípodos, se realizó tomando flores, hojas y renuevos que estuvieran infestados, se colocaban en bolsas plásticas herméticas (Ziploc®) se llevaban al laboratorio donde mediante el uso de un estereoscopio y utilizando una aguja entomológica eran sumergidos en alcohol etílico al 70% hasta el montaje. Para colectar áfidos se seleccionaban aquellas hojas que tuvieran infestadas, luego fueron colocadas en bolsas plásticas. Posteriormente se continuó el mismo procedimiento descrito para los trípodos.

3.1.6. Montaje e identificación

Para el montaje de los trípodos en laminillas, los especímenes de color claro se colocaron en hidróxido de potasio (KOH) por 40 segundos, mientras que los de tonalidad oscura se dejaron en la solución durante 1 minuto. Luego se sumergieron en alcohol etílico al 95% y después de eliminar el exceso de humedad fueron colocados en portaobjetos conteniendo una gota de Bálsamo de Canadá. Con una aguja entomológica fueron colocados boca abajo, con las alas y antenas abiertas para facilitar la identificación. Los especímenes se secaron en un horno (GE Precison Scientific modelo 805) por 48 horas a 31 °C. La identificación de los especímenes fue realizada mediante claves taxonómicas (Collins et al 2007; Medina, 1961).

Para montar los áfidos, se drenó el alcohol que los contenía y luego se calentaron en KOH por 5 segundos para evitar la ebullición. Con una aguja entomológica se perforaron en la parte inferior del abdomen para eliminar el exceso de líquido en el cuerpo, y finalmente se colocaron en un portaobjetos con Bálsamo de Canadá, considerando que las antenas, cauda, cornículos y patas quedaran extendidos (Cermeli, 1966). La identificación fue realizada basada en sus caracteres morfológicos siguiendo las claves taxonómicas para la identificación de áfidos (Smith et al. 1963; Blackman y Eastop 2000) y complementados con el sistema de diagnóstico e identificación a distancia (DDIS por sus siglas en inglés).

3.1.7. Incidencia e identificación de virus

Una semana posterior al transplante de las plantas de sandía, de edad de 21 días, se inició la evaluación de la incidencia de virus en los predios experimentales. La incidencia de enfermedades se determinó mediante el conteo del número de plantas con síntomas como clorosis, enrollamiento de hojas, ampollas en las hojas, moteados, marchites y muerte de plantas. La evaluación fue realizada semanalmente durante seis semanas DLT.

Se seleccionaron cinco hojas al azar de cinco plantas dentro de los tres surcos centrales. Las muestras fueron colocadas en bolsas plásticas herméticas y llevadas al laboratorio de la EEA de Juana Díaz para descripción de los síntomas y diagnóstico de virus. Las hojas fueron analizadas utilizando tiras serológicas [Rapid Immunofilter Paper Assay (RIPA) Agdia, IN] (Tsuda et al., 1992). Esta técnica consistió en macerar una sección de las hojas con síntomas de virus de aproximadamente 1 cm², en el amortiguador (General Buffer Solution) en una proporción de 1:5, luego se introdujo una tirilla que contiene el anticuerpo determinado para la detección de ZYMV. Esto permitió detectar la presencia de antígeno a simple vista cuando está presente en la muestra. Se utilizaron tirillas serológicas para análisis de ZYMV.

Mediante el ensayo inmunológico ligado a enzima [Enzyme Linked Immunosorbent Assay, (ELISA por sus siglas en inglés)] (PathoScreen PSA 27200/0288, Agdia, IN) se analizó la presencia de potyvirus y *Papaya Ringspot Virus* (PRSV) (PathoScreen PSA 53500/0096, Agdia, IN) (Apéndice 2). Esta técnica consistió en el uso

de una microplaca plástica con 96 orificios tratados con anticuerpos específicos para detectar los virus en las muestras. Los complejos que se formaron se observaron mediante enzimas asociadas al anticuerpo, las cuales generan una reacción de color amarillo tras añadir la solución p-nitrofenil fosfato (PNP) (Rosales, 2002) La lectura de la microplaca se realizó mediante un lector de ELISA (Biotek) con una absorbancia de 405 nanómetros.

3.1.9. Determinación de malezas hospederas

Malezas presentes en las cercanías de los experimentos y de los cultivos de sandía en predios comerciales fueron colectadas e identificadas basadas en sus caracteres morfológicos (Lugo y Semidey 2002). Se identificaron los virus presentes en las mismas mediante serología como se describe en la sección 3.1.8. Algunas malezas fueron identificadas en el herbario de la Facultad de Biología de la Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez.

3.1.10. Evaluación del marchitamiento súbito en predios comerciales

Se visitaron dos fincas comerciales de sandía localizadas en Santa Isabel, para evaluar la presencia de la enfermedad. La evaluación se inició a principio del mes de junio del 2008 y fue continuada hasta finales del mes. La primera colección de muestras y el primer monitoreo de insectos se realizó a los 35 DLT. Una muestra compuesta se colectó, tomando hojas al azar desde la base del tallo hasta el ápice. En los surcos centrales se colocaron 10 trampas pegajosas amarillas adheridas a una estaca de madera, a una altura de 18 cm del suelo. Luego de haber transcurrido 15 días, se realizó el

monitoreo de insectos y colección de muestras. Quince días más tarde se realizó otra evaluación y se colocaron trampas nuevas. Las trampas fueron llevadas al laboratorio de la EEA en Juana Díaz para realizar el conteo de especímenes utilizando un estereoscopio. Las muestras tomadas fueron procesadas siguiendo el mismo procedimiento descrito en la sección 3.1.8. Además se realizó otra evaluación en el mes de febrero del 2009 siguiendo la metodología ya descrita.

3.1.11. Transmisión mecánica con savia infectada con virus

Para realizar la inoculación mecánica en el vivero (6 de febrero del 2009), se utilizaron 18 tiestos (2 litros) conteniendo una planta de sandía cada uno. La inoculación se realizó en plántulas de 21 días previamente fertilizadas con NPK. Luego de una semana se realizó una aplicación de imidacloprid para control de insectos. El inóculo fue extraído de los tejidos de plantas infectadas naturalmente con PRSV y ZYMV, previamente identificados. En un mortero estéril y frío, se colocó una porción de tejido con síntomas virales y se le agregó buffer fosfato (con adición de sulfito de sodio 0.1%) pH 7.1, en una proporción 1: 5 (peso:volumen) según descrito por Lecoq et al., 2003. Luego utilizando un cotonete se aplicó la savia infectiva a dos segundas hojas verdaderas, previamente espolvoreada con carborundum para producirles heridas a los tejidos (Hord et al., 1997). Se inocularon cinco plántulas con savia infectada con PRSV, cinco plántulas con ZYMV, cinco fueron con PRSV y ZYMV, y diez plántulas fueron inoculadas con savia proveniente de plantas de sandía que mostraban síntomas de marchitamiento. Los controles fueron dos plantas inoculadas con buffer solamente y cinco sin inocular. La evaluación de los síntomas se inició a las 48 horas después de la

inoculación y se realizó durante 45 días. Además diez plántulas de calabaza (*Cucurbita moschata*), fueron inoculadas con tejidos de sandía infectados con ZYMV, y cinco permanecieron como el grupo control, inoculadas con buffer solamente.

En adición, una maleza de la familia Cucurbitaceae (*Cucumis dipsaceus*) desarrollada naturalmente en el campo, se inoculó con tejidos de sandía infectados con ZYMV.

Para realizar la inoculación mecánica en el campo (29 de agosto del 2008), se seleccionaron cuatro plantas de 29 días de edad las cuales fueron cubiertas con una malla desde el momento en que fueron sembradas para evitar la presencia de insectos vectores. Se seleccionaron tejidos infectados con PRSV y ZYMV para ser utilizados como inóculo, y se realizó el mismo procedimiento descrito anteriormente. Dos plantas fueron inoculadas con PRSV y una con ZYMV. Dentro de la malla se colocó una trampa pegajosa para luego observar si dentro de dicha malla penetraron algunos insectos.

3.1.12.1. Transmisión por áfidos.

Para realizar la transmisión a través de los áfidos, 33 áfidos adultos fueron colectados del cultivo de calabaza (19 de septiembre del 2008). Estos áfidos fueron liberados en cuatro plantas de sandía de 29 días, las cuales estaban en el campo protegidas con una malla, para impedir que los áfidos emigraran, o que otros vectores infectaran las plantas.

3.1.12.2. Transmisión con mosca blanca.

Se colectaron 50 adultos de mosca blanca de diferentes edades, utilizando un succionador manual, las cuales fueron obtenidas del cultivo de calabaza y liberadas en cuatro plantas de sandía cubiertas con malla en el campo (19 de septiembre del 2008). Además, en una caja de 45 x 45 x 45 cm cubierta con malla metálica, se colocaron seis plántulas de sandía de 41 días, y en dicha caja se liberaron 50 moscas blancas adultos para que se alimentaran de las plantas y pudieran transmitir virus (19 de septiembre del 2008).

3.1.14. Rendimiento

Al realizar la cosecha se determinó el rendimiento de cada unidad experimental contando y pesando los frutos al momento de recogerlos del campo. Se realizó una cosecha al final del período del cultivo, cuando los frutos alcanzaron la madurez óptima. En el segundo experimento donde se evaluaron diferentes cultivares, se procedió a cosechar cuando el marchitamiento súbito afectó las plantas. Los frutos fueron clasificados como comerciales y no comerciales, contados y pesados. Los frutos considerados comerciales, presentaron un peso de 20 libras y los no comerciales, un peso menor de 20 libras. El rendimiento se calculó en toneladas por hectárea (T/ha).

3.1.14. Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante un análisis de parcela dividida con el programa de estadísticas InfoStat/Estudiantil (Universidad de Córdoba, Argentina, 2008)

para determinar si existen diferencias entre los cinco tratamientos utilizados. Las variables a analizar fueron: las poblaciones de insectos vectores de virus, severidad de enfermedades y rendimiento. Debido a la continua presencia de ceros en el conteo de los áfidos, todos los datos de conteo de insectos fueron transformados utilizando la fórmula $\log + 1$. Las medias fueron comparadas para significancia utilizando diferencias mínimas significativas (DMS) por medio de la prueba de Tukey a un nivel de confianza $p \leq 0.05$.

4. RESULTADOS

4.1. Primer experimento utilizando cinco cultivares de sandía

4.1.1. Dinámica poblacional de insectos

El análisis de varianza (ANOVA) mostró que no hubo diferencia significativa en el número de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos durante el primer experimento con los cinco cultivares. La población total de mosca blanca durante las seis semanas evaluadas fluctuó dependiendo de la semana de muestreo (Fig. 5). El promedio de adultos de mosca blanca durante las evaluaciones fue mayor en la primera semana de muestreo, a los 7 DLT, alcanzando un promedio de 103 moscas blancas por 5 hojas y 30 por trampa, seguida por la quinta y sexta semanas, a los 35 y 42 DLT, fluctuando en las segunda, tercera y cuarta semanas (Cuadro 4).

Durante las primeras cinco semanas la población de áfidos fue nula, y en la última semana, a los 67 DLT, se promedió 1 áfido por 5 hojas. La población de áfidos difirió ($p = 0.01$) en los cultivares “Royal Sweet” y XR-212 (Fig. 6). La población total de trípidos no presentó diferencias entre cultivares. En la primera semana, a los 7 DLT, se observó la población más baja, sin embargo en la tercera, cuarta y quinta semana, a los 33 y 40 DLT respectivamente, la población aumentó, registrándose un promedio de 30 trípidos en 5 hojas y 50 por trampa, para luego disminuir en la última semana de monitoreo (Fig. 7).

Con relación a los métodos de muestreo utilizados, hubo diferencia significativa entre los métodos. Para mosca blanca el mayor número de adultos se contabilizó con el

muestreo visual. No se observaron áfidos en las trampas amarillas. En el muestreo de trípodos el método de trampa presentó un número mayor comparado con el muestreo visual (Cuadro 4).

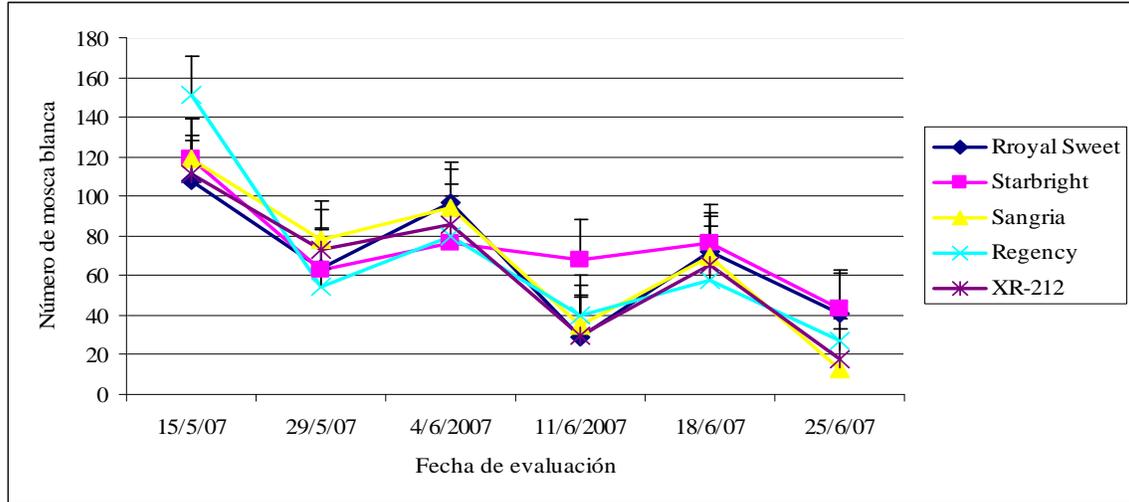


Figura 5. Dinámica poblacional de mosca blanca durante el primer ensayo con 5 cultivares de sandía, en los meses de mayo a julio 2007, Juana Díaz, P. R.

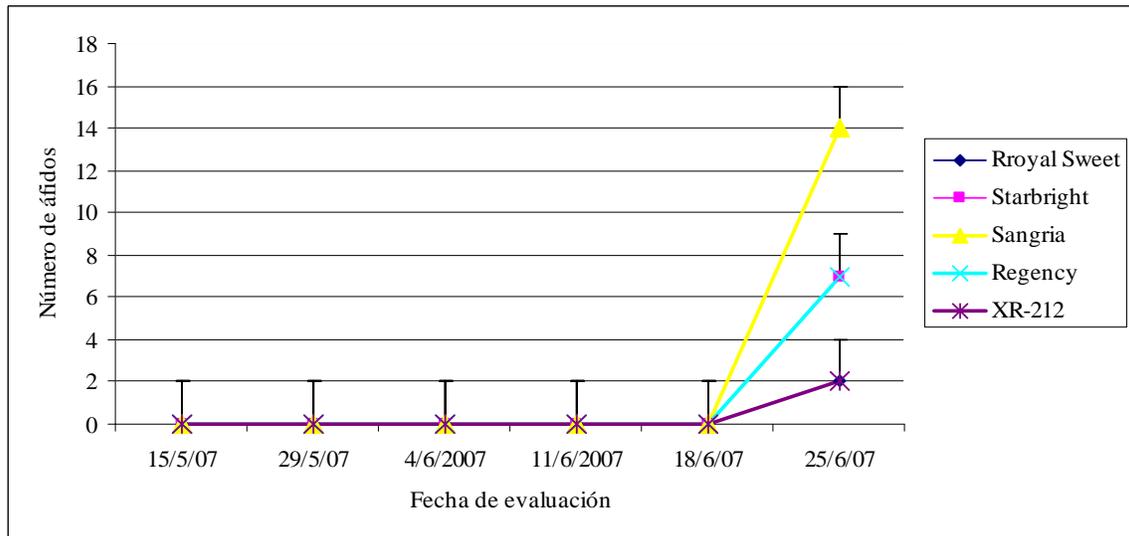


Figura 6. Dinámica poblacional de áfidos durante el primer ensayo con 5 cultivares de sandía, en los meses de mayo a julio 2007, Juana Díaz, P. R.

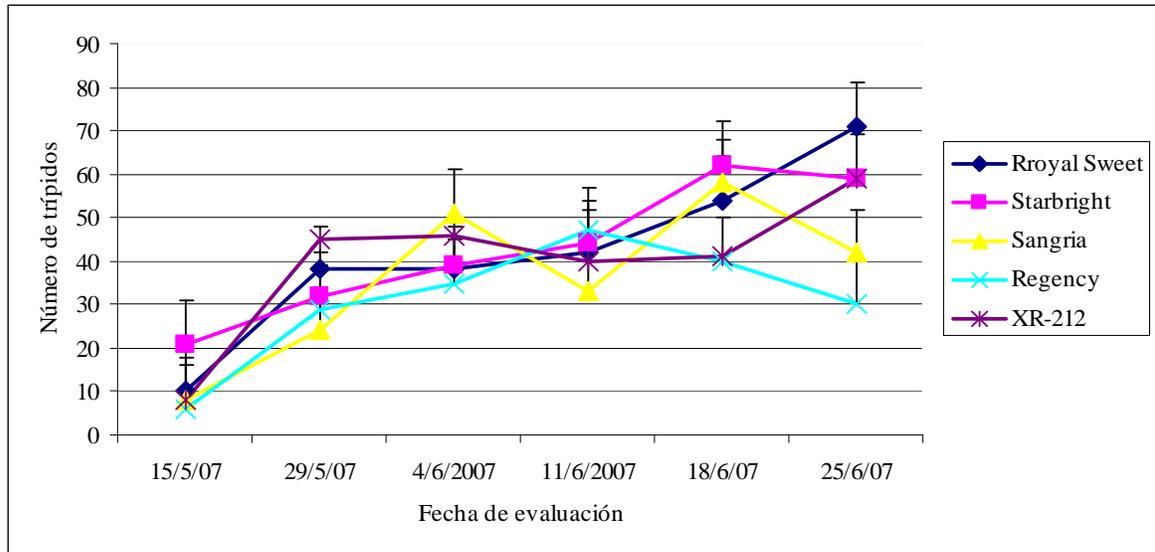


Figura 7. Dinámica poblacional de trípido durante el primer ensayo con 5 cultivares de sandía, en los meses de mayo a julio 2007, Juana Díaz, P. R.

Cuadro 4. Número promedio de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos utilizando dos método de muestreo: visual y trampa, durante el primer ensayo con cinco cultivares, en los meses de mayo a julio de 2007, Juana Díaz, P. R.

Semana de maestreó	Visual			Trampa		
	Mosca blanca	Áfidos	Trípidos	Mosca Blanca	Áfidos	Trípidos
1	103.7 a	0.0 a	1.7 a	30.4 a	0.0 a	0.8 a
2	18.6 b	0.0 a	5.5 a	16.6 a	0.0 a	2.6 a
3	23.0 b	0.0 a	26.8 b	28.2 a	0.0 a	43.2 b
4	22.3 b	0.0 a	30.5 b	18.1 a	0.0 a	50.8 b
5	76.2 c	0.0 a	23.0 b	30.2 a	0.0 a	33.3 b
6	34.1 d	0.2 a	18.0 b	50.6 b	0.0 a	23.1 c

Letras distintas en la misma columna indican diferencias $p < 0.05$.

4.1.2. Incidencia de virus y análisis serológico

Durante el experimento, no se observaron síntomas de virus durante las primeras etapas de desarrollo del cultivo, evidenciado por las pruebas serológicas que resultaron negativas para ZYMV a los 27, 40, 61 y 75 DLT para los cinco cultivares evaluados. Igualmente, las muestras analizadas para potyvirus a los 39 DLT, fueron negativas en esta prueba. Sin embargo a los 75 DLT, los cultivares “Royal Sweet”, Sangría, “Regency” y el híbrido XR-212 fueron positivos para potyvirus, exceptuando el cultivar “Starbrighth”. Para esa misma época de muestreo las muestras analizadas para PRSV resultaron positivas en todos los cultivares. Las plantas no fueron afectadas por marchitamiento súbito. Los resultados indicaron que el 21% de las muestras estaban infectadas con potyvirus, 0% con ZYMV y 79% con PRSV (Cuadro 5).

Cuadro 5. Resultados de las pruebas serológicas realizadas a los experimentos de sandía para Zucchini yellow mosaic virus, Papaya ringspot virus y potyvirus, Juana Díaz, P. R.

B/T	Tratamientos I			Tratamientos II			Cultivares I			Cultivares II		
	ZYMV	PRSV	POTY	ZYMV	PRSV	POTY	ZYMV	PRSV	POTY	ZYMV	PRSV	POTY
I 1	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
I 2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
I 3	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
I 4	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+
I 5	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
II 1	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
II 2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
II 3	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+
II 4	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+
II 5	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+
III 1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
III 2	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
III 3	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
III 4	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
III 5	+	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
IV 1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
IV 2	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
IV 3	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
IV 4	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	+
IV 5	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+
PM1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PM2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PM3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PM4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tratamientos I: primer ensayo utilizando cinco tratamientos.
 Tratamientos II: segundo ensayo utilizando cinco tratamientos.
 Cultivares I: primer ensayo utilizando cinco cultivares.
 Cultivares II: segundo ensayo utilizando cinco cultivares.
 - = la muestra fue negativa a la prueba serológica.
 + = la muestra fue positiva a la prueba serológica.
 B/T= Bloque/ tratamiento
 PM=Plantas protegidas con malla.

4.1.3. Rendimiento

Diferencias altamente significativas fueron encontradas para el rendimiento entre los diferentes cultivares ($p \leq 0.05$). La cosecha se realizó a los 75 días después del transplante. De los resultados obtenidos el mayor rendimiento de frutos comerciales, se obtuvo con el cultivar “Starbright” (240 T/ha), seguido por el cultivar Royal Sweet (205 T/ha.). No presentaron diferencias ($p \leq 0.05$) entre las variedades Sangría y ‘Regency’ con 146 T/ha y 149 T/ha respectivamente. El cultivar XR 212 obtuvo el rendimiento más bajo (57 T/ha) comparado con los otros cultivares (Fig. 8).

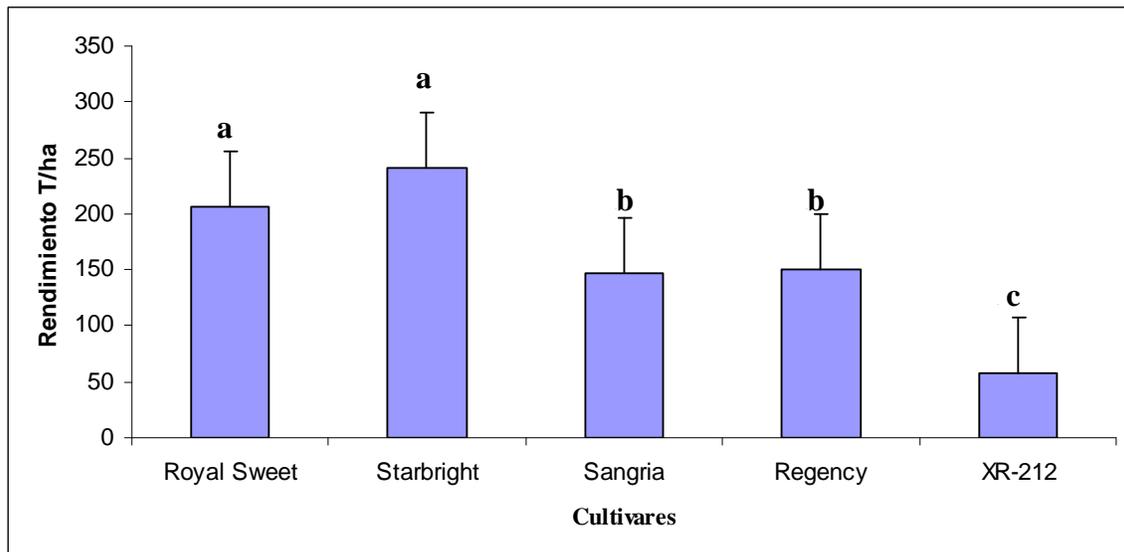


Figura 8. Rendimiento de cinco cultivares de sandía, en julio del 2007, Juana Díaz, P. R.

4.2. Primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos

4.2.1 Dinámica poblacional

En el primer experimento establecido en el mes de septiembre 2007, el número de insectos presentes fue bajo y no se detectaron diferencias ($p \leq 0.05$) entre tratamientos para la población de mosca blanca, áfidos y trípidos. El número de los diferentes insectos adultos presentes en todos los tratamientos fue similar (Cuadro 6). Sin embargo el número promedio de insectos varió dependiendo de la semana de evaluación. La población más alta de mosca blanca se observó en la quinta semana de evaluación, a los y 49 DLT, con un promedio de 5 moscas en 5 hojas y 3 por trampa (Fig. 9). En relación a la población de áfidos no hubo presencia de éstos durante las primeras evaluaciones en ninguno de los dos métodos utilizados. Sin embargo durante la última semana, hubo un promedio de 3 áfidos por 5 hojas y 0 por trampa (Fig. 10). En cambio, la población de los trípidos aumentó a partir de la primera semana hasta la sexta donde se observó el promedio más alto de 8 trípidos por 5 hojas y 26 por trampa, siendo el método de las trampas donde se contabilizó el número más alto de trípidos (Fig.11).

El método de muestreo visual resultó más efectivo ($p \leq 0.05$) que el método de las trampas pegajosas para evaluar el número de adultos de mosca blanca. En la evaluación de áfidos no hubo diferencia ($p \leq 0.05$) entre los métodos utilizados. Con relación a los trípidos, hubo diferencia significativa con los métodos utilizados, siendo las trampas amarillas donde se observó la población más alta de especímenes (Cuadro 6).

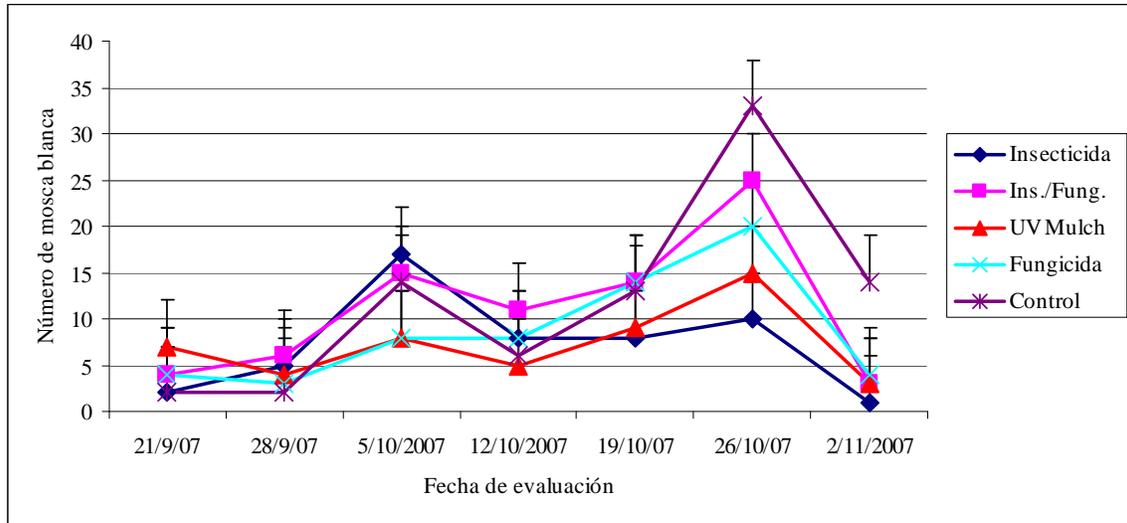


Figura 9. Dinámica poblacional de mosca blanca durante el primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos en los meses septiembre a noviembre del 2007, Juana Díaz, P. R.

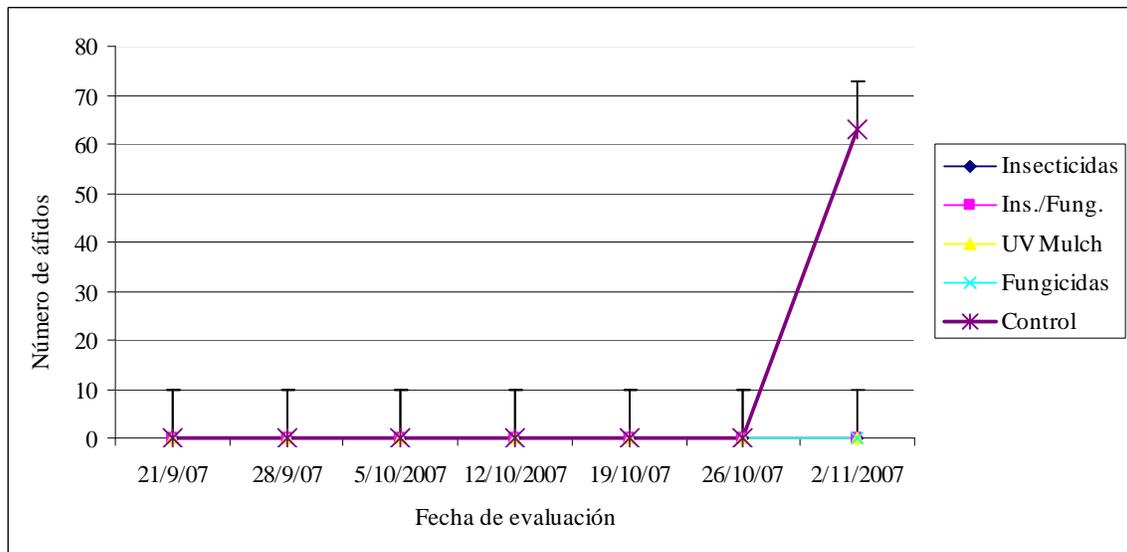


Figura 10. Dinámica poblacional de mosca blanca durante el primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos en los meses septiembre a noviembre del 2007, Juana Díaz, P. R.

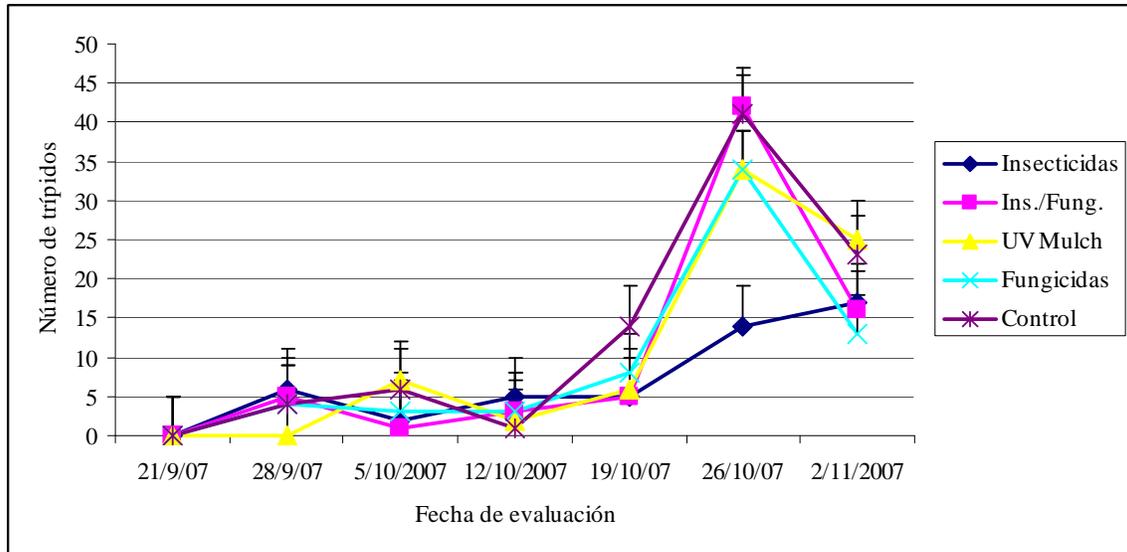


Figura 11. Dinámica poblacional de trips durante el primer ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos en los meses septiembre a noviembre del 2007, Juana Díaz, P. R.

Cuadro 6. Número promedio de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos utilizando dos métodos de muestreo: visual y trampa, durante el primer ensayo con cinco tratamientos en los meses de septiembre a noviembre de 2007, Juana Díaz, P. R.

Semana de muestreo	Visual			Trampa		
	Mosca blanca	Áfidos	Trípidos	Mosca Blanca	Áfidos	Trípidos
1	0.9 a	0.0 a	0.0 a	0.4 a	0.0 a	1.1 a
2	1.0 a	0.0 a	0.9 a	0.8 a	0.0 a	1.8 a
3	3.1 b	0.0 a	0.9 a	1.1 a	0.0 a	3.0 a
4	1.9 b	0.0 a	0.7 a	0.4 a	0.0 a	5.0 a
5	2.9 b	0.0 a	1.9 a	6.0 b	0.0 a	6.3 a
6	5.1 c	3.1 b	8.2 b	3.9 c	0.0 a	26.0 b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias $p < 0.05$.

4.2.2. Incidencia de virus y análisis serológico

Durante el ciclo del cultivo en los meses de septiembre a octubre, en los muestreos realizados a los 14, 21, 28, 35, 42 días DLT, las plantas de sandía no mostraron síntomas de virus, y ninguna de las muestras fue positiva para los virus analizados. A los 49 días DLT se observaron síntomas de enrollamiento y deformación de hojas, clorosis, y amarillamiento de venas (Fig. 12). En esta etapa, todas las muestras fueron positivas para ZYMV en los diferentes tratamientos, excepto el tratamiento con aplicación de insecticida que fue negativo para este virus. La presencia de síntomas de marchitamiento de plantas fue evidente desde los 50 DLT. Una semana posterior se observó que las plantas continuaron marchitándose y muriendo. Las muestras analizadas a los 61 DLT para PRSV fueron positivas en todos los tratamientos, pero no en todas las repeticiones. Todas las muestras que mostraron ser negativas a esta prueba fueron analizadas para determinar presencia de potyvirus, las cuales resultaron positivas para los tratamientos 3 y 4. Las muestras tomadas debajo de las mallas fueron negativas para los virus analizados (Cuadro 5). En este ensayo el 76% de las muestras estaban infectadas con potyvirus, 34% con PRSV y 62% con ZYMV.

4.2.3. Rendimiento

La cosecha se realizó a los 61 DLT, debido a la presencia del marchitamiento súbito de la sandía. No hubo diferencia entre tratamientos ($p \leq 0.05$), siendo la diferencia mínima significativa de 39.82 en la prueba Tukey ($P \leq 0.05$). Sin embargo el tratamiento con aplicación de insecticidas y fungicidas registró el rendimiento más alto (76 T/ha) en

comparación con el control sin aplicación de fungicidas e insecticidas el cual tuvo un rendimiento de 46 T/ha (Fig. 12).

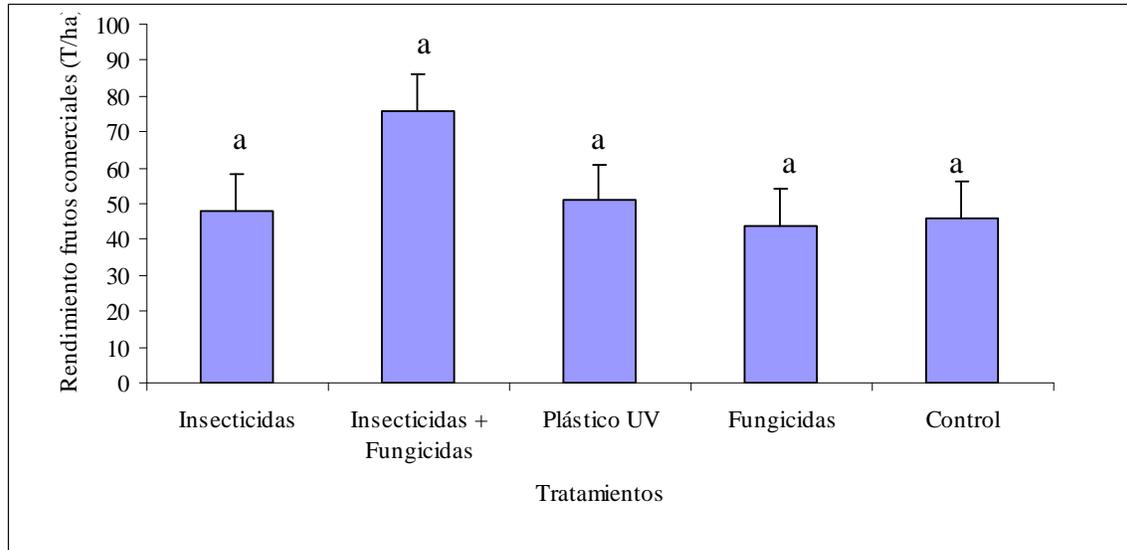


Figura 12. Rendimiento de frutos comerciales en el primer ensayo con aplicación de insecticidas y fungicidas en comparación con el plástico reflectivo y sin aplicaciones de químicos en sandía, en el mes de noviembre del 2007, Juana Díaz, P. R.

4.3. Segundo ensayo con sandía utilizando cinco tratamientos

4.3.1. Dinámica poblacional

En el ensayo establecido durante los meses de febrero a abril del 2008 con los cinco tratamientos, la población de insectos fue variada, fluctuando durante las seis semanas evaluadas. La población de mosca blanca en la primera semana de evaluación fue baja, con un promedio de 2 adultos por 5 hojas y 3 por trampa. Durante la segunda semana se mantuvo similar y continuó en promedio igual hasta la última semana de evaluación. Se registró un promedio de 2 adultos por el método visual y uno por trampa

(Fig. 13). La población de áfidos fue baja en la primera evaluación, aumentando en la cuarta y quinta semanas, donde hubo un promedio de 35 áfidos por 5 hojas. En la cuarta semana se observaron 4 áfidos en una sola trampa, y en la quinta semana, 1 áfido en una trampa (Fig. 14). Los trípodos fueron aumentando moderadamente a partir de la primera semana hasta la última semana de evaluación, con un promedio de 4 trípodos por 5 hojas y 2 por trampa (Figura 15). Hubo diferencias ($p < 0.05$) entre los métodos utilizados en el muestreo de mosca blanca, presentándose el mayor número con el método visual. Igualmente hubo diferencias significativas con los métodos en la evaluación de áfidos, siendo el método visual el más efectivo. No hubo diferencia en los métodos de evaluación de trípodos (Cuadro 7).

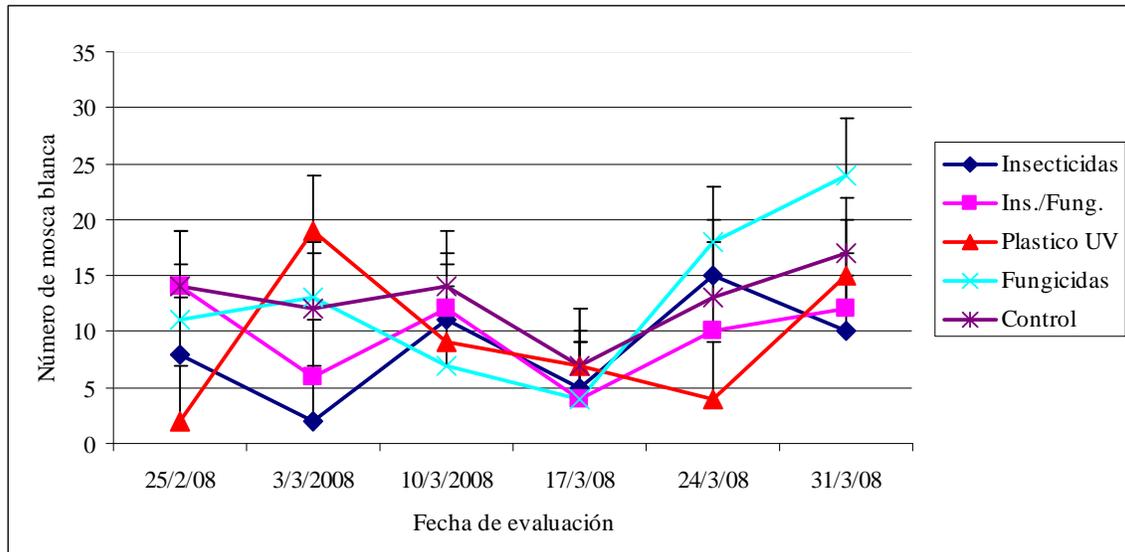


Figura 13. Dinámica poblacional de mosca blanca durante el segundo experimento con cinco tratamientos, en los meses de febrero a abril del 2008, Juana Díaz, P. R.

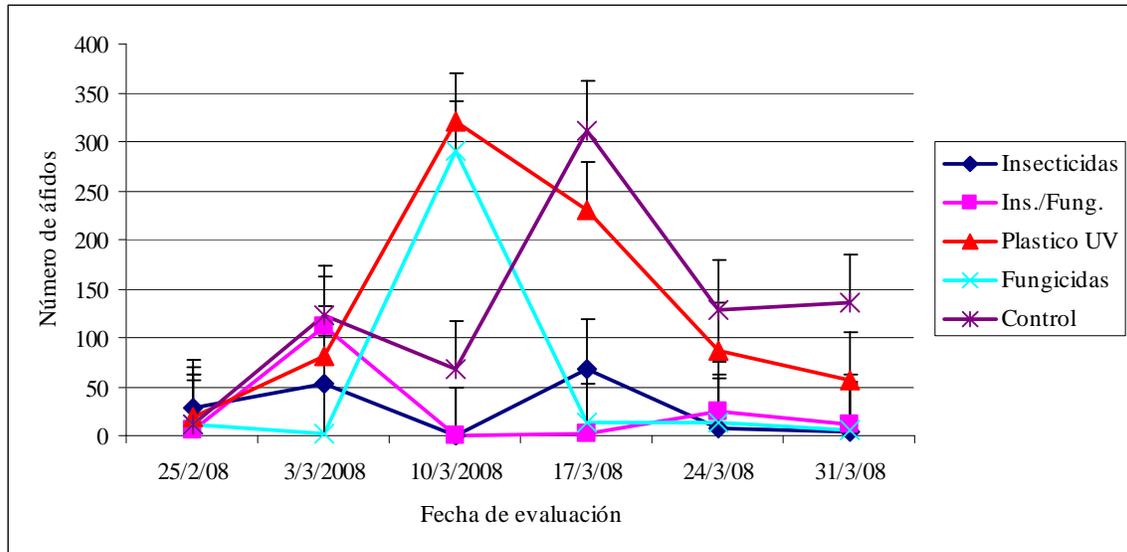


Figura 14. Dinámica poblacional de áfidos durante el segundo experimento con cinco tratamientos, en los meses de febrero a abril del 2008, Juana Díaz, P. R.

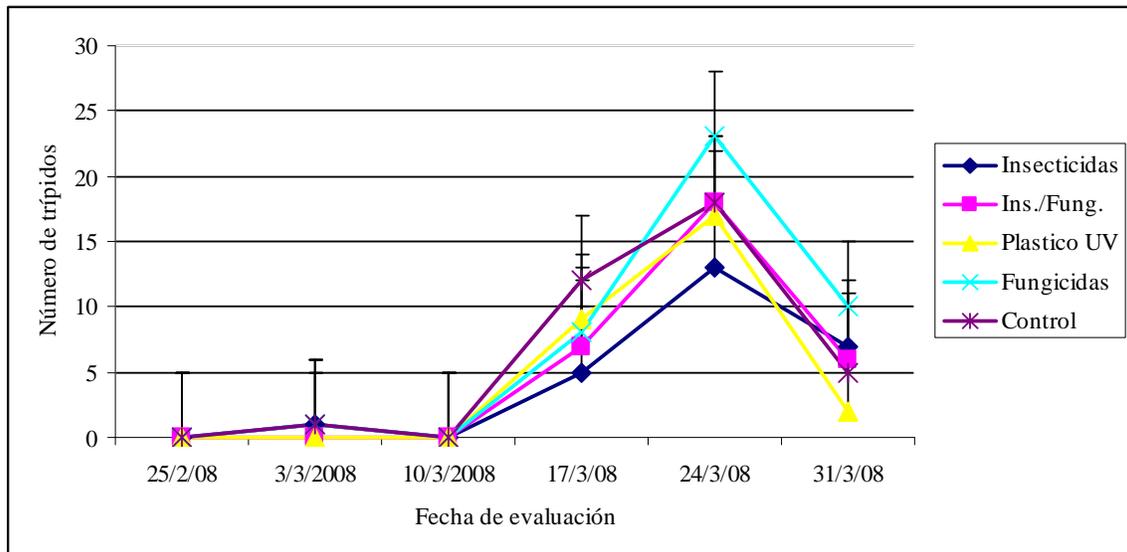


Figura 15. Dinámica poblacional de tripsidos durante el segundo experimento con cinco tratamientos, en los meses de febrero a abril del 2008, Juana Díaz, P. R.

Cuadro 7. Número promedio de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos utilizando dos métodos de muestreo: visual y trampa, durante el segundo experimento con cinco tratamientos, en los meses de febrero a abril de 2008, Juana Díaz, P. R.

Semana de muestreo	Visual			Trampa		
	Mosca blanca	Áfidos	Trípidos	Mosca Blanca	Áfidos	Trípidos
1	2.3 a	2.4 a	0.0 a	0.2 a	0.0 a	0.0 a
2	2.5 a	20.0 a	0.9 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a
3	2.5 a	18.0 a	0.0 a	0.0 a	0.0 a	0.7 a
4	1.3 a	33.9 a	2.0 b	0.0 a	0.2 a	0.1 a
5	1.9 a	35.8 a	4.4 c	1.1 a	0.1 a	2.4 b
6	2.2 a	13.2 b	1.5 d	1.6 b	0.0 a	2.4 b

Letras distintas en la misma columna indican diferencias $p < 0.05$.

4.3.2. Incidencia de virus y análisis serológico

A los 32 DLT (17/3/08) algunas plantas comenzaron a mostrar síntomas de virus: clorosis, enrollamiento y deformación de hojas. Para esa fecha se promediaba una planta con síntomas por unidad experimental. Los síntomas progresaron y se observaron ampollas en las hojas, hojas erectas y necrosis entre nudo (Fig. 16). En la última semana de evaluación se promedió siete plantas con síntomas de virus por unidad experimental y dos plantas muertas en el control. El marchitamiento súbito no fue severo en este ensayo. El análisis de regresión lineal no mostró una relación directa entre el número de adultos de mosca blanca y áfidos y la incidencia de plantas con virus, sin embargo si hubo una correlación con los trípidos (Apéndice 3).

Las muestras colectadas a los 51 DLT, resultaron positivas para PRSV en todos los tratamientos, pero no en todas las repeticiones. Para esa misma fecha las muestras analizadas resultaron positivas para ZYMV en todos los tratamientos, excepto el tratamiento con insecticidas (Cuadro 5). El 17% de las muestras estuvieron infectadas con potyvirus, 38% con ZYMV y 29% con PRSV.



Figura 16. Síntomas observados en plantas de sandía en el campo. A. clorosis en los bordes de las hojas. B. enrollamiento hacia arriba. C. deformación de hojas. D. Moteado. E. Amarillamiento de venas. F. Necrosis entre nudos. G. Plantas muertas y frutos pequeños (el pedúnculo se seca, lo que impide que los frutos alcancen su tamaño comercial). H. Hojas erectas y ampollas.

4.3.3. Rendimiento

A los 70 DLT, en el rendimiento no se observó diferencia entre tratamientos. Sin embargo, el tratamiento en el cual se aplicó fungicidas presentó el rendimiento más alto (140 T/ha) en comparación con el control que produjo 106 T/ha. El tratamiento con cobertura plástica reflectiva tuvo rendimiento similar a los tratamientos con aplicación de insecticidas y fungicidas (Figura 17).

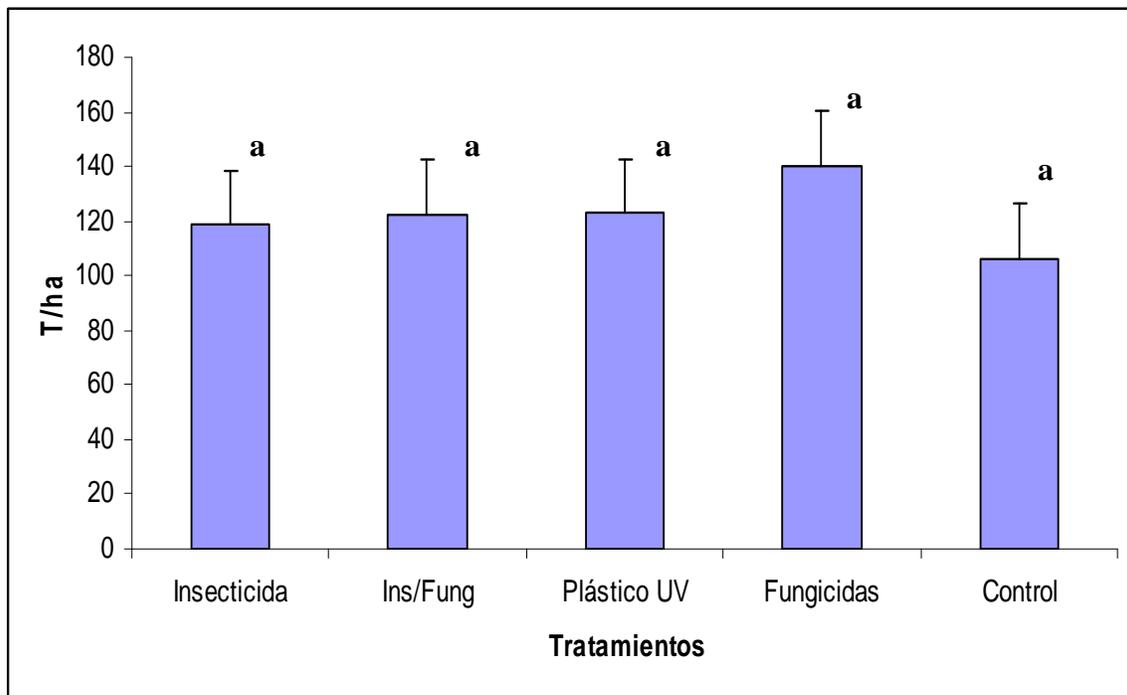


Figura 17. Rendimiento durante el segundo experimento con cinco tratamientos en sandía, Juana Díaz, Puerto Rico

4.4. Segundo ensayo utilizando cinco cultivares de sandía

4.4.1. Dinámica poblacional

En el ensayo establecido durante los meses de abril a mayo del 2008 con los cinco cultivares no se encontró diferencia en la población de mosca blanca, áfidos y trípidos entre los diferentes cultivares. Sin embargo la población de los insectos fluctuó dependiendo de las semanas de monitoreo. La población más alta de mosca blanca se observó en la cuarta semana de evaluación, promediándose 17 mosca blanca por 5 hojas y 18 por trampa y disminuyó en la última semana (Fig. 18). En cuanto a los áfidos, la población fue más alta en la primera semana de evaluación, siendo el promedio de 24 áfidos por 5 cinco hojas y 0 por trampa (Fig. 19). Con relación a los trípidos, la población más alta se obtuvo con el método visual en la cuarta semana, con un promedio de 11 trípidos en 5 hojas y en la quinta semana de evaluación la población promedió 7 trípidos por 5 hojas y 55 por trampa (Fig. 20).

Al comparar los métodos de monitoreo evaluados en cinco diferentes cultivares, el método con el cual se obtuvieron la mayor cantidad de adultos de mosca blanca fue con las trampas amarillas. Las poblaciones de áfidos observadas difirieron ($p < 0.05$) entre métodos de monitoreo, siendo el método visual con el cual se promedió el mayor número. En la evaluación de trípidos hubo diferencia altamente significativa, promediándose el número más alto con las trampas, en comparación al método visual (Cuadro 8).

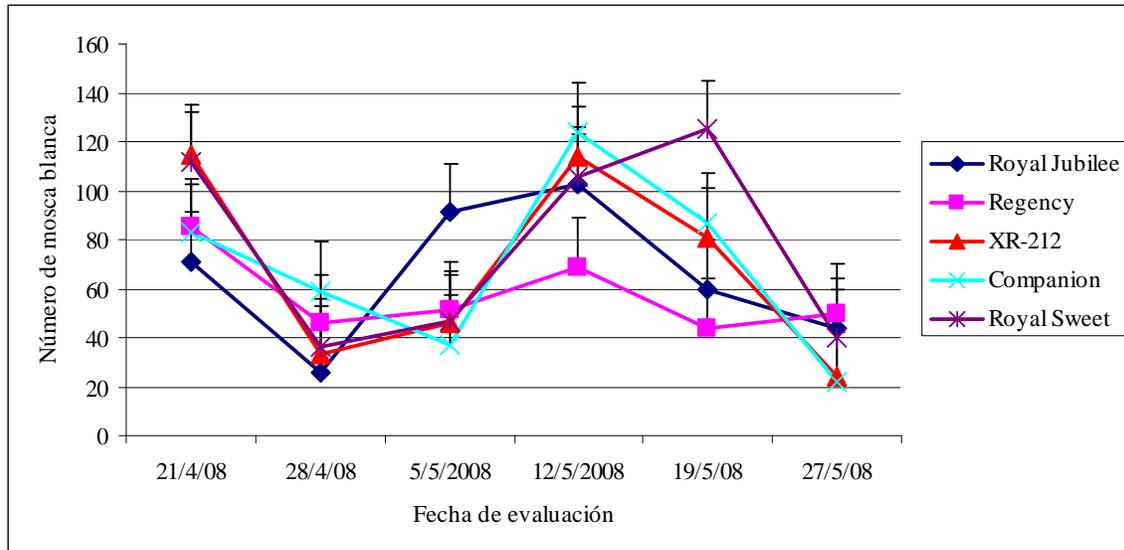


Figura 18. Dinámica poblacional de mosca blanca durante el segundo experimento con cinco cultivares en los meses de abril a mayo del 2009, Juana Díaz, P.R.

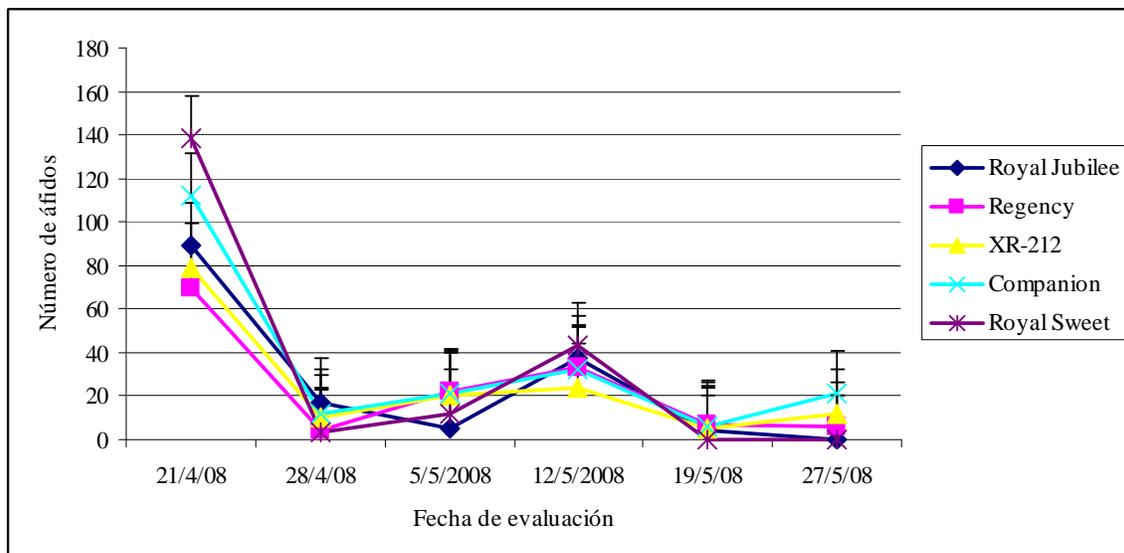


Figura 19. Dinámica poblacional de áfidos durante el segundo experimento con cinco cultivares en los meses de abril a mayo del 2009, Juana Díaz, P.R.

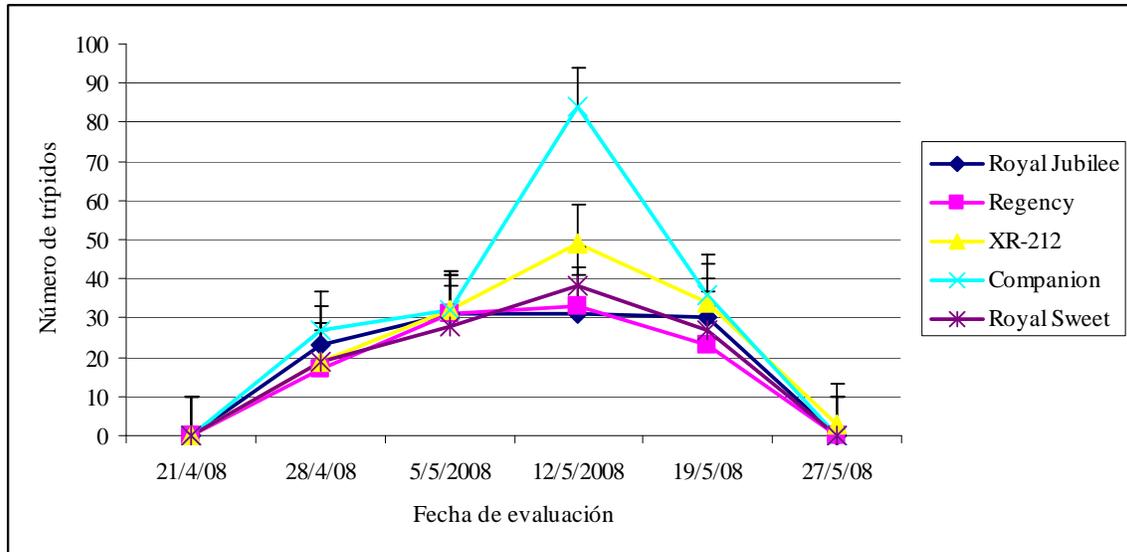


Figura 20. Dinámica poblacional de tripsidos durante el segundo experimento con cinco cultivares en los meses de abril a mayo del 2009, Juana Díaz, P.R.

Cuadro 8. Número promedio de adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos utilizando dos métodos de muestreo: visual y trampa, durante el segundo experimento con cinco cultivares en los meses de abril a mayo de 2009., Juana Díaz, P. R.

Semana de muestreo	Visual			Trampa		
	Mosca blanca	Áfidos	Trípidos	Mosca Blanca	Áfidos	Trípidos
1	17.7 a	24.0 a	0.4 a	18.2 a	0.0 a	6.2 a
2	5.1 b	5.9 b	5.2 b	0.0 a	0.0 a	10.1 a
3	5.8 b	4.0 b	7.7 b	0.0 a	0.0 a	9.1 a
4	7.5 b	11.4 b	11.7 c	0.0 a	3.2 a	21.0 b
5	0.8 c	1.1 b	7.5 d	1.1 b	0.0 a	55.2 c
6	0.1 c	1.9 b	0.1 e	1.6 b	0.0 a	28.7 d

Letras distintas en la misma columna indican diferencias $p < 0.05$.

4.4.2. Incidencia de virus y análisis serológico

A partir de los 21 DLT se observaron síntomas iniciales de virus en las plantas: enrollamiento de hojas y distorsiones en los bordes. Los síntomas progresaron hasta observarse falta de vigor de las plantas, hojas pequeñas y una general disminución del crecimiento de las plantas. Desde los 40 a 45 DDT se inició la marchites de las ramas progresando hasta la muerte de las plantas (Figura 11). La incidencia de plantas con virus para esta misma fecha fue de una planta con síntoma por unidad experimental. A los 28 DLT se promediaba 4 plantas con síntomas; a los 35 DLT, 14 plantas. A los 42 DLT comenzaron a observarse plantas marchitas y muertas (Fig. 21), esta muerte fue progresiva a medida que transcurrían los días. A los 49 DLT se promediaba 13 plantas muertas por unidad experimental. En este experimento el análisis de correlación no hubo una relación directa entre el número de insectos y el número de plantas infectadas con virus, excepto con los trípodos.

En la prueba ELISA, las muestras analizadas a los 28 DLT resultaron positivas para ZYMV y a los 30 DLT se identificó a PRSV. Las repeticiones que no mostraron presencia de PRSV fueron analizadas para potyvirus. De las 20 unidades experimentales, 10 de las cuales fueron positivas para ZYMV, 10 resultaron positivas para PRSV, y 5 coinfectadas con ambos virus. De aquellas repeticiones que fueron negativas para ZYMV y PRSV, sólo 2 resultaron positivas para potyvirus, siendo las repeticiones 1 y 4, correspondiendo ambas al cultivar “Companion” (Cuadro 5). El 58% de las muestras mostró presencia de ZYMV y el 42% de PRSV.



Figura 21. Parcela experimental afectada por el marchitamiento súbito mostrando muerte generalizada de plantas, Juana Díaz, P. R.

4.4.3. Rendimiento

No hubo diferencia significativa entre cultivares en la producción de frutos comerciales. Todos los cultivares por igual fueron afectados severamente por la enfermedad a los 57 DLT (Fig. 21). El cultivar “Royal Jubilee” produjo ocho frutos comerciales (2.53 T/ha). Los cultivares “Regency” y “Royal Sweet” produjeron cinco frutos comerciales cada uno (1.59 y 0.53 T/ha respectivamente), y los cultivares XR-212 y “Companion” no produjeron ningún fruto comercial (Fig. 22). Es importante anotar que el cultivar XR-212 es un triploide y “Companion” es un cultivar polinizador.

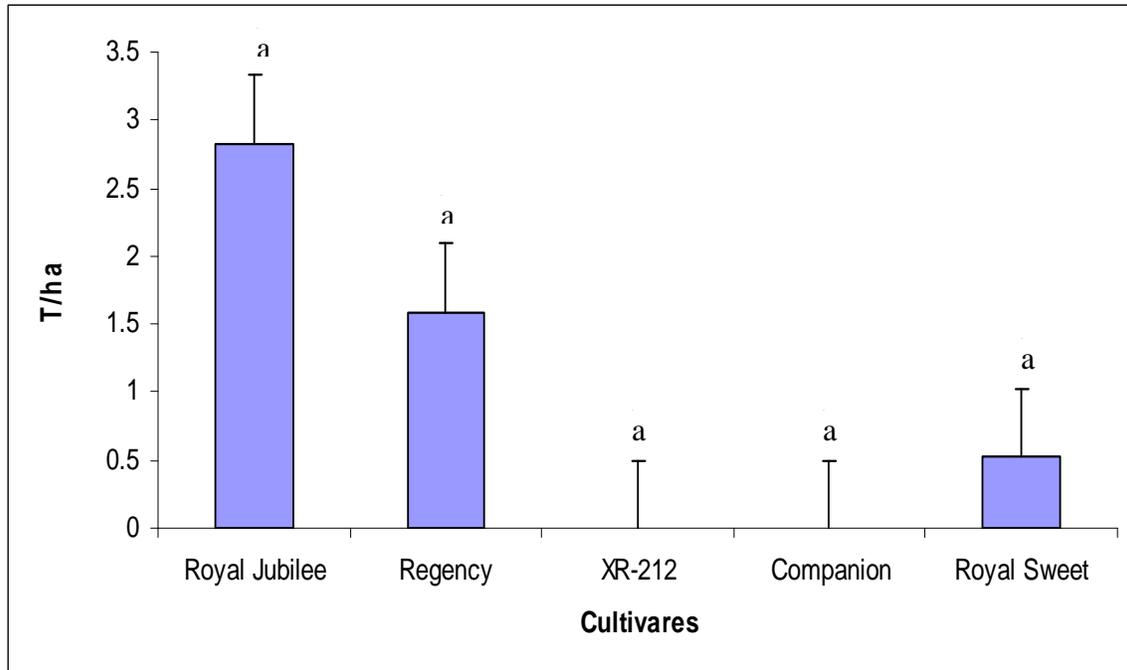


Figura 22. Rendimiento durante el segundo experimento con cinco cultivares en sandía, en el mes de mayo del 2008, Juana Díaz, Puerto Rico.

4.5. Identificación de insectos vectores

En los catastros realizados en los experimentos de Juana Díaz, se observaron ninfas y adultos de mosca blanca, áfidos y trípidos (estos fueron identificados por sus características morfológicas). Fueron identificados los géneros pertenecientes a *Bemisia tabaci*, *Aphis gossypii*, *Thrips palmi* y *Frankliniella* spp.

4.5.1 *Bemisia tabaci*

En los primeros tres estadios de *B. tabaci*, las ninfas son de color amarillo transparente, de forma ovalada. Los adultos miden aproximadamente 1 mm, son de color blanco y cuando están en reposo permanecen con las alas plegadas. Ponen los huevos en el envés de las hojas (Fig. 23).

4.5.2. *Aphis gossypii*

Esta especie tiene un tamaño promedio de 0.98 mm de largo y 0.57 mm de ancho. Las larvas y adultos son de color amarillo pálido. Ápteros, vivíparos. Sifúnculos más oscuros que el color del cuerpo. Cauda en forma de lengua con tres pares de pelos, más clara que el sifúnculo (Fig. 23).

4.5.3. *Thrips palmi*

Los especímenes adultos son de color amarillo. Largo del cuerpo 1.4 mm. Largo de las alas: 0.06 mm. Setas ocelares fuera del triángulo ocelar. Terguito abdominal II con 4 setas laterales. Terguito abdominal III: 4 setas laterales. En el terguito abdominal VIII poseen un peine completo. Siete segmentos antenales con conos sensoriales. Tres setas discontinuas en las alas (Fig. 23).

4.5.4. *Frankliniella* spp.

Los adultos son de color marrón, la cabeza es ligeramente más ancha que larga, 7 segmentos antenales, los segmentos 3 y 4 tienen conos bifurcados, (Fig. 23).

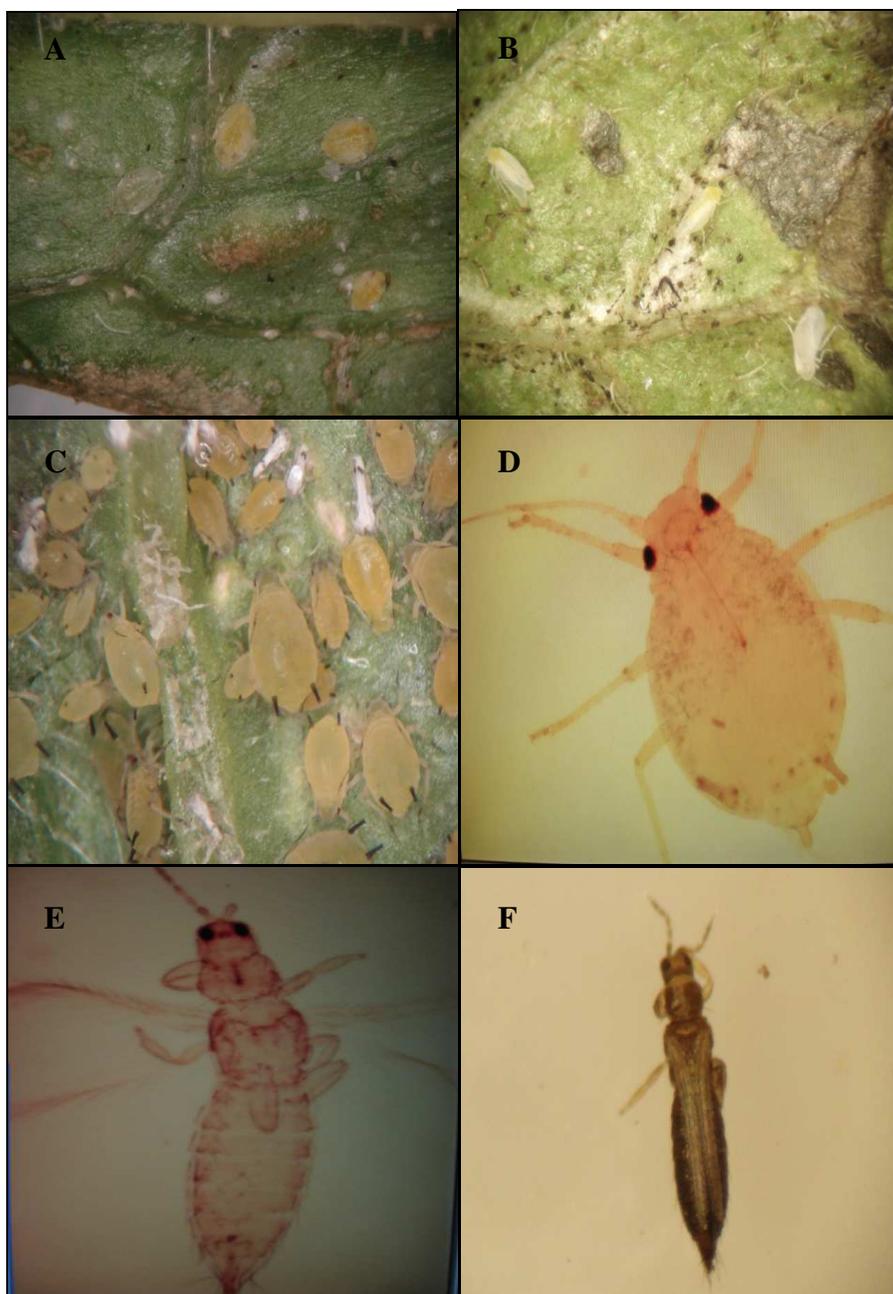


Figura 23. Insectos identificados en los ensayos de sandía. A. Ninfas de mosca blanca. B. Moscas blancas adultos. C. Colonias de áfidos en hojas de sandía. D. *Aphis gossypii*. E. *Thrips palmi*. F. *Frankliniella* spp.

4. 6. Determinación de malezas hospederas

Se identificaron las siguientes especies de cucurbitáceas: *Momordica charantia* L., *Cucumis anguria* L. y *Cucumis dipsaceus* Ehrenb en la EEA de Juana Díaz, en las cercanías al experimento (Fig. 24). *Momordica charantia* no presentó ningún síntoma viral evidente, y fue negativa para ZYMV, PRSV y potyvirus. En cambio *C. anguria* presentó hojas pequeñas y clorosis y el análisis serológico fue positivo a ZYMV, PRSV y potyvirus. *Cucumis dipsaceus* presentó clorosis y ampollas en las hojas y fue positiva a ZYMV y PRSV. Otras especies identificadas fueron: *Amaranthus dubius*, *Bastardia viscosa*, *Cardiospermum halicacabum*, *Cissus verticellata*, *Cyperus rotundus*, *Echinochloa colona*, *Ipomea ochracea*, *Ipomea trifolia*, *Merremia umbellata*, *Parthenium hysterophorus*, *Portulaca oleracea* y *Tianthemis portulacatrum* (Fig. 25). Se realizaron dos colecciones de estas malezas, y los análisis realizados para detectar ZYMV, fueron negativos en todas las muestras. De todas estas especies solamente *C. verticellata* fue positiva a potyvirus. *Ipomea ochracea*, *I. trifolia* y *M. umbellata*, fueron positivas a PRSV, aunque éstas malezas no mostraron ningún síntoma viral (Cuadro 9).

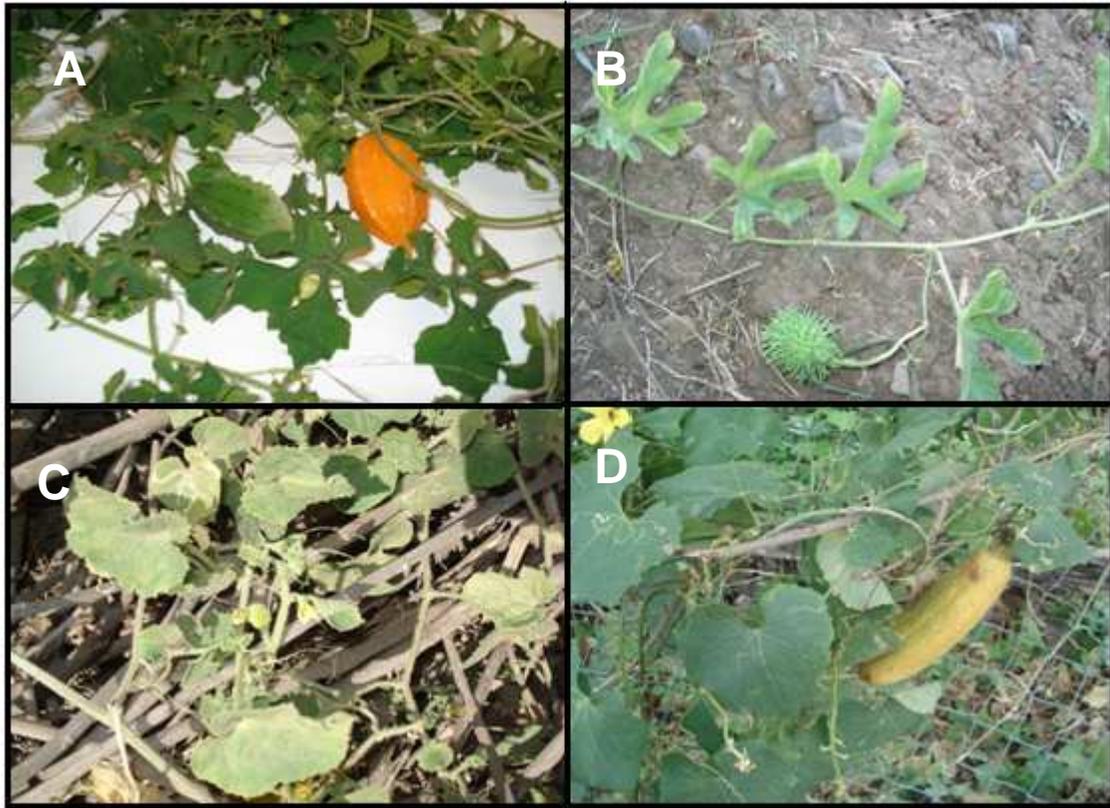


Figura 24. Malezas pertenecientes a la familia cucurbitaceae en el cultivo de sandía, Juana Díaz. A. *Momordica charantia* L., B. *Cucumis anguria* L. C. *Cucumis dipsaceus* Ehrenb. D. *Luffa aegyptiaca*.

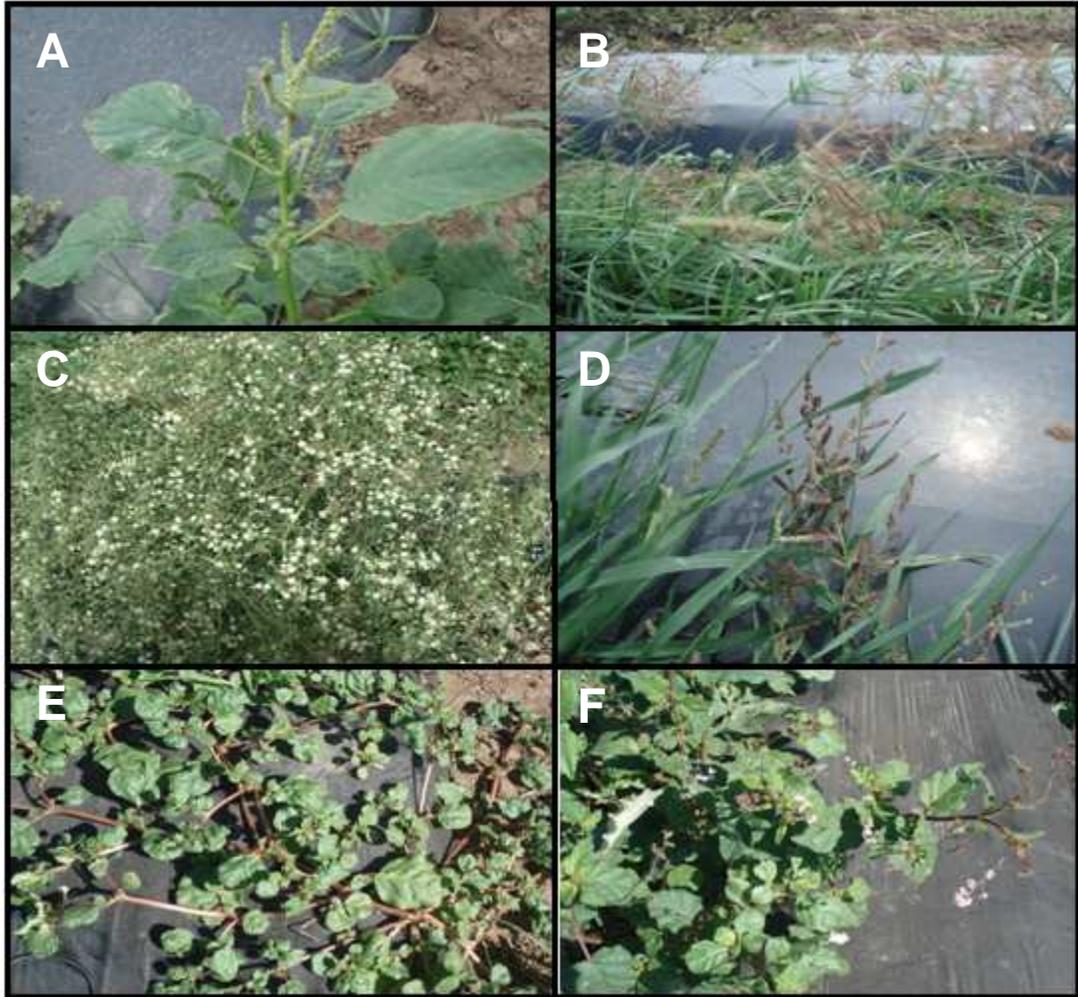


Figura 25. Malezas identificadas en el cultivo de sandía, Juana Díaz, P. R. A. *Amaranthus dubius* Mart., B. *Cyperus rotundus* L., C. *Parthenium hysterophorus* L., D. *Echinochloa colona* L., E. *Portulaca oleracea* L. y F. *Tianthemas portulascatum* L.

Cuadro 9. Pruebas serológicas realizadas a las malezas cercanas a los predios de sandía, en abril 2008 y marzo 2009, Juana Díaz P.R.

Malezas	Virus		
	ZYMV	PRSV	Potyvirus
<i>Momordica charantia</i> L.	-	-	-
<i>Cucumis anguria</i> L.	+	+	+
<i>Cucumis dipsaceus</i> Ehrenb.	+	-	+
<i>Luffa aegyptiaca</i> Miller	+	+	+
<i>Amaranthus dubius</i> Mart.	-	-	-
<i>Bastardia viscosa</i> (L.) Kunth	-	-	-
<i>Cardiospermum halicacabum</i> L.	-	-	-
<i>Cissus verticellata</i> L.	-	-	+
<i>Cyperus rotundus</i> L.	-	-	-
<i>Echinochloa colona</i> L.	-	-	-
<i>Ipomea ochracea</i> L.	-	+	+
<i>Ipomea trifolia</i> L.	-	+	+
<i>Merremia umbellata</i> Hall	-	+	+
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	-	-	-
<i>Portulaca oleracea</i> L.	-	-	-
<i>Tianthemas portulascatrum</i> L.	-	-	-

También se analizaron hojas de berenjena (*Solanum melongena* L.) y de calabaza para ZYMV y PRSV, localizado a 20 metros del predio de sandía y por ser hospederos de mosca blanca. Las pruebas fueron negativas para berenjena, pero positivas para ZYMV

en calabaza. La población promedio de mosca blanca en berenjena fue de 2 mosca blanca por planta y en calabaza de 5. No se observó presencia de áfidos en el cultivo de berenjena, y el promedio de áfidos en calabaza fue de 3 por planta.

En la zona suroeste de Puerto Rico en los municipios de Santa Isabel y Juana Díaz, se colectaron 16 especies de malezas pertenecientes a las siguientes familias: Amarantaceae, Aizoaceae, Compositae, Convolvulacea, Cucurbitaceae, Cyperaceae, Gramineae, Nyctaginaceae, Poaceae, Portulacaceae y Vitaceae. Se colectaron dos muestras de cada especie en el mes de febrero y en marzo 2009. En la localidad de Santa Isabel, *Ipomea ochracea* fue la única especie infectada con PRSV en condiciones naturales (Cuadro 10). Las especies *Momordica charantia*, *Cyperus rotundus*, *Echinochloa colona*, *Digitaria sanguinalis* y *Boerhavia erecta* no mostraron síntomas ni fueron positivas para la prueba de ELISA. En el mes de marzo de 2009, se colectó en el sector la Cuarta, Juana Díaz, a *Luffa aegyptiaca* onperteneciente a la familia cucurbitaceae, con síntomas de amarillamiento de venas. Esta maleza fue positiva para ZYMV y PRSV (Fig. 26).



Figura 26. Aclaramiento de venas observado en la maleza *L. aegyptiaca* en el sector La Cuarta, Juana Díaz, P. R.

En la finca comercial Serralles, Juana Díaz, las malezas colectadas en el mes de marzo fueron las siguientes: *Jasmimum fluminense* Vell, *M. charantia*, *C. dipsaceus* y otra maleza perteneciente a la familia cucurbitaceae no identificada. *Jasmimum fluminense* y la cucurbitaceae resultaron negativas para ZYMV y PRSV, sin embargo se detectó un potyvirus. En ambas malezas no se observó presencia de insectos vectores. *Momordica charantia* no presentó síntomas obvios de virus. En *C. dipsaceus* se observaron hojas pequeñas, ampollas y clorosis en las hojas, y el promedio de mosca blanca en esta maleza fue de 12 individuos adultos por hoja. *M. charantia* y *C. dipsaceus* fueron positivas para PRSV, aunque no se observó presencia de áfidos que son los vectores de este virus (Cuadro 10).

Cuadro 10. Pruebas serológicas realizadas a las malezas cercanas a los predios de sandía, en los meses de febrero y marzo del 2009, Santa Isabel, P.R.

Malezas	Virus		
	ZYMV	PRSV	Potyvirus
<i>Momordica charantia</i> L.	-	+	+
<i>Cyperus rotundus</i> L.	-	-	-
<i>Echinochloa colona</i> L.	-	-	-
<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	-	-	-
<i>Boerhavia erecta</i> L.	-	-	-
<i>Ipomea ochracea</i> Lindel.	-	+	+
<i>Jasmimum fluminense</i> Vell.	-	-	+

4.7. Finca MS Farm, Santa Isabel, P. R.

En levaluaciones quincenales de los predios comerciales en Santa Isabel, durante el mes de junio del 2008, la dinámica poblacional de la mosca blanca promedió en dos adultos de mosca blanca por trampa y 28 trípodos por trampa. La presencia de áfidos fue nula tanto visualmente como en las trampas.

Durante las evaluaciones en los predios comerciales en Santa Isabel, en junio del 2008 y marzo 2009, se observaron síntomas virales similares a los descritos en EEA de Juana Díaz. Los síntomas fueron los siguientes: amarillamiento de hojas, necrosis entre nudos, ampollas en las hojas y bordes cloróticos en hojas de todas las etapas fonológicas, marchitamiento y muerte de plantas.

A los 43 DLT aproximadamente, algunas plantas comenzaron a marchitarse. Al observarse las plantas afectadas por el marchitamiento súbito (51 DLT) se cosechó, aún cuando la mayoría de los frutos no habían alcanzado el tamaño ni la madurez óptimos.

En el mes de junio se identificaron las siguientes malezas: *Momordica charantia* L., *Echinochloa colona* L., *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. (Poaceae), y *Boerhavia erecta* L. (Nyctaginaceae) y *Cyperus rotundus* L. En marzo se identificó a *Ipomea ochracea* (Convolvulacea). La presencia de insectos vectores no fue evidente en las malezas. El análisis serológico no mostró presencia del ZYMV en ninguna de las muestras de las malezas analizadas. En la segunda colección de malezas, realizada en marzo del 2009 *M. charantia* e *I. ochracea* fueron positiva para PRSV (Cuadro 10).

4.8.1. Inoculación mecánica

A los 14 días post-inoculación, las plántulas de sandía que fueron inoculadas con savia de plantas con síntomas de la enfermedad, (cinco plantas) se marchitaron, y a los 18 días murieron. Las plantas control no presentaron ningún síntoma (Fig. 27). Estas plantas fueron analizadas mediante serología, y resultaron negativas para ZYMV y PRSV, pero positivas para potyvirus. Asimismo las plántulas co-inoculadas con tejido macerado de plantas que mostraban síntomas de marchitamiento y ZYMV, fueron positivas para ZYMV y potyvirus. Las plantas inoculadas con ZYMV y PRSV permanecieron en el vivero 43 días y no mostraron ningún síntoma, tampoco se detectó ZYMV o PRSV, luego murieron por senectud.



Figura 27. Resultados de la inoculación mecánica. A. Plantas de sandía muertas a los 14 días post-inoculación. B. Plantas control no afectadas por la enfermedad.

Las plantas de calabaza inoculadas con ZYMV, cuatro de ellas mostraron síntomas de moteado a los 7 días posteriores a la inoculación (Fig. 28). El análisis serológico identificó a ZYMV. Las plantas control no mostraron ningún síntoma, y no se detectó ningún virus. Posteriormente, una de estas plantas control de calabaza comenzó a marchitarse a los 37 días. Las pruebas serológicas fueron negativas para ZYMV y PRSV, pero positivas para potyvirus. La infección con potyvirus pudo ser transmitida por la mosca blanca que posteriormente infestó el vivero. Estas moscas blancas posiblemente adquirieron el virus de las plantas de sandía inoculadas con plantas que mostraron síntomas de marchitamiento. La maleza perteneciente a la familia de las cucurbitáceas (*Cucumis dipsaceus*), a los 8 días posteriores a la inoculación, mostró síntomas de enrollamiento de hojas y clorosis. Además se detectó ZYMV mediante serología. Al detectar un potyvirus en la especie *Cissus verticellata*, se procedió a inocular 18 plantas de sandía con tejidos de esta maleza. Transcurridos 7 días, se observaron síntomas de marchitamiento en dos plantas, y a los 8 días se realizaron pruebas serológicas, las cuales indicaron que las plantas fueron infectadas con un potyvirus, que no fue ZYMV como tampoco PRSV.



Figura 28. Plantas de calabaza 7 días postinoculación. En la planta de la izquierda se observa síntomas de moteado, la planta de la derecha (control) no presenta ningún síntoma.

4.8.2. Transmisión por áfidos

A los 42 días después de que en las plantas de sandía se liberaran 33 áfidos en el campo, se observaron síntomas de amarillamiento en las hojas. En esa misma fecha se promediaba 5 áfidos por hoja en las plantas inoculadas. Los síntomas en estas plantas fueron leves. No se observó marchitamiento ni muerte de plantas. Las pruebas serológicas determinaron la presencia de potyvirus, pero resultaron negativas para ZYMV y PRSV.

4.8.3. Transmisión con mosca blanca

A los 42 días posteriores a la inoculación con mosca blanca, algunas hojas se observaron cloróticas. El promedio de moscas blancas en las plantas inoculadas fue de 7

por hoja. Las muestras analizadas mostraron la presencia de potyvirus, sin embargo, ZYMV y PRSV no se detectaron en las muestras.

5. DISCUSIÓN

En el primer experimento con los cinco cultivares donde no se realizó aplicación de insecticidas, el promedio de mosca blanca alcanzó 103 especímenes en 5 hojas. Sin embargo, la incidencia de virus fue baja y se detectó potyvirus únicamente en la última semana de evaluación. A pesar de la población alta de mosca blanca (el vector de la enfermedad), desde las primeras semanas de evaluación, no se observaron síntomas ni se detectó la presencia de virus, coincidiendo esto con los rendimientos obtenidos. La disminución de la población de mosca blanca y áfidos en la última semana de evaluación, ocurrió posiblemente por el número de plantas marchitas y muertas, lo cual disminuyó el follaje disponible para los insectos. Al evaluar los dos métodos de monitoreo para trips, con las trampas amarillas se obtuvo el mayor promedio de especímenes, que con el método visual. Un factor que pudo influir en la diferencia de métodos, es que el color amarillo tiende a ser atractivo a varias especies de trips (Chu et al., 2006), incluyendo *T. palmi* que fue la especie más abundante en los ensayos. Aunque se obtuviera el promedio de captura semanal más alto con las trampas, no indica que el método visual haya de descartarse. Hay que reconocer que las trampas permanecen durante 7 días en el campo, y el conteo visual solamente se realizó 1 vez a la semana. Los rendimientos obtenidos fueron altos, posiblemente favorecido a causa de que las plantas estaban libres de virus durante el desarrollo vegetativo y la formación y cuajado de frutos. Adicionalmente la ausencia de áfidos, vectores de ZYMV y PRSV, posiblemente influyó en el alto rendimiento. La incidencia de virus en el cultivo, no afectó el rendimiento ni el tamaño comercial de los frutos, obteniéndose el mayor rendimiento de 240 T/ha en el cultivar ‘Starbright’, y la menor producción en Royal Sweet con 205 T/ha. La

susceptibilidad de los cultivares al marchitamiento no pudo ser determinada en este ensayo por la ausencia de la enfermedad.

En el segundo ensayo con los cinco cultivares, el número promedio de mosca blanca, fue similar en las 20 parcelas. Sin embargo, a diferencia del primer ensayo, las infestaciones con áfidos y trips fueron mayores que en el primer ensayo, lo cual influyó en la incidencia de virus. En los primeros 27 DLT no se detectó ningún virus, sin embargo a los 28 días se detectó a ZYMV y a los 30 DLT se identificó a PRSV, el cual es transmitido por áfidos (Kalleshwaraswamy et al., 2008), siendo *Aphis gossypii* la especie identificada. Los síntomas de marchitamiento se presentaron a los 49 DLT con 26% de mortalidad de plantas. Los resultados de las pruebas serológicas mostraron dos plantas con un potyvirus diferente a ZYMV y PRSV. En este experimento se pudo observar presencia de marchites y las plantas murieron en aproximadamente 7 días. El marchitamiento fue severo a los 57 DLT, por lo que hubo que cosechar los frutos. El rendimiento fue notablemente reducido, de tal forma que el cultivar 'Royal Jubilee', que fue el que más produjo, sólo llegó a producir 8 frutos comerciales. El marchitamiento súbito afectó a todos los cultivares por igual. La tolerancia a esta enfermedad no se observó en ningún cultivar en particular. Una vez que en las plantas se observaron síntomas de virus, y comenzaron a marchitarse, ésta fue irreversible. La presencia de ZYMV, PRSV y un potyvirus en este experimento, ocasionó la alta incidencia y severidad de la enfermedad.

En el primer ensayo con aplicaciones de insecticidas y fungicidas, y el uso de plástico reflectivo, disminuyó la población de insectos. No obstante, los áfidos solamente

se observaron en la última semana de evaluación, lo cual coincidió con la época de bajas precipitaciones y temperatura promedio de 23 a 27 °C. Estos resultados coinciden con los estudios realizados en Venezuela, donde la mayor captura de áfidos se obtuvo en los meses de diciembre a febrero donde ocurre menor precipitación (Niño et al., 2001). La incidencia de virus no fue observada en las primeras cinco semanas de evaluación. En la quinta semana se comenzó a observar síntomas virales como amarillamiento y enrollamiento de hojas, coincidiendo con los síntomas de virus transmitidos por mosca blanca reportados en sandía y melón (Zouba et al., 1998, Célix et al., 1996). El análisis serológico detectó un porcentaje alto de potyvirus en las muestras, lo que definitivamente influyó en el bajo rendimiento. El marchitamiento súbito fue severo en la séptima semana de evaluación, sin embargo muchos de los frutos habían alcanzado su tamaño comercial, por lo que el rendimiento no fue marcadamente afectado. Todas las plantas que estuvieron cubiertas con mallas durante los ensayos resultaron negativas para todos los virus analizados, indicando esto que en ausencia de vectores las plantas de sandía no mostraron síntomas de marchitamiento súbito, prueba indirecta de una infección viral.

En el segundo ensayo con aplicaciones de insecticidas y fungicidas, la población de insectos fue alta desde la primera semana de evaluación. El promedio de mosca blanca y áfidos fue mayor con el método de muestreo visual. Los síntomas virales fueron observados en la cuarta semana de evaluación. El marchitamiento comenzó a afectar a algunas plantas en la séptima semana, pero no fue severo, ya que sólo se observaron 2 plantas muertas en las parcelas control. Al igual que en los ensayos anteriores, los análisis serológicos detectaron a ZYMV, PRSV y potyvirus. Los rendimientos alcanzaron 140

T/ha en el tratamiento con aplicaciones de fungicidas y 106 T/ha en el control. Estos resultados demuestran que el rendimiento es afectado por la presencia de virus.

En ninguno de los ensayos hubo diferencia entre los diferentes tratamientos y las poblaciones de insectos, como tampoco entre las poblaciones de insectos y los diferentes cultivares. El que no se observara una relación directa entre los tratamientos con aplicaciones de insecticidas y los niveles de plaga indica que hay otros factores que influyen en la dinámica poblacional de insectos como son: los enemigos naturales, fecundidad de las hembras, migración, los cultivos hospederos cercanos, como también que una estrategia de manejo exclusivamente química no asegura que la reducción que se vaya a conseguir de la plaga sea suficiente (Metzier et al., 2000). Fue común en todos los experimentos las infecciones mezcladas de ZYMV, PRSV y por lo menos un potyvirus. Los vectores, los cultivos adyacentes hospederos de vectores y las malezas que sirven como fuente de inóculo, posiblemente juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad.

Aunque no hubo diferencia entre tratamientos ni entre cultivares, en cuanto a la población de mosca blanca, áfidos y trípidos, si hubo diferencia en las poblaciones dependiendo de la época de siembra y entre los ensayos con aplicaciones de insecticidas y los ensayos donde no se aplicaron químicos. La mayor población de mosca blanca se observó en los meses de mayo a julio de 2007 donde no hubo control de insectos. Sin embargo en los meses de abril a mayo de 2008, tampoco se realizaron aplicaciones de insecticidas y la más alta población de mosca blanca no alcanzó la del año anterior. La mosca blanca fue identificada como *Bemisia tabaci*.

Mediante el método visual, la mayor población promedio de áfidos se observó durante el segundo ensayo con los cinco tratamientos y el segundo con los cultivares. Dicha población coincidió con el inicio de la primavera del 2008, en los meses de marzo-abril, donde comienza un aumento gradual de la temperatura y las horas luz.

La población más alta de los trípidos fue observada en los dos ensayos con los cultivares, a causa de la ausencia de insecticidas. Estos ensayos fueron realizados en los meses de mayo a julio del 2007 y abril a mayo del 2008.

Con relación a la presencia de insectos en los experimentos, *Bemisia tabaci* *Aphis gossypii* y *Thrips palmi* fueron los prevalecientes. *A. gossypii* es un eficiente transmisor de PRSV (Kalleshwaraswamy et al., 2008). En los ensayos donde no se realizaron aplicaciones de insecticidas, como en los ensayos con aplicaciones de insecticidas y fungicidas, el PRSV fue detectado. Además de transmitir PRSV y ZYMV, en los experimentos se observó enrollamiento de hojas, un daño típico causado por áfidos (Cermeli, 1966). La captura de áfidos con las trampas amarillas fue nula en todos los ensayos, contrario a lo reportado en otros estudios, donde las trampas amarillas tienden a ser altamente atractivas a muchas especies de áfidos (Webb et al., 1994; Lecoq et al., 2003).

Las especies de trípidos identificadas durante los ensayos realizados en Juana Díaz, fueron el trípido de las cucurbitáceas, *Thrips palmi* y *Frankliniella* spp. *Thrips palmi* transmite los tospovirus *Melon Yellow Spot Virus* (MYSV) y *Watermelon Silver Mottle Virus* (WSMV). Las plantas que estuvieron infestadas con trípidos con frecuencia se caracterizan por una apariencia plateada o bronceada de las hojas, además de hojas,

brotos atrofiados, y frutas con cicatrices y deformaciones (Anónimo, 2007a). Sin embargo no se observaron estos síntomas ni daños de los descritos, causados por trípidos en los ensayos.

En Santa Isabel, en marzo del 2009, el marchitamiento súbito también afectó las plantaciones de sandía a los 50 DLT. Los síntomas iniciales observados fueron amarillamiento y ampollas en las hojas, moteados y marchites. Las especies de malezas que actúan como hospederos alternativos de los virus también fueron observadas en esas fincas comerciales. La siembra continua de cucurbitáceas, ya sea calabaza, melón o pepinillo, también contribuye a que los vectores permanezcan con infección latente y transmitan la enfermedad en las zonas productoras de cucurbitáceas.

Determinación de malezas hospederas

En siembras comerciales de sandía ubicadas en la zona suroeste de Puerto Rico se determinó que algunas de las malezas encontradas en las cercanías de los cultivos de sandía estuvieron infectadas con virus en condiciones naturales. La especie *Momordica charantia* que fue colectada en la EEA en Juana Díaz, Santa Isabel, la Finca Serralles y el sector La Cuarta, solamente en la Finca Serralles se determinó que esta especie estuvo infectada con PRSV. Estos resultados coinciden con un estudio realizado en Jamaica, donde se reporta a *M. charantia* como hospedero de PRSV (Chin et al., 2007). En Florida se ha identificado a SqVYV infectando *M. charantia* (Adkins, 2008). Asimismo en Costa Rica se detectó a ZYMV en *M. charantia* en plantaciones de melón (*Cucumis melo*) (Sánchez et al., 1998). La especie colectada en el sector La Cuarta, *Luffa aegyptiaca*,

presentó síntomas de amarillamiento de venas, y resultó positiva para potyvirus. Estudios anteriores indican que *Luffa acutangula* infectada artificialmente con SqVYV, desarrolla síntomas similares a los observados en este estudio con infección natural, como amarillamiento de venas y lesiones cloróticas (Adkins, 2007). A pesar de que esta maleza fue positiva para un potyvirus desconocido, será necesario identificar con métodos moleculares la presencia del SqVYV. Igualmente *C. anguria* y *C. dipsaceus*, *C. verticellata* fueron positivos a potyvirus y dentro de estos ZYMV y PRSV. Estos resultados coinciden con estudios que han sido realizados en las islas de Hawaii, donde *C. dipsaceus* ha sido reportada como hospedero de tres virus: *Cucumber Mosaic Virus* (CMV), ZYMV y PRSV, siendo además hospederos alternos de 5 especies de áfidos vectores de virus, incluyendo *Aphis gossypii*, la especie identificada en los ensayos de Juana Díaz (Ullman et al., 1991.). *Ipomea ochracea*, *I. trifolia* y *Merremia umbellata* colectadas en Juana Díaz, fueron positivas a PRSV, por lo que se requerirán métodos moleculares para identificar la posible presencia de SqVYV. En la finca Serralles en Juana Díaz, se identificó a *Cucumis dipsaceus* y *Jasminum fluminense* infectadas con potyvirus diferente a ZYMV y PRSV. La importancia de estos resultados radica en la presencia de inóculo permanente en las malezas hospederas de los diferentes potyvirus identificados.

Durante esta investigación, se logró la transmisión mecánica del marchitamiento súbito. A los 12 días después de la inoculación, se observó un ligero amarillamiento en las hojas de las plantas. Luego a los 14 días las plantas se marchitaron y murieron. Los resultados más relevantes en la inoculación mecánica en el vivero fue la inoculación con plantas de sandía que mostraban síntomas de marchitamiento súbito. La inoculación fue

realizada en 5 ocasiones, pero solamente en una de ellas la transmisión fue efectiva, tanto en la reproducción de síntomas como al detectarse mediante serología. Las plantas de sandía inoculadas con ZYMV y PRSV no mostraron ningún síntoma a los 14, 21, 28, 35 y 43 días postinoculación. Solamente cuando las plantas fueron coinoculadas con ZYMV y síntomas de marchitamiento súbito se logró reproducir los síntomas en las plantas de sandía. La concentración de los virus en los tejidos de las plantas utilizadas como inóculo, pudo haber influido en la expresión de síntomas de marchitamiento. En las plantas de calabaza a los 7 días postinoculación, se observaron síntomas de moteado, y se detectó ZYMV. Al parecer la calabaza resulta ser más susceptible a la infección de ZYMV que la sandía. En la inoculación por medio de vectores, las moscas blancas infectadas lograron transmitir a potyvirus. Los síntomas fueron más lentos en desarrollarse que los observados en los ensayos, donde las plantas no estuvieron protegidas con mallas. Posiblemente al estar protegidas contra otros insectos vectores, esas plantas no fueron infectadas con otros virus, y no hubo infecciones mezcladas. Esto pudo retardar la expresión de síntomas, ya que en infecciones mixtas las plantas son más afectadas y los síntomas más obvios.

6. CONCLUSIONES

La mosca blanca fue el vector más abundante durante los experimentos. El mejor método de muestreo para mosca blanca y áfidos fue el visual, y para el muestreo de trípodos fue la utilización de trampas pegajosas amarillas. Los primeros síntomas causados por virus comenzaron a observarse a partir de los 21 a 32 días después del trasplante. Los virus detectados en el cultivo de sandía durante los ensayos fueron: *Zucchini Yellow Mosaic Virus* (ZYMV), *Papaya Ringspot Virus* (PRSV) y un potyvirus no identificado. Las infecciones mezcladas, de dos o más virus en una etapa temprana del desarrollo de la sandía, influyeron en la severidad del marchitamiento súbito de la sandía. Las infecciones virales influyeron negativamente en el rendimiento. El cultivar ‘Royal Sweet’ y los cultivares evaluados ‘Royal Jubilee’, ‘Starbright’, ‘Sangría’, ‘Regency’, XR-212 y ‘Companion’ no son tolerantes al marchitamiento súbito. Todos fueron afectados por la enfermedad.

Las especies de malezas de la familia cucurbitácea *Cucumis anguria*, *Cucumis dipsaceus*, *Momordica charantia* y *Luffa aegyptiaca* fueron identificadas como hospederos de virus que infectan el cultivo de sandía. La población de mosca blanca y áfidos disminuyó por la aplicación de insecticidas. La aplicación de insecticidas (endosulfan, *Bacillus thuringiensis*, methomyl, abamectina y thiamethoxam) no fue efectiva en el control de la enfermedad. Las poblaciones de mosca blanca y áfidos fueron diferentes entre fechas de muestreo para cada fecha de siembra de sandía en estudio. La identificación del potyvirus que produce el marchitamiento de la sandía fue transmitido por inoculación mecánica.

7. RECOMENDACIONES

Se recomienda identificar el potyvirus causante del marchitamiento súbito de la sandía por medio de métodos moleculares. Además, determinar la importancia de las infecciones mixtas de ZYMV, PRSV y el potyvirus en el marchitamiento súbito de la sandía. Realizar un programa de selección de cultivares de sandía con tolerancia al marchitamiento súbito. Evaluar cultivares comerciales diferentes a los analizados en este estudio. Evaluar la aplicación temprana de insecticidas para el control de la mosca blanca, áfidos y trípidos. Realizar un programa de manejo de malezas hospederas de virus en la zona productora de sandía en el suroeste de la isla. Por ultimo se recomienda evaluar la integración de plástico reflectivo UV e insecticidas biológicos y sintéticos en el manejo de la enfermedad.

8. LITERATURA CITADA

- Adkins, S.,** Webb S.E., Achor D. Roberts P.D. and Baker C.A. 2007. Identification and characterization of a novel whitefly-transmitted member of the family *Potyviridae* isolated from cucurbits in Florida. *Phytopathology* 97:145-154.
- Adkins, S.** Weeb, S. E. Baker, C. A. and Kousik C. A. 2008. *Squash vein yellowing virus* detection using Nested Polymerase Chain Reaction demonstrates that the cucurbit weed *Momordica charantia* is a reservoir host. *Plant Dis.* 92:1119-1123.
- Aegerter, B.J.,** Gordon T.R. and Davis R.M. 2000. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California. *Plant Dis.* 84:224-230.
- Agrios, N.G.** 2005. *Plant Pathology.* 5ta ed. Academic Press Inc. Publication, San Diego, California. 922 pp.
- Anónimo,** 2007a. Normas internacionales para medidas fitosanitarias. Protocolo de diagnóstico para las plagas reglamentadas: *Thrips palmi*. Anexo de la NIMF No. 27.
- Anónimo** 2007b. Census of Agriculture 2008. USDA National Agricultural Statistics Service. Puerto Rico.
- Anónimo,** 2008. Vigilancia competitiva de la sandía. Instituto de Mercadeo Agropecuario. <http://www.ima.gob.pa>
- Bernal, J.J.,** Jimenez I., Moreno M., Hord M. Rivera C. Koenig R. and Rodriguez E.C. 2000. *Chayote mosaic virus*, a new Tymovirus infecting cucurbitaceous. *Phytopathology* 90:1098-1104.
- Bisognim, D. A.** 2002. Origin and evolution of cultivated cucurbits. *Ciencia Rural* 32: 715- 723.
- Blackman, R. L.** and Eastop V. F. 2000. *Aphids on the world's crops. An identification and information guide.* Publicado por John Wiley & Sons LTD. Baffins Lane, Chichester West Sussex P019, England, 466 pp.
- Brown K. J.,** Idris A.M., Alteri C. and Stenger D.C. 2002. Emergence of a new cucurbit-infecting Begomovirus species capable of forming viable reassortants with related viruses in the *Squash leaf curl virus* cluster. *Phytopathology* 92: 734-742.
- Bruton, B. D.,** Fletcher, J., Pair, S. D., Shaw, M., and Sittertz-Bhatkar, H. 1998. Association of a phloem-limited bacterium with yellow vine disease in cucurbits. *Plant Dis.* 82:512-520.

- Bruton, B.D.,** Garcia J.J. and Popham T. W. 2000. Assessment of virulence of *Acremonium cucurbitacearum* and *Monosparascus cannonballus* on *Cucumis melo*. Plant Dis. 84:907-913.
- Bruton, B. D.,** Mitchell, F., Fletcher, J., Pair, S. D., Wayadande, A., Melcher, U., Brady, J., Bextine, B., and Popham, T. W. 2003. *Serratia marcescens*, a phloem-colonizing, squash bug transmitted bacterium: Causal agent of cucurbit yellow vine disease. Plant Dis. 87:937-944.
- Bruton S. E.,** Nihat G. and Tood W. C. 2002. Screening the watermelon germplasm collection for resistance to *Papaya ringspot virus* type-W. Crop Science 42:1324-1330.
- Célix, A.** López-Sesé, A., Almarza, N., Gómez-Guillamón, M. L., and Rodríguez-Cerezo, E. 1996. Characterization of cucurbit yellow stunting disorder virus, a *Bemisia tabaci*-transmitted closterovirus. Phytopathology 86:1370-1376.
- Cermeli, M. L.** 1966. Los áfidos de importancia agrícola en Venezuela y algunas observaciones sobre ellos (Homóptera; Aphididae). Agronomía Tropical 20(1):15-61.
- Chin, M.,** and Ahmad M. H. 2007. *Momordica charantia* is a weed host reservoir for *Papaya ringspot virus* type P in Jamaica. Plant Dis. Diseases Notes 91:1518
- Chu, C. C.,** Ciomperlink M.A., Chang N., Richards M. and Henneberry T.J. 2006. Developing and evaluating for monitoring *Scirtothrips dorsalis* (Thysanoptera: Thripidae). Florida Entomologist 89(1):47-55.
- Collins, D.W.,** Hutton S., Kox L.F.F y Vaccaro N.C. 2007. Proyecto del protocolo para *Thrips palmi*. Normas internacionales para medidas fitosanitarias (NIMF). Anexo de la NIMF No 27.
- Coutts, R.** 2005. First report of an Endornavirus in the cucurbitaceae. Virus Genes 31:361-362.
- Egel, D. S.** and Adkins S. 2007. *Squash Vein Yellowing Virus* identified in watermelon (*Citrullus lanatus*) in Indiana. Plant Dis. 91:1056.
- Egel, S. D.,** Rane, K., Latin, R., and Martyn, R. D. 2000. Mature watermelon vine decline: A disease of unknown etiology in southwest Indiana. Online. Plant Helth Progress. doi:10.1094/PHP-2000-1227-01-HN.
- Escudero, J.** 1992. Enfermedades más comunes en cucurbitáceas en Puerto Rico. Estación Experimental Agrícola. Foro Técnico: El cultivo de las cucurbitáceas. 26 de junio de 1992, Lajas, P.R. 71 pp.

- Estévez** de Jensen. C., Fornaris G. E., Morales R. y Mercado W. 2006. Enfermedades prevalentes en la sandía en el área Sur de Puerto Rico. Caribbean Food Crops Society, 42 Annual Meeting, Carolina, Puerto Rico. Vol:XLII, No 2: 209-213.
- Froissart**, R., Michalakakis, Y., and Blanc, S. 2002. Helper component-transcomplementation in the vector transmission of plant viruses. *Phytopathology* 92:576-579.
- Gusmini**, G. Song R. and Wehner T.C. 2005. New sources of resistance to gummy stem blight in watermelon. *Crop Science* 45:582-588.
- Hord**, M. and Villalobos W. 1997. Chayote mosaic, a new disease in *Sechium edule* caused by a Tymovirus. *Plant Dis.* 81:374-378.
- Horlock**, C. and Persley D. 2004. Viruses affecting melons (watermelon, rockmelon and honeydew). *Agriculture for Fiber Sciences, Horticulture* 7 pp.
- Idris**, A. M., Andel-Salam A. and Brown J. K. 2006. Introduction of the new world *Squash leaf curl virus* to squash (*Cucurbita pepo*) in Egypt: A potential threat to important food crops. *Plant Dis.* 90:1262.
- Janick**, J. and Paris H. 2006. The cucurbit images (1515-1518) of the Villa Farnesina, Rome. *Annals of Botany* 97:165-176.
- Kalleshwaraswamy**, C. M. and Krishna N. K. 2008. Transmission efficiency of *Papaya ringspot virus* by three aphid species. *Phytopathology* 98:541-546.
- Keinath**, A.P. 2002. Survival of *Didymella bryonidae* in buried watermelon vines in South Carolina. *Plant Dis.* 86:32-38.
- Kucharek**, T. 2000. *Alternaria* leaf spot of cucurbits. *Plant Pathology Fact Sheet* 4 pp.
- Lecoq**, H., Desbiez, C., Wipf-Scheibel, C., and Girard, M. 2003. Potential involvement of melon fruit in the long distance dissemination of cucurbit potyviruses. *Plant Dis.* 87:955-959.
- Lugo**, T. M. y Semidey N. L. 2002. Guía para el reconocimiento de malezas comunes en zonas agrícolas de Puerto Rico. Universidad de Puerto Rico. Estación Experimental Agrícola. Recinto Universitario de Mayagüez. 66 pp.
- Martínez**, S. L. 2000. Suelo y preparación de terreno en: Conjunto Tecnológico para la Producción de Sandía. Publicación 159. Rio Piedras, P. R. 8-10 pp.
- Medina**, G. S. 1961. The Thysanoptera of Puerto Rico. University of Puerto Rico, Agricultural Experimental Station, Rio Piedras, Puerto Rico. 159 pp.

- Metzier, H. B.** y Laprade S. 2000. Variación estacional de la mosca blanca *Aleurodicus dispersus* y sus parasitoides en plantaciones de banano, en Matina, Costa Rica. CIPROC-EEFBM. Informe de investigación 5 pp.
- Molinari, A.M.,** Gonsebatt, G., David, M.F. y Perotti, E. 2007. Mosca Blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius) en cultivos de soja. INTA EEA 3 pp.
- Niño, L.** Cermeli, M., Becerra, F., y Morelia F. 2001. Fluctuación población de áfidos alados en dos localidades productoras de papa en el estado de Mérida, Venezuela. Revista Latinoamericana de la papa. 12:57-71.
- Ochoa, J.** 2007. Virosis de cucurbitáceas cultivadas en la provincia de Manabí. Instituto Nacional Autónoma de Investigaciones Agropecuaria (INIAP). Informe. 8 pp.
- Polanco, L.** Vega B. y Estévez C. 2007a. Primer reporte de *Alternaria cucmerina* en sandía (*Citrullus lanatus* Thunb.) en Puerto Rico. IX Simposio de Micología, Puerto Rico.
- Polanco, P.,** Estévez de Jensen, C., y Rodrigues, J.C. V., 2007b. Etiología del marchitamiento súbito del melón (*Citrullus lanatus*) en Puerto Rico. Sociedad Puertorriqueña de Ciencias Agrícolas, Cataño, P.R.
- Rosales, I. M.** 2002. Diagnostico de enfermedades en plantas: uso de herramientas moleculares. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) 14 pp.
- Rubio L.,** Soong J., Kao J. and Falk B.W. 1999. Geographic distribution and molecular variation of isolates of three whitefly-borne closteroviruses of cucurbits: *Lettuce infectious yellows virus*, *Cucurbit yellow stunting disorder virus* and *Beet pseudo-yellows virus*. Phytopathology 89:707-711.
- Sales, R.J.,** Beltran R., Michereff S.J., Armengol J., García J.J. y Valente E. 2006. Análisis de distintos tipos de azúcares en el método de extracción de ascosporas de *Monosporascus cannonballus* en suelo. Fitopatología Brasileira 31:185-187.
- Sánchez, M.V.,** Agüero R. y Rivera C. 1998. Plantas hospederas de los virus más importantes que infectan el melón, *Cucumis melo* (Cucurbitaceae) en Costa Rica. Revista de Biología Tropical 46(1):13-25.
- Sánchez, M.V.,** Agüero R. y Rivera C. 2001. Plantas hospederas de *Aphis gossypii* (Aphididae), vector de virus del melón (*Cucumis melo*, Cucurbitaceae) en Costa Rica. Revista de Biología Tropical 49(1):305-311.
- St Amand, P. C.** and Wehner, T. C. 1995. Eight isolates of *Didymella brioniae* from geographically diverse areas exhibit variation in virulence but no isolate by cultivar interaction on *Cucumis sativus*. Plant Dis. 79:1136-1139.
- Sevik, M.A.** and Arli-Sokmen M. 2003. Viruses infecting cucurbits in Samsun, Turkey. Plant Dis. 87:341-344.

- Somai, B. M.,** Keinath, A. P., and Dean, R. A. 2002. Development of PCR-ELISA for detection and differentiation of *Didymella bryoniae* from related *Phoma* species. *Plant Dis.* 86:710-716.
- Smith, C.F.,** Martorell L.F. and Perez M. E. 1963. Ahididae of Puerto Rico. Agricultural Experiment Station, Rio Piedras, Puerto Rico. 121 pp.
- Sugiyama, M.,** Ohara T. and Sakata Y. 2006. A New Source of Resistance to cucumber green mottle mosaic virus in melon. *J. Japan. Soc. Hort. Sci.* 75 (6): 469–475. 2006.
- Tsuda, S.,** Camella-Iwaki, M., I., Hanada, K., Kouda, Y., Hikata, M., and Tomaru, K. 1992. A novel detection and identification technique for plant viruses: Rapid immunofilter paper assay (RIPA). *Plant Dis.* 76:466-469.
- Ullman, D.E.,** Cho J.J. and German T.L. 1991. Occurrence and distribution of cucurbit viruses in the Hawaiian Islands. *Plant Dis.* 75:367-370.
- Vincelli, P.,** and Seebold, K. 2009. Report of a *Watermelon mosaic potyvirus* strain in Kentucky undetected by ELISA. *Plant Health Progress* doi:10.109/PHP-2009-0313-01-BR.
- Webb, S. E.,** Yokomi, M. L. and Voegtlin D. J. 1994. Effect of trap color on species composition of alate Aphids (Homoptera: Aphididae) caught over watermelon plants. *Florida Entomologist* 77(1): 146-154.
- Xu, Y.,** Kang D., Shi Z., Shen H. and Wehner T. 2004. Inheritance of resistance to *Zucchini yellow mosaic virus* and *Watermelon mosaic virus* in watermelon. *The American Genetic Association* 95:498-502.
- Yeh, S.D.** and Chang T.F. 1994. Nucleotide sequence of the N gene of *Watermelon silver mottle virus*, a proposed new member of the genus *Tospovirus*. *Phytopathology* 85:58-64.
- Yeon Yoon, J.,** Min B.E., Choi J.K. and Ryu K.H. 2001. Genome structure and production of biologically active In vitro transcripts of cucurbit-infecting *Zucchini green mottle mosaic virus*. *Phytopathology* 92:156-163.
- You, B. J.,** Chiang, C. H., Chen, L. F., Su, W. C. and Yeh, S. D. 2005. Engineered mild strains of Papaya ringspot virus for broader cross protection in cucurbits. *Phytopathology* 95:533-540.
- Zitter, T.A,** Hopkins D.L. and Thomas C.E. 1998. Compendium of cucurbit diseases. APS Press St Paul, Minnesota 87 pp.
- Zouba, A.A.** and López M.V. 1998. *Squash yellow leaf curl virus*: a new whitefly-transmitted poty-like virus. *Plant Dis.* 82:475-478.

APÉNDICES

Apéndice 1. Análisis de suelo

pH Suelo	7.7
Cap. de intercambio cationico	16.6 meq/100
Potasio (K)	3.70%
Calcio (Ca)	78.50%
Magnesio (Mg)	18.00%
Hidrogeno (H)	0.00%

Apéndice 2. Protocolo ELISA Potyvirus

Las hojas que mostraron síntomas fueron maceradas en bolsas de maceración conteniendo Indirect Simple Extraction Buffer en una proporción 1:10 (peso/volumen). Luego de preparar un diagrama o mapa, se dispensó 100 µl de las muestras maceradas en los pozos del microplato. Este microplato fue cubierto con parafilm, colocado en una cámara húmeda e incubado a temperatura ambiente durante una hora. Trascorrida la incubación, se procedió a lavar el microplato de 6-8 veces con el buffer de lavado (PBST), fue añadido el anticuerpo e incubado por 2 horas a temperatura ambiente en cámara húmeda. Al terminar la incubación, se dispensó 100 µl del conjugado enzimático en cada uno de los pozos e incubado por una hora a temperatura ambiente. Trascorrida la hora, se procedió a lavar el microplato de 6-8 veces, y se le añadió la solución (PNP) y se incubó el microplato por 60 minutos en cámara húmeda, pero en la oscuridad. Una vez transcurrido los 60 minutos, el microplato fue leído en un lector de ELISA y visualmente.

Protocolo ELISA PRSV

Los tejidos con síntomas fueron macerados en el amortiguador general de extracción (GEB) en un radio de 1:10, además el control positivo y negativo. En cada pozo del microplato se dispensó 100 µl de las muestras maceradas; este microplato fue cubierto con parafilm y colocado en cámara húmeda por 2 horas a temperatura ambiente. Una vez terminada la incubación, se procedió a lavar el microplato de 6-8 veces con buffer de la lavado PBST, y luego se dispensó 100 µl del conjugado enzimático e incubado por 2 horas en una cámara húmeda a temperatura ambiente. Terminada la incubación, se procedió a lavar el microplato, se le adicionó 100 µl de la solución PNP, se cubrió con parafilm y se incubó en cámara húmeda en la oscuridad durante 60 minutos. Inmediatamente terminó la incubación, el microplato fue leído en el lector de ELISA y visualmente.

Apéndice 3. Análisis de Correlación entre el número de plantas con síntomas y el número de insectos vectores de virus. Tratamientos II

Análisis de regresión lineal

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
logMB	120	3.3E-04	0.00	0.06

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	0.43	0.03	0.38	0.48	15.79	<0.0001	
# Pl. con síntomas	3.1E-03	0.02	-0.03	0.03	0.20	0.8450	1.05

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.3E-03	1	2.3E-03	0.04	0.8450
# Pl. con síntomas	2.3E-03	1	2.3E-03	0.04	0.8450
Error	7.09	118	0.06		
Total	7.09	119			

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
logMin	120	0.27	0.27	0.11

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	0.60	0.04	0.52	0.67	16.23	<0.0001	
# Pl. con síntomas	-0.14	0.02	-0.19	-0.10	-6.69	<0.0001	45.36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	4.89	1	4.89	44.73	<0.0001
# Pl. con síntomas	4.89	1	4.89	44.73	<0.0001
Error	12.89	118	0.11		
Total	17.77	119			

Variable	N	R ²	R ² Aj	ECMP
logAf	120	0.03	0.02	0.54

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	0.39	0.08	0.23	0.55	4.79	<0.0001	
# Pl. con síntomas	0.09	0.05	-1.1E-03	0.19	1.96	0.0526	4.81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	2.02	1	2.02	3.83	0.0526	
# Pl. con síntomas		2.02	1	2.02	3.83	0.0526
Error	62.23	118	0.53			
Total	64.26	119				

Variable N	R ²	R ² Aj	ECMP	
logTr	120	0.23	0.22	0.08

Coefficientes de regresión y estadísticos asociados

Coef	Est.	EE	LI(95%)	LS(95%)	T	p-valor	CpMallows
const	0.15	0.03	0.09	0.21	5.20	<0.0001	
# Pl. con síntomas	0.10	0.02	0.07	0.14	5.91	<0.0001	35.68

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo	2.45	1	2.45	34.97	<0.0001	
# Pl. con síntomas		2.45	1	2.45	34.97	<0.0001
Error	8.28	118	0.07			
Total	10.74	119				