

TRANSMISIÓN DE VIRUS EN GENOTIPOS DE MELÓN (*Cucumis melo*, L.) Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE SEMILLA

BLANCA ELIZABETH ZAMORA MARTÍNEZ

T E S I S

**Presentada como requisito parcial
para obtener el grado de**

**Maestro en Ciencias
en Tecnología de Semillas**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

PROGRAMA DE POSGRADUADOS

**Buenavista, Saltillo, Coah.
JUNIO DE 2001**

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

SUBDIRECCION DE POSTGRADO

Transmisión de virus en genotipos de melón (*Cucumis melo*, L.) y su relación
con la calidad de semilla

TESIS

POR

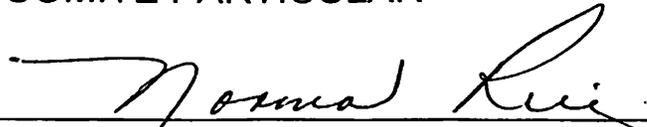
BLANCA ELIZABETH ZAMORA MARTINEZ

Elaborada bajo la supervisión del Comité Particular de Asesoría y aprobada
como requisito parcial para otorgar el grado de:

MAESTRIA EN CIENCIAS
EN TECNOLOGIA DE SEMILLAS

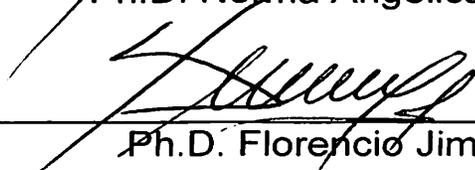
COMITE PARTICULAR

Asesor principal:



Ph.D. Norma Angélica Ruiz Torres

Asesor :

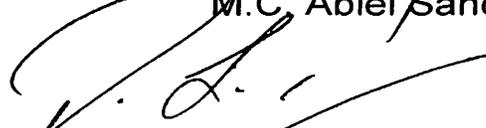


Ph.D. Florencio Jiménez Díaz

Asesor :



M.C. Abiel Sánchez Arizpe



Ph.D. Ramiro López Trujillo
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila, Junio de 2001

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la oportunidad de ser una más de sus becarias y su apoyo económico.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, así como al Centro de capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (C.C.D.T.S), por haberme brindado la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría.

A la Ph. D. Norma Ruiz Torres, por brindarme su asesoría, apoyo y dedicación para el desarrollo de esta investigación.

Al Ph. D. Florencio Jiménez Días, por su asesoría y su gran apoyo en la enseñanza en el laboratorio.

Al Dr. Abiel Sanchez Arizpe, por su asesoría y apoyo en esta investigación.

Al Ing. Jorge Rafael Ramos Arcia, por todos los buenos consejos de amigo, y ser una persona especial, sobre todo el amor que tienes hacia mí.

Al Ph. D. Pedro Cano Ríos, por brindarme su asesoría y apoyo en esta investigación y sobre todo gracias por ser el amigo con el que puedo contar incondicionalmente.

Al M.C. Armando Espinoza Banda, por demostrarme siempre su amistad.

Al Dr. Fernando Borrego, por su apoyo y sugerencias en esta investigación.

Al Campo Experimental de la Laguna (INIFAP), por permitirme utilizar el laboratorio y al Sr. Sergio y Jazmín por su colaboración.

Al Ing. Víctor Manuel Rodríguez y Jorge por todo el apoyo brindado en la investigación.

A la Sra. Juana Martha Oropeza y Rosalba. Así como a todos mis maestros y amigos de la UAAAN - Unidad Laguna.

A mis compañeros y amigos: Víctor, Ariel, Lulu, Jovita, Paulino, Lalo, Olivia y Laura.

A la Srita. Inés Lozano por brindarme su apoyo cuando más lo necesite, gracias por aceptarme en su casa.

Y a todos mis maestros del C.C.D.T.S que compartieron sus conocimientos para lograr mi superación y terminar con el postgrado.

GRACIAS.

DEDICATORIA

A DIOS

Por vivir, guiar mis pasos para lograr los objetivos y metas y darme la vida, gracias a tu bendición no sería capaz de enfrentar las adversidades.

A MI MADRE

Zenaida Martínez Alvarez. A ti mamá por ser mi vida y la persona que me a enseñado a seguir siempre adelante y luchar por lo que amo, y le doy gracias a Dios por tener una madre como tú. Sobre todo gracias por el infinito amor que me tienes.

A MI ABUELITA Y A MI ABUELITO (†)

Catalina y Joaquín. Por ser mi gran bendición y apoyo en la vida. Y a ti abuelito por cuidarme y guiarme desde donde estás.

A MIS HERMANOS

Norma, Aurelio y Felipe. Por apoyarme, quererme y ser mi apoyo. Ya que sino fuera por ustedes este objetivo no lo habría cumplido. A **Susy, Toñita, Betty y Esperanza.** Y mis sobrinos **Pamela, Alonso, Alex y Alan** y a mi tía **Cecilia** por estar conmigo en todo momento. **GRACIAS, LOS AMO**

COMPENDIO

TRANSMISIÓN DE VIRUS EN GENOTIPOS DE MELÓN (*Cucumis melo*, L.) Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD DE SEMILLA.

POR

BLANCA ELIZABETH ZAMORA MARTÍNEZ

MAESTRIA
EN TECNOLOGÍA DE SEMILLAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVUSTA, SALTILLO, COAHUILA. JUNIO 2001

Ph.D. Norma Angélica Ruiz Torres. – Asesor –

Palabras claves: Melón, Semilla, Transmisión, Virus, Calidad física, Germinación, Vigor.

La presente investigación se llevó a cabo en dos etapas, la primera en el invernadero de Alta Tecnología del Departamento de Forestal de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en donde se estableció el cultivo de melón de los genotipos Top Mark y Crusier con la evaluación de diez tratamientos en un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial.

Los tratamientos consistieron en inocular plantas durante diferentes etapas fenológicas con los virus Mosaico del Pepino (VMP) y Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía (VMAP-S).

La segunda etapa se llevó a cabo en laboratorio y consistió en dos fases: la primera en la detección por el método ELISA de los Virus VMP y VMAP-S en tejido vegetativo, fruto (cáscara y pulpa) y semilla (testa y endospermo) en frutos cosechados a madurez fisiológica.

En la segunda fase del trabajo de laboratorio se evaluó la calidad física y fisiológica de la semilla de acuerdo a las regulaciones establecidas por el ISTA (1996).

Los resultados de la prueba ELISA indican presencia de ambos virus de ambos virus en semilla obtenida en invernadero. Se localizaron los dos virus en testa y endospermo y en fruto (cáscara y pulpa) solo se detectó el VMAP-S, con lo que se demuestra la transmisión de los virus mencionados por semilla.

En relación a los genotipos evaluados es importante destacar que la variedad Top Mark presentó mejores valores en germinación estándar para las variables por ciento de germinación, longitud de plúmula y longitud de radícula y solo en primer conteo el híbrido presentó mejores promedios.

Mientras en lo correspondiente a envejecimiento artificial se obtuvo un comportamiento similar entre genotipos, esto es, no se detectaron diferencias estadísticas significativas entre ellos.

Las evaluaciones de calidad en la semilla obtenida en los diferentes tratamientos, indican que las características físicas mostraron una buena calidad dentro de los parámetros evaluados. Sin embargo, en lo correspondiente a calidad fisiológica, la germinación estándar estuvo por debajo del porcentaje establecido para esta especie. Así mismo con referencia al vigor mostró valores altos por lo que se muestra una diferencia amplia entre estos dos parámetros debido probablemente a una latencia inducida por manejo de la semilla.

ABSTRACT

Virus transmission in melon (*Cucumis melo* L.) genotypes and their relation with seed quality.

BY

MASTER OF SCIENCE
IN
SEED TECHNOLOGY

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
BUENAVISTA, SALTILLO, COAH. MÉXICO. JUNE 2001

Ph.D. Norma Angelica Ruiz Torres - Advisor –

Key words: Melon, Seed Transmission, Virus, Physical Quality, Germination, Vigor.

This research was carried out in two steps, the first one in the high technology greenhouse from the Forestry Department from the Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), where two melon genotypes Top Mark and Crusier were established. Ten treatments were evaluated in a randomized complete block design with a factorial arrangement.

The treatments consisted in the inoculation of plants during different phenological stages with the Cucumbeber Mosaic Virus (CMV) and the Papayo ring spot virus - Watermelon Variant (PRSV-W).

The second step was carried out in laboratory and it consisted of two stages: The first one consisted in the detection by the ELISA method of the CMV and PRSV-W viruses in vegetative tissue, fruit (skin and flesh) and seed (seedcoat and endosperm) in fruits harvested at physiological maturity.

In the second stage of the laboratory work the physical and physiological seed quality were evaluated according to the regulations (ISTA, 1996).

The results of the ELISA tests showed the presence of both virus in greenhouse grown seed. Both virus were detected in seed coat and endosperm, while the PRSV-W was only detected on fruit, showing that the viruses were transmitted by seed.

In relation to the evaluated genotypes, it is important to point out that the Top Mark variety showed the best results in the standard germination test for the following variables: germination percentage, plumule length and radicle length, while the hybrid only excelled in the first count variable.

The artificial ageing test showed a similar performance between genotypes, this is, no significant statistical differences were detected between them.

The evaluations of the seed quality from the different treatments showed good physical characteristics. However, for the physiological quality the

standard germination variable was below the established percentage for this species. In relation to the vigor tests, the results showed higher values for all variables than in the germination test, probably due to induced dormancy related to seed handling.

INDICE DE CONTENIDO

	Página
INDICE DE CUADROS	xiv
I. INTRODUCCION	1
II. REVISION DE LITERATURA	5
Virus, efectos, transmisión y detección por serología	5
Calidad de semilla	11
III. MATERIALES Y METODOS	15
Localización del área de estudio	15
Invernadero	16
Material genético	16
Descripción de los genotipos	16
Establecimiento del experimento	17
Variables cuantitativas del fruto	20
Variables cualitativas del fruto	21
Laboratorio	22
Prueba ELISA	22
Estudio de calidad de semilla	24
Material experimental	24

Peso de mil semillas	24
Peso volumétrico	24
Germinación estándar	25
Envejecimiento artificial	25
Longitud de plúmula y longitud de radícula	26
Diseño experimental y análisis estadístico	27
Invernadero	27
Laboratorio	28
IV. RESULTADOS Y DISCUSION	32
Etapa de invernadero	32
Detección de Virus por el método ELISA	35
Calidad de la semilla de melón	49
Peso de mil semillas	50
Peso volumétrico	50
Germinación estándar	54
Envejecimiento artificial	60
V. CONCLUSION	70
VI. RESUMEN	72
VII. LITERATURA CITADA	75
APENDICE	81

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°		Página
3.1	Tratamientos aplicados a los genotipos Top Mark y Crusier.....	18
4.1	Presencia de Virus Mosaico del Pepino en semilla de melón por el método ELISA en las genotipos Top Mark y Crusier.....	37
4.2	Presencia del Virus Mancha Anular del papayo Variante Sandía en semilla de melón por el método ELISA en los genotipos de melón Top Mark y Crusier .	39
4.3	Presencia de Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía por medio del método ELISA en fruto en genotipos de melón Top Mak y Crusier	46
4.4	Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza para parámetros evaluados para calidad física en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus	50
4.5	Comparación de medias por tratamiento de los parámetros evaluados para calidad física para los dos genotipos	51
4.6	Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza para parámetros evaluados para germinación estándar en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus	54
4.7	Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza por genotipo para parámetros evaluados para germinación estándar en semilla de melón en estudio de transmisión de virus	56

4.8	Medias por tratamiento para los parámetros evaluados para germinación estándar para el genotipo Top Mark	57
4.9	Medias por tratamiento para los parámetros evaluados para germinación estándar para el genotipo Crusier	59
4.10	Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza para parámetros evaluados para vigor en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus	61
4.11	Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza por genotipo para parámetros evaluados para vigor en semilla de melón en estudio de transmisión de virus	64
4.12	Medias por tratamiento para los parámetros evaluados para vigor para el genotipo Top Mark	65
4.13	Medias por tratamiento para los parámetros evaluados para vigor para el genotipo Crusier	67

I. INTRODUCCION

La importancia económica y social de la producción de hortalizas en el ámbito mundial hace de esta actividad una fuente importante en la generación de empleo y captación de divisas. El cultivo de melón se considera como una de las principales hortalizas tanto por la superficie que ocupa, como por el valor de la producción.

En los últimos años, la superficie nacional destinada al cultivo de melón se ha incrementado en más del doble, al pasar de 22,000 a 45,000 ha. Así mismo, el volumen de producción nacional ha aumentado al pasar de 320,000 a 592,000 ton para cada periodo (SARH, 1993).

Dentro de los aspectos que limitan la producción de melón se encuentran las plagas, entre las que se pueden citar: pulgones (*Aphis gossypii* Glover y *Myzus persicae* Sulzer), minador de la hoja (*Liriomyza* sp), la chicharrita (*Empoasca* sp.) y la mosquita blanca (*Bemisia tabaci* y *B. argentifolii*). Estas plagas causan daños tanto directos como indirectos, ya que son los principales vectores de virus los cuales son difíciles de controlar una vez que se establecen en el cultivo.

En años recientes, las enfermedades vírales han ocasionado una reducción drástica en el rendimiento de los cultivos hortícolas en la mayoría de las áreas agrícolas, siendo la intensidad del daño relacionada a condiciones locales de clima, manejo del cultivo, plagas, maleza, control químico y cultural, llegando a considerarse como una limitante en la producción y calidad de la fruta, afectando a casi el 90 por ciento de los productores (Vidales, 1987).

La transmisión de virus por semilla, no era un aspecto importante en la epidemiología de estos patógenos en los inicios del presente siglo. Los primeros reportes al respecto aparecieron en los años 20's. En estudios posteriores se ha confirmado su alta eficiencia de transmisión a través de la semilla, y la importancia en la epidemiología de las enfermedades que ocasionan, como son el Virus del Mosaico Común de Frijol (BCMV), el Virus del Mosaico del Pepino (PMV) y el Virus Mosaico de la Calabaza (CMV), los cuales pueden transmitirse, de diferentes especies de plantas hospederas hasta en un 80 y 40%, respectivamente.

Dentro de una misma especie, las diferentes variedades o plantas inoculadas en distintas etapas de su desarrollo pueden variar en el porcentaje de transmisión de virus por la semilla, cuya eficiencia es afectada por altas y bajas temperaturas y por el genotipo del hospedante (Agrios, 1988).

Aún no se sabe con certeza que determina que un virus sea o no transmisible por semilla, algunos pueden sobrevivir en la semilla por algunos

meses y otros por años (Neergard, 1977).

La utilización de técnicas serológicas como lo es la serología por inmunosorbencia con enzimas conjugadas (ELISA), representa una forma precisa de detectar la presencia de virus patógenos ya que es una técnica confiable y precisa, además de ser muy sensible y económica en cuanto al uso de reactivos y equipo, pudiéndose evaluar una gran cantidad de muestras al mismo tiempo (Téliz y Mora, 1986).

Dada la importancia que tienen las enfermedades vírales en las Cucurbitáceas, especialmente en el cultivo de melón, es importante determinar si son transmisibles por semilla y su forma de transmisión, así mismo donde se localizan los virus y por consiguiente el factor calidad, es decir como afecta los atributos de la semilla.

Por lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo general determinar la transmisión de Virus Mosaico del Pepino y Virus Mancha Anular del Papayo variante Sandía en el cultivo del melón en el fruto (pulpa y cáscara) y en diferentes partes de la semilla (testa, endospermo y embrión).

Objetivos

- ◆ Detectar si los Virus Mosaico del Pepino y Virus Mancha Anular del Papayo variante Sandía son transmitidos por semilla en el cultivo del melón y determinar su localización y posición (testa, endospermo o embrión).

- ◆ Determinar la incidencia de semilla infectada en diferentes épocas de inoculación y etapa fenológica.

- ◆ Identificar la localización del virus en el fruto (pulpa y/o cáscara).

- ◆ Determinar la calidad física y fisiológica de la semilla cosechada en los diferentes tratamientos.

Hipótesis

En el cultivo de melón los Virus Mosaico del Pepino y Virus Mancha Anular del Papayo variante Sandía se transmiten por semilla y están localizados en la testa, endospermo y/o embrión, afectando la calidad física y fisiológica de la misma.

II. REVISION DE LITERATURA

Virus, Efectos, Transmisión y Detección por Serología.

Los virus son agentes infecciosos que son parásitos obligados, microscópicos, no respiran y su partícula está formada por una parte central de RNA o DNA y una cubierta de proteína (Lwoff, 1957; Stryer, 1981). El género Cucumovirus está dentro del grupo del virus típico que es el Virus Mosaico del Pepino y se caracteriza por la envoltura proteica y del ácido nucleico, donde muestra también el tamaño relativo de la mayoría de ellas (Lozoya, 1987).

Bernal *et al.* (1992) y Delgadillo (1989) mencionan que entre los virus que atacan a las cucurbitáceas en el ámbito nacional se incluyen Virus Mosaico del Pepino, Virus Mosaico de la Sandía y Virus Mancha Anular del Tabaco, siendo el primero el de más amplia distribución y mayor importancia. Por otro lado Garzón (1990) indica que también se han detectado Virus de la Sandía-2, el Virus Mosaico de la Calabaza y Virus del Enchinamiento de la hoja de la calabaza.

Hecht (1993) menciona que la enfermedad del Virus Mosaico del Pepino (VMP) puede causar grandes pérdidas en la siembra del melón. Tiene una

amplia gama de plantas hospederas entre las que se encuentran maleza, ornamentales, hortalizas, entre otras. Los síntomas de dicha enfermedad consisten de un mosaico en las hojas de color verde claro y verde más oscuro. Por lo general ataca a plantas adultas, donde aparece un moteado en las hojas más jóvenes que se deforman y adquieren un aspecto rugoso, por lo que el crecimiento de la planta se reduce en forma drástica debido a que forma menos guías y los entrenudos del tallo se acortan. En los frutos se forma el mismo moteado del follaje y la reticulación es incompleta, es importante no tener dos sembradíos vecinos de diferente fecha de siembra porque el contagio de la primera puede ser un contagio temprano y esto podrá impedir llegar a cosecha.

El mismo autor señala que el Virus Mosaico de la Sandía o VMS-2 se manifiesta por un moteado o mosaico de las hojas, de color verde claro y oscuro. Generalmente se forman una especie de ampollas entre nervaduras. Las hojas de los cogollos se aglomeran y quedan enrolladas y de tamaño más reducido. Las flores se deforman y pueden no producir frutos. Para evitar esta enfermedad hay que eliminar la presencia de áfidos.

La población patógena afecta la resistencia a la enfermedad por medio de su potencial genético para la virulencia, la densidad de inoculo y la condición fisiológica (en gran parte determinada por el ambiente). La virulencia se define como la capacidad para vencer la resistencia del hospedero. Con frecuencia dentro de las especies patogénicas hay una variación considerable en la

especificidad y el grado de virulencia que muestran los diferentes aislamientos del hongo en las diferentes plantas hospederas (Christiansen, 1991).

La resistencia de una planta o de una parte de la misma, cambia secuencialmente durante el crecimiento y desarrollo (Bell, 1980; Populer, 1979). Ejemplo son las raíces e hipocotilo que son más sensibles a la infección por parásitos facultativos cuando son jóvenes, pero con la edad se tornan progresivamente más resistentes. Al contrario, las hojas alcanzan un pico en la resistencia cuando están jóvenes, a menudo antes del desarrollo completo, pero con la edad se tornan progresivamente más susceptibles. La planta como un todo, a menudo es más resistente durante su edad media, antes del crecimiento mayor de las estructuras reproductoras (semilla, estolones, rizomas, etc.). Un ambiente adverso puede incrementar o disminuir la resistencia hacia las enfermedades, al alterar el patrón de cambios secuenciales asociados con la ontogenia.

El no reconocer los cambios ontogénicos en la resistencia y su interacción con el ambiente, puede conducir a conclusiones erróneas acerca de los niveles de resistencia en diferentes variedades, por ejemplo si se comparan las variedades determinadas se les considera más susceptibles a las enfermedades foliares que las variedades indeterminadas, y por lo contrario si se comparan en su etapa reproductiva, en las mismas condiciones ambientales, de hecho las determinadas pueden ser iguales o más resistentes (Christiansen, 1991).

La transmisión de virus en plantas se lleva a cabo en diversas formas: por propagación vegetativa, mecánicamente a través de la savia y por medio de semilla. El modo de transmisión de los virus más comunes, es a través de insectos vectores. Los insectos más importantes para la transmisión de virus son los áfidos y otros grupos del orden homóptera, así como las que tienen partes bucales perforadoras y succionadoras (Agrios, 1988).

Por su parte Timian (1974) menciona que la perpetuidad de los virus está relacionada estrechamente con hospederos como especies anuales y la presencia de vectores poco móviles transmisores de virus.

La transmisión de los virus por semilla es económicamente significativa en al menos diez grupos conocidos de virus entre los que se encuentran el Virus Mosaico Estriado de la Cebada, Virus Mosaico del Pepino, Virus de la Pera, Virus del Tomate Negro, Virus Mancha anular de la Frambuesa (Stace-Smith y Hamilton, 1988). La transmisión por semilla de otros virus se ha demostrado bajo condiciones experimentales aunque estos no se puedan transmitir bajo condiciones de campo.

Mink (1993) señala la interacción estrecha del virus y su transmisión por semilla, lo cual hace difícil discutir uno sin el otro. Sin embargo, son dos conceptos que se deben considerar aparte, es decir la transmisión por semilla examina los factores en detalle del movimiento de virus en la planta madre hacia las partes de la semilla incluyendo el embrión.

Johansen y Edwards (1994) mencionan que la transmisión a través de semilla es una propiedad intrínseca de por lo menos 21 tipos de virus que se conocen en las plantas, esto es aproximadamente 18% de los virus se transmiten por semilla y se estima que una tercera parte será transmisible en un fruto. Así mismo, hacen mención de la importancia y disponibilidad de nuevas técnicas para estudiar infecciones vírales ya que se ha creado un verdadero interés en compañías productoras de semillas.

Davis y Hampton (1986) y Morales y Castaño (1987) indican que se ha dado una influencia marcada del tiempo de inoculación de la planta en la transmisión por semilla, como un argumento que apoya a la invasión directa al embrión (presencia viral antes de la embriogénesis). Por lo general los resultados en la transmisión son bajas o nulas en plantas inoculadas durante o después de florecer.

La serología se usó por primera vez en la medicina humana como método de diagnóstico y su gran sensibilidad ha superado otras técnicas que se empleaban con anterioridad, y se extiende demasiado rápido a los campos de la patología vegetal (Austin, 1992). La Técnica Serológica de Inmunosorbencia en Enzimas Conjugadas (ELISA) descrita por Téliz y Mora (1986), es extremadamente sensible y reacciona aunque el virus se encuentre en bajas concentraciones.

Flores *et al.* (1997) indican que la técnica ELISA se basa en la interacción

del patógeno (antígeno) y el anticuerpo (que son proteínas inmunoglobulinas, usualmente de conejos), y la reacción se visualiza a través de la acción de la enzima del conjugado sobre el sustrato. Los cuerpos monoclonales son los más específicos debido a que son poblaciones homogéneas de proteínas inmunoglobulinas, esta técnica presenta la ventaja de ser fácilmente montada y una rápida detección de patógenos, además es sensible y permite la cualificación de los microorganismos. La técnica ELISA se basa en un mismo principio, solo cambia el tipo de anticuerpo y el objetivo para su uso. Esta se considera como un sándwich de doble anticuerpo debido a que el antígeno es ubicado entre dos anticuerpos específicos, de captura y marcaje donde en este último se conjuga a la enzima y se puede visualizar la coloración.

Vidales y Delgadillo (1987) realizaron pruebas ELISA en una colecta de semillas de melón, para la detección de varios virus, teniendo resultados satisfactorios, encontrándose que la semilla de melón Top Mark y el híbrido del pepino Calyso de la Compañía Ferrey Morse se encontraban contaminadas con Virus Mosaico de la Calabaza, así mismo los de la compañía Escoseed.

Delgadillo y Garzón (1987) realizaron una colecta de cucurbitáceas como melón, sandía, pepino y calabaza en diversos estados de la república donde evaluaron seis tipos de virus por medio de serología, indicando que el VMAP-S y VMAZ se detectaron durante el trabajo donde este último fue detectado por primera vez en México. Así mismo, se detectaron VMS-2; VMP, VMC y VMAT durante el desarrollo de la investigación.

Por su parte Vega (1989) reporta la detección de enfermedades virosas en testa y endospermo en semilla de chile jalapeño por medio de la técnica ELISA. Así mismo, De León (1993) menciona la eficiencia que se tuvo al realizar estas pruebas en la identificación de fuentes de resistencia del Virus Mosaico del la Sandia-2, en la que manifiestan la susceptibilidad que tiene esta al ser utilizada.

Rueda (1998) realizó evaluaciones en sandía en antiseros contra *Acidovorax avenae pv citrulli* para su detección en la Comarca Lagunera mediante la obtención de muestras de semilla, plántulas, hojas desarrolladas y en fruto, por medio de ELISA. Los resultados mostraron la presencia de *Acidovorax avenae pv citrulli* en semilla de importación, por otra parte no hubo presencia de esta, en plántulas, hoja y fruto obteniéndose resultados negativos.

Calidad de Semilla

La calidad de semilla se agrupa en un conjunto de atributos, en los que se encuentran factores genéticos principalmente la pureza varietal; factores físicos que van desde el concepto tradicional de pureza de la incidencia y severidad del daño mecánico y tamaño de la semilla; el factor patológico (sanitario) que se refiere a cualquier incidencia de enfermedades y por ultimo el factor fisiológico como son la germinación y el vigor. Mientras que en un lote de semillas, las características de calidad incluyen contenido de humedad, potencial de almacenamiento, incidencia de contaminantes (malezas, con semillas de otros

cultivos y materia inerte), uniformidad del lote y potencial de su comportamiento (Delouche, 1986).

Moreno (1996) se refiere a la calidad fisiológica como un conjunto de atributos que van a manifestar la capacidad de producir plántulas normales bajo condiciones óptimas y se verá manifestada en la germinación estándar, vigor, madurez, peso, etc., donde la calidad fisiológica dependerá de factores ambientales que pueden dañar seriamente la semilla en cualquier etapa fenológica.

Garay (1991) asocia a la calidad física con la presencia o en su defecto ausencia de cualquier contaminante que no sea semilla, como pueden ser semillas de otros cultivos, materia inerte, malezas nocivas y comunes e insectos, además se considera a esta como un punto clave para evitar la diseminación de malezas. La calidad física involucra aspectos determinantes en la semilla como lo es el color, forma, brillantez, homogeneidad, humedad, peso volumétrico y peso de mil semillas, ente otros (Moreno, 1996).

La germinación estándar evalúa el porcentaje de semilla viable en términos de habilidad para producir una plántula normal bajo condiciones favorables (Perry, 1981), por su parte Bustamante (1982) nos dice que la capacidad de germinación es el índice de calidad más utilizado. Así mismo, Dasgupta y Austenson (1973) señalan que la prueba de germinación estándar es un indicador útil en la calidad de la semilla de trigo. Por otra lado Popinigis

(1985) menciona que raramente la germinación será útil para pronosticar el comportamiento en campo de la semilla, donde es posible que las condiciones varíen grandemente de condiciones óptimas a totalmente desfavorables.

ISTA (1985) define al vigor de la semilla como la suma total de todas aquellas propiedades de la semilla que determinan el nivel de actitudes y comportamiento de la semilla o lote de semillas durante su germinación y emergencia de la plántula, donde las semillas que se comportan bien se llaman semillas de alto vigor y por el contrario semillas de bajo vigor.

Por su parte la AOSA (1983) señala que el vigor de la semilla determina el potencial para una rápida y uniforme emergencia y el desarrollo de plántulas normales bajo un amplio rango de condiciones ambientales y cita que el deterioro natural o artificial de la semilla, implica cambios en la mitocondría y el retículo endoplasmático que se ven afectados disminuyendo grandemente la fuente de energía (ATP).

Delouche y Baskin (1973) señalan que el envejecimiento acelerado es una prueba de calidad, propuesta para predecir el potencial de almacenamiento y el comportamiento en el campo de algunas semillas.

Perry (1981) propuso que la medición del crecimiento o longitud de la plántula es un ensayo de vigor, por otra parte Nebreada y Parodi (1977) en triticale reportaron que las plúmulas producidas de semillas de mayor peso

fueron significativamente más largas que aquellas provenientes de menos pesadas, esto también ha sido citado por Chan *et al.* (1985) en sorgo, y en cebada (McDaniel, 1969).

La prueba de peso seco de plántula se basa en el concepto de que las semillas vigorosas son capaces de sintetizar eficientemente nuevos materiales nutritivos y transferir estos nuevos productos al eje embrionario que está emergiendo, resultando en acumulaciones de peso seco (Copeland y McDonald, 1985), por otra parte Rincón (1989) reporta que el peso seco de plántula utilizado como prueba de vigor, es poco confiable debido a que no permitió diferenciar los niveles de calidad a lo largo de un período.

III. MATERIALES Y METODOS

Localización del Area de Estudio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en dos etapas: la primera se realizó en el Invernadero de Alta Tecnología del Departamento de Forestal, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), el cual presenta una temperatura que fluctúa entre 28 y 31°C, con una humedad relativa del 75 por ciento. La Universidad se localiza en Buenavista Saltillo, Coahuila, entre los paralelos 25°22' y 25°21' de Latitud Norte y los meridianos 101°103' de Longitud Oeste y una altitud de 1743 msnm.

La segunda etapa se llevó a cabo en el Laboratorio del Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (C.C.D.T.S) de la UAAAN y en el Laboratorio de Fitopatología del Campo Experimental de la Laguna (INIFAP) ubicado en Matamoros, Coahuila.

Invernadero

Material Genético

Se utilizaron dos materiales, la variedad Top Mark y el híbrido Crusier que es un material tolerante a enfermedades y de buen rendimiento lo cual lo hace muy conveniente al productor.

Descripción de los genotipos

Crusier. Es un material de maduración temprana que se caracteriza por tener un fruto de tamaño uniforme, de apariencia refinada, de forma redonda con un peso promedio de 2.0 – 2.5 kg. Con un alto contenido de sólidos solubles, de excelente textura de pulpa, la cual es de color salmón (o naranja) y excelentes rendimientos bajo condiciones adversas y presenta tolerancia a la cenicienta polvoriento.

Top Mark. Es una variedad de polinización abierta, su relativa maduración es de 85 días, el peso promedio de los frutos es de 1.4 kg, presenta una corteza dura con ligeras costillas y una red densa, la pulpa es de textura mediana y compacta y de color salmón, reacciona a uno o más razas del mildiú polvoriento, es tolerante a las aplicaciones de azufre y además es una planta vigorosa.

Establecimiento del Experimento

La primera fase del experimento se montó a finales del mes de marzo de 1999, se inició con el llenado de 80 macetas de polietileno negro con una capacidad de 20 kg. Se utilizó graba como sostén de la maceta, la cual fue previamente lavada con jabón en polvo y desinfectada con cloralex diluido al 15%, después se agregó sustrato Premier Promix – BX dejando la maceta a unos 3 cm de su capacidad total.

La siembra se realizó en dos diferentes fechas, la variedad Top Mark el día 25 de Abril y el híbrido el 27 del mismo mes.

Alrededor del experimento se construyó una estructura de madera en donde se colocó hilo de polipropileno en cada una de las plantas a manera de tutor, con la finalidad de servirles de guía, enredando una rama conforme crecía.

Se realizó un riego previo a la siembra para saturar el sustrato con la finalidad de evitar el endurecimiento del mismo y así permitir a la semilla iniciar su actividad. Enseguida se aplicaron riegos ligeros para mantener la humedad necesaria para la emergencia de la plántula. Posteriormente, durante el desarrollo de la planta se aplicaron riegos cada tercer día, hasta las etapas de floración, cuajado y llenado del fruto.

Con la aparición de las primeras hojas verdaderas los riegos se combinaron con Raizin, el cual proporcionó algunos reguladores de crecimiento, micro y macronutrientes. Se hizo una fertilización directa al sustrato con fertilizantes granulados (20.5-00-00-24 y 18-46-00), evitando el contacto con la pántula y la bolsa de polietileno con la finalidad de minimizar el daño a la planta.

Con la finalidad de combatir áfidos y mosquita blanca se realizaron aplicaciones de Confidor y Thiodan a razón de 1.5 ml^{-1} y 1.0 ml^{-1} , respectivamente.

Se evaluaron diez tratamientos los cuales consistieron de inoculaciones con Virus Mancha Anular del Papayo variante Sandía y Virus Mosaico del Pepino, en diferentes etapas fenológicas (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1 Tratamientos aplicados a los genotipos Top Mark y Crusier.

TRATAMIENTOS	
1	Inoculaciones en la primera hoja verdadera con Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía (VMAP-S).
2	Inoculaciones en la primera hoja verdadera con Virus Mosaico del Pepino (VMP).
3	Inoculaciones en la primera hoja verdadera con VMAP-S y VMP.
4	Inoculaciones en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMAP-S.
5	Inoculaciones en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMP.
6	Inoculaciones en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMAP-S y VMP.
7	Inoculaciones de la primera a la quinta hoja verdadera con VMAP-S.
8	Inoculaciones de la primera a la quinta hoja verdadera con VMP.
9	Inoculaciones de la primera a la quinta hoja verdadera con VMAP-S y VMP.
10	Testigo.

Las inoculaciones se realizaron manualmente, las cuales consistieron en la aplicación de carborundum a las hojas para provocar pequeñas lesiones, posteriormente se inocularon con un macerado de planta infectada inmerso en una solución de extracción (Cuadro A.3) que permite que los virus se liberen fácilmente del tejido y se mantengan viables por largo tiempo.

La floración se inició con la aparición de las flores macho, observándose primeramente en el híbrido. Ocho días después se inició la diferenciación floral femenina y hermafrodita, procediéndose a polinizar en forma manual. La polinización consistió en remover el polen de la flor macho con un pincel y depositarlo en los receptáculos de las flores fértiles, en ocasiones se recurrió a romper anteras con bisturí y pinzas para facilitar la extracción del polen.

La polinización se realizó por las mañanas de 10:00 A.M. a 12:00 P.M. y por las tardes de 17:00 a 19:00 P.M., horas en que se obtuvo polen de mejor calidad. Inicialmente se observó un 50 por ciento de aborción floral, aumentando considerablemente debido a que las polinizaciones manuales son de gran riesgo para el amarre de frutos en el cultivo del melón, por lo que fue necesario realizar varias pasadas por un par de días en cada flor. Se obtuvo por lo menos un fruto por planta.

La cosecha inicio el 28 de julio de 1999, tomándose como indicador que el pedúnculo se desprendiera fácilmente del fruto. La cosecha se realizó en diecisiete fechas, etiquetando cada fruto cosechado con su genotipo y repetición.

Para la obtención de la semilla se utilizó la metodología descrita por Molina *et al.* (1990), la cual indica que la mejor forma de extraer la semilla del fruto es mediante un proceso de fermentación de las placentas por un período de 12 a 24 horas, en donde se obtendrá el 96% de germinación, así mismo es recomendable almacenar el fruto 4 días después de la cosecha para incrementar el vigor de la semilla. Posteriormente, fueron lavadas con agua corriente para retirar el tejido mucilaginoso, enseguida se depositaron en mallas de plástico para iniciar el secado de las mismas.

Variables Cuantitativas del Fruto

- a). **Peso.** El peso total del fruto se obtuvo con una balanza de tipo granataria de cucharón OHAUS™, reportándose en gramos.
- b). **Diámetro ecuatorial.** La lectura se obtuvo midiendo el diámetro del fruto, por su parte más ecuatorial, posteriormente se realizó un corte transversal, se procedió a medir el diámetro con un vernier reportándose en centímetros.
- c). **Diámetro polar.** Se evaluó midiendo el fruto por la parte más polar, procediéndose a medir en forma longitudinal con un vernier, expresándose en centímetros.

- d). **Diámetro placentario.** Una vez realizado el corte transversal del fruto se procedió a medir con un vernier el diámetro de la cavidad del tejido placentario, reportándose en centímetros.
- e). **Espesor de la pulpa.** Se realizó con la ayuda de un vernier, la lectura se tomo donde inicia el tejido placentario hasta el inicio de la cáscara, reportándose en centímetros.
- f). **Espesor de la cáscara.** Se midió la parte exterior de la pulpa hasta la epidermis del fruto, con un vernier. Sé expreso en centímetros.

Variables Cualitativas del Fruto

- a) **Grados Brix.** Se determinó la cantidad de sólidos solubles (cantidad de azúcar) con un refractometro manual AO, el cual tiene una escala de 0 a 32 grados.
- b) **Tipo de Red.** Se determinó en forma visual, es decir observando si la red estaba marcada o en su defecto esta no estaba lo suficientemente marcada.

Laboratorio

Método Elisa

Los virus se detectaron siguiendo la metodología descrita por Téliz y Mora (1986), por medio de la Técnica Serológica de Inmunosorbencia en Enzimas Conjugadas (ELISA) (Cuadro A.6). Se utilizaron gammaglobulina y conjugada de la Compañía AGDIA.

La técnica ELISA es muy sensible y reacciona aún cuando se encuentre el virus en bajas concentraciones, por lo que en cada prueba realizada en este trabajo se tomaron hojas, tallos, frutos (cáscara y pulpa), semilla (testa y embrión); en el caso de semilla se tomaron de 10 a 15, separando la testa del endospermo, esto se realizó con la ayuda de bisturíes estériles, posteriormente se depositaron en tubos tipo Ependorff individualmente; agregándose 1.0 ml^{-1} de solución de extracción (Cuadro A.3), almacenándose por un período de 12 horas a una temperatura de 4°C , esto se hizo para que la solución se embebiera en cada uno de los tejidos, para facilitar la liberación de los virus, posterior a esto se realizó el macerado en morteros con pistilo de porcelana.

Con relación a hojas, tallos y frutos la maceración se realizó añadiendo 5.0 ml^{-1} de solución de extracción a 1.0 g de los tejidos mencionados, cabe destacar que la molienda se hizo inmediatamente en morteros de porcelana sin

necesidad de almacenar, ya que el material es suave y la solución de extracción actúa rápidamente.

El método ELISA consistió en ocho pasos los cuales se mencionan a continuación:

- a) Cubrir las paredes del plato de poliestireno con gammaglobulina de cada virus.
- b) Lavar el plato.
- c) Preparación de la muestra.
- d) Colocación de la muestra en el plato y lavado del mismo modo.
- e) Colocación de la conjugada de gamaglobulina con la enzima.
- f) Lavado del plato.
- g) Reacción con el sustrato de la enzima.
- h) Evaluación de la reacción.

El procedimiento completo se presenta en el A.6. La evaluación de la reacción producida por la hidrólisis del sustrato por la enzima se realizó después de una hora, esperando un tiempo máximo de tres horas para hacer la lectura. La coloración indicadora de la presencia de virus es de color amarillo (+), la ausencia de color es para los negativos (-).

Estudio de Calidad de la Semilla.

Material Experimental

Se utilizó semilla de los frutos obtenidos de plantas evaluadas en la etapa invernadero, los genotipos Top Mark y Crusier.

Peso de Mil Semillas (PMS). Se realizó con semilla pura, tomándose ocho repeticiones de 100 semillas, de cada muestra el conteo de semillas se hizo con la ayuda de abatelenguas para facilitar el manejo, cada una de las muestras se pesó en una balanza digital OHAUS™ de dos dígitos y se expresó en gramos (ISTA, 1996).

Peso Volumétrico (PV). Debido a que se contaba con poca cantidad de semilla no se pudo determinar este peso con la balanza, por lo que se empleó el método del vaso de precipitado. Utilizándose dos vasos de porcelana de diferente capacidad y uno más para contener la semilla, la semilla se vertió en los vasos hasta derramarse a una distancia ± 20 centímetros, para lograr un buen acomodo de la semilla. Enseguida, se pasó una regla de madera por el borde del vaso en forma de zig, zag, para eliminar el excedente, posteriormente se pesó en gramos en una balanza digital OHAUS™ de dos dígitos (ISTA, 1996), realizando tres repeticiones por muestra. El peso volumétrico se determinó utilizándose la siguiente fórmula:

$$\text{Peso Volumétrico} = \frac{\text{Peso de la semilla} \times 100}{\text{Volumen del vaso}}$$

Germinación Estándar (GE). Se realizó conforme a las reglas recomendadas por la ISTA (1996), el procedimiento del ensayo de germinación consistió en tres repeticiones de 25 semillas cada uno, las cuales fueron tomadas al azar, y colocadas en toallas de papel Anchor húmedas; enrolladas en forma de “tacos” o “muñecas”, orientándose el embrión hacia abajo para que la radícula, hipocotilo y epicotilo se desarrollaran sin problema. Los tacos fueron etiquetados debidamente con un lápiz tinta, posteriormente se colocaron en una cámara germinadora marca Hoffman manufacturing, modelo TMP10 a una temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, manteniendo el material húmedo durante la prueba, por ocho días. Las evaluaciones se realizaron a los cuatro días, contabilizando únicamente plántulas normales y a los ocho días se incluyeron las plántulas normales, anormales duras y/o muertas. El porcentaje de germinación resulta de la suma de las plántulas normales del primer y segundo conteo.

Envejecimiento artificial (EA). Para esta prueba se utilizaron vasos de precipitado de 250 ml conteniendo 75 ml de agua, donde se colocaron dos mallas, una en forma de tubo y otra donde se depositaron 85 semillas tomadas al azar, los vasos se cubrieron con plástico el cual fue sujetado con ligas. Los vasos se colocaron en una cámara de envejecimiento acelerado tipo VWRScientific a una temperatura de 40°C por un periodo de 48 horas, con una humedad relativa del 100 por ciento, ISTA (1996). Posteriormente, la semilla se

sembró en papel Anchor de la misma forma que en germinación estándar, el resultado de esta evaluación refleja el vigor de la semilla.

Longitud de Hipocotilo (LH) y de Radícula (LR). Esta prueba fue realizada en germinación estándar y envejecimiento acelerado. Para evaluar el desarrollo de la plántula (longitud del hipocotilo), se trazo con un lápiz una línea a once centímetros del borde del papel Anchor y a continuación se trazaron líneas paralelas a una distancia de dos centímetros de línea a línea. Sobre la marca de la primer línea se colocaron 25 semillas a una distancia de medio centímetro una de otra, con la plúmula dirigida hacia arriba. El papel se enrolló en forma de taco o muñeca.

Al concluir la prueba, se contaron las plúmulas de las plántulas normales situadas entre cada par de líneas paralelas. Cada punto medio entre dos líneas paralelas le correspondió un valor, por ejemplo para el punto medio entre la línea inicial y la línea paralela se le asignó 1, al siguiente punto intermedio 3, a las siguientes 5, 7, 9 11 y 13 sucesivamente. El número de plúmulas que quedó entre dos líneas paralelas se multiplicó por el valor medio de dichas paralelas y los productos se suman. La longitud total se divide entre el número de semillas que se utilizaron para el cálculo, de la siguiente manera:

$$L = \left(\frac{nx_1 + nx_3 \dots \dots \dots + nx_{13}}{\# \text{ semillas establecidas}} \right)$$

en donde:

L = longitud media de las plúmulas.

n = número de plúmulas entre cada par de paralelas.

x = distancia media desde la línea central.

Posteriormente, se tomaron siete plántulas normales al azar, se midieron con una regla para obtener un promedio y reportarlo en centímetros.

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

Invernadero

Diseño Experimental

Para evaluación de los tratamientos en invernadero en su etapa fenológica de desarrollo a cosecha se utilizó un diseño de bloques completos al azar con arreglo factorial. En la variedad Top Mark se evaluaron 10 tratamientos con 6 repeticiones y para el híbrido Crusier 10 tratamientos con 2 repeticiones. Donde los parámetros estuvieron representados por 2 genotipos (Ge) y 10 tratamientos (Tr). La unidad experimental estuvo representada por una maceta (bolsa) de polietileno negro con capacidad de 20 kg.

Análisis de Varianza

En la etapa de invernadero para la producción de fruto y semilla para

cada variable se realizó un análisis de varianza mediante la metodología de un diseño completamente al azar con un arreglo factorial usando el procedimiento GLM de SAS (SAS, 1990), donde en cada análisis se probaron los efectos de genotipos (Ge) y tratamientos (Tr), para observar las variaciones de cada uno de estos. El modelo factorial usado es el siguiente:

Modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + v_i + \tau_j + (v\tau)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

i es el 1, 2, genotipo; j es el 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, tratamiento.

Donde:

Y_{ijk} = es el valor de la característica en estudio; μ es la media general; v es el efecto del i – ésimo genotipo; τ es el efecto del j – ésimo tratamiento; $(v\tau)_{ij}$ es el efecto conjunto e interacción del i – ésimo genotipo por el j – ésimo tratamiento; ϵ_{ijk} es el error experimental.

Laboratorio

Diseño Experimental

En relación de la calidad física se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de tratamientos 2 x 10 con cuatro repeticiones para peso de mil semillas y tres repeticiones para peso volumétrico.

Para la determinación de la calidad fisiológica de la semilla de melón, se realizaron pruebas de germinación estándar y envejecimiento acelerado o artificial (vigor) usando un diseño completamente al azar con un arreglo factorial de tratamientos 2 x 10 con tres repeticiones. Los factores estuvieron representados por dos genotipos (Ge) y 10 tratamientos (Tr).

Análisis de Varianza

Para las variables de calidad física y calidad fisiológica se realizó un análisis de varianza mediante la metodología de un diseño completamente al azar con arreglo factorial usando el procedimiento GLM de SAS (SAS, 1990). Donde en cada análisis de varianza se evaluaron los efectos de los genotipos (Ge) y tratamientos (Tr), para observar la variación de cada uno de ellos y la forma de interacción.

Modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + v_i + \tau_j + (v\tau)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

i es el 1, 2, genotipo; j es el 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, tratamiento.

Donde:

Y_{ijk} = es el valor de la característica en estudio; μ es la media general; v es el efecto del i – ésimo genotipo; τ es el efecto del j – ésimo tratamiento;

$(\nu\tau)_{ij}$ es el efecto conjunto e interacción del i – ésimo genotipo por el j – ésimo tratamiento; ε_{ijk} es el error experimental.

Análisis Covarianza

Anteriormente, se realizó un análisis de covarianza la cual es una técnica que resulta útil para mejorar la precisión de un experimento.

Modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + g_i + \tau_j + (g\tau)_{ij} + \beta (\chi_{ij} - \bar{X}) + \varepsilon_{ijk}$$

i es el 1, 2, genotipo; j es el 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, tratamiento.

Donde:

Y_{ijk} = es el valor de la característica en estudio; μ es la media general; g es el efecto del i -ésimo genotipo; τ es el efecto del j -ésimo tratamiento; $(g\tau)_{ij}$ es el efecto conjunto e interacción del i -ésimo genotipo por el j -ésimo tratamiento; β es el coeficiente de regresión; χ_{ij} es el valor de la covarianza; \bar{X} es la media general de la covariable y ε_{ijk} es el error experimental.

Con el análisis de covarianza se buscó adaptar el valor observado a la respuesta para tomar en cuenta el efecto de la covariable. Si no se lleva a cabo

dicho ajuste, la covariable aumenta el cuadrado medio del error, con lo que hay mayor dificultad en la detección de diferencias reales en la respuesta debidas a los tratamientos. Por lo tanto, el análisis de covarianza es un método para tomar en cuenta el efecto de la variable fecha de cosecha que no fue controlada, este procedimiento es una combinación de los análisis de varianza y regresión.

En donde los efectos del tratamiento después de ajustar se estimaron por covarianza de la siguiente manera:

$$Y_i = \gamma_i - \beta (\chi_i - \bar{x})$$

Donde:

Y_i = efecto del tratamiento; γ_i = variable; β = coeficiente de covarianza;
 χ_i = covariable; \bar{x} = media general de la covarianza.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Etapa de Invernadero

En el Cuadro A.7 se muestran los cuadrados medios y significancia estadística de los análisis de varianza de las variables evaluadas en la etapa de invernadero para ambos genotipos. La fuente de variación genotipos presenta una alta diferencia significativa ($P \leq 0.01$) para las variables peso y diámetro ecuatorial, mientras que en lo correspondiente a diámetro placentario y grados Brix se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$). La diferencia entre genotipos es debida principalmente a que los materiales evaluados son genéticamente diferentes. Crusier es un híbrido con tolerancia a algunos virus, mientras que Top Mark es una variedad catalogada como susceptible.

La fuente de variación tratamientos y la interacción genotipos x tratamientos nos indican que son estadísticamente iguales para todos los tratamientos evaluados. El que no se haya detectado diferencia significativa entre tratamientos deja ver que para parámetros evaluados en invernadero el efecto de las inoculaciones con virus llevadas a cabo en diferentes etapas fenológicas tuvieron un efecto muy similar.

Aunque no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, se consideró importante desde el punto de vista biológico presentar los promedios para las variables evaluadas en invernadero (Cuadros A.8 y A.9) para cada genotipo.

Para el híbrido Crusier en los tratamientos 3 y 4 en donde se inoculó con virus en la primera hoja verdadera con VMAP-S y VMP y virus en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMAP-S, respectivamente, se encontraron frutos que en promedio presentaron un menor peso (827.8 y 894.7 g) y diámetro ecuatorial (10.95 y 11.25 cm) y polar (13.62 y 13.50) que el resto de los tratamientos.

En cuanto al testigo (tratamiento 10) se manifestó un comportamiento inesperado, ya que para las variables peso, diámetro ecuatorial y longitud de pulpa y cáscara presentó los valores más bajos. En el tratamiento 6 (inoculaciones en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMAP-S y VMP) se observó el mejor peso (1740.0 g) y diámetro ecuatorial y polar con 13.78 y 21.00 cm, respectivamente.

Así mismo, el Cuadro A.9 contiene la comparación de medias para tratamientos en la variedad Top Mark, en donde se observó para las variables peso, diámetro ecuatorial, polar y de placenta, grados Brix y longitud de pulpa y cáscara no existen diferencias significativas entre tratamientos, lo cual como se mencionó anteriormente indica que los tratamientos evaluados tuvieron un

efecto similar. Sin embargo se puede observar que para las variables peso, diámetro ecuatorial y diámetro polar en los tratamientos 4, 5, 6 y 7 se obtuvieron los frutos de mayor tamaño. Con relación al diámetro de placenta se encontró el menor valor en los tratamientos 2 y 8 (4.32 y 4.31 cm, respectivamente).

Para la variable grados Brix que expresa el contenido de sólidos solubles (azúcar) se encontró que el testigo presentó uno de los valores más bajos (7.50), mientras que en los tratamientos 5, 6 y 7 se detectaron los valores más altos.

En cuanto a longitud de pulpa se observó un rango de variación pequeño con valores que van de 2.77 cm en el tratamiento 9 a 3.80 cm en el tratamiento 7.

Para longitud de cáscara, que es una característica importante de calidad del fruto se detectó también una variación pequeña, encontrándose los valores más bajos en los tratamientos 6 y 8 (0.21 y 0.19 cm) mientras que el testigo mostró un valor intermedio (0.36 cm), ya que el valor más alto se presentó en el tratamiento 4 con 0.42 cm.

Al igual que en el híbrido Crusier el testigo para Top Mark presentó características menos deseables que el resto de los tratamientos, considerándose como un resultado inesperado.

De manera general y de acuerdo a los promedios a través de tratamientos se observa que el híbrido Crusier presentó los valores mas altos para las variables peso, diámetro ecuatorial, polar y placenta, grados Brix y longitud de pulpa el híbrido, lo cual indica que por su genotipo posee un mayor vigor.

Ibarra (1989) menciona que la calidad del fruto del melón se ve afectada por la presencia de enfermedades virosas, lo cual causa una baja en la producción, diámetro de fruto, grosor y longitud de pulpa y grados Brix, dichas enfermedades son transmitidos por insectos como los áfidos.

Así mismo, Coudriet (1962) dice que es lógico pensar que la producción será afecta por el Virus Mosaico del Pepino y Virus Mosaico de la Sandía en el cultivo de melón, entre los vectores que causan estas enfermedades se encuentran los pulgones. Por lo cual basándose en lo mencionado se puede inferir que la producción se reduce por la transmisión de virus.

Etapa de Laboratorio

Detección por el método ELISA

La detección de los virus para localizar su posición de los diferentes tejidos se realiza por la prueba serológica como lo es el método ELISA, el cual

se describe ampliamente en el apéndice (A.6). Y los resultados de estas pruebas se dan a continuación.

En el Cuadro 4.1 se presentan los resultados de la prueba ELISA para presencia del Virus Mosaico del Pepino en semilla de dos genotipos de melón. Se observa que en el tratamiento 1 se obtuvo únicamente un positivo débil en testa en el genotipo Top Mark, mientras que para el genotipo Crusier se obtuvo un positivo débil en endospermo.

Para el tratamiento 2 se detectaron dos muestras con presencia del virus, una positiva y otra positiva débil, ambas en endospermo.

El tratamiento 4 dio un resultado positivo y un positivo débil en endospermo para el genotipo Top Mark, mientras que el híbrido Crusier se obtuvo un solo positivo.

Para el tratamiento 6 se observó un positivo en cada genotipo en endospermo.

Con relación al tratamiento 8 se detectó un positivo en endospermo en la variedad Top Mark. En el tratamiento 9 se observaron 2 muestras positivas, una en cada genotipo en tejido de endospermo.

Cuadro 4.1. Presencia de Virus Mosaico del Pepino en semilla de melón por ELISA en los genotipos de melón.

TRATAMIENTO	GENOTIPO	TEJIDO	NUMERO DE MUESTRAS	FECHAS DE COSECHA																		
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17		
1	Top Mark	Endospermo	1																			
		Testa	0																			
	Crusier	Endospermo	1																		‡	
		Testa	0																			
2	Top Mark	Endospermo	1																		‡	
		Testa	0																			
	Crusier	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
3	Top Mark	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
	Crusier	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
4	Top Mark	Endospermo	0																			
		Testa	2																			
	Crusier	Endospermo	0																			
		Testa	1																			
5	Top Mark	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
	Crusier	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
6	Top Mark	Endospermo	0																			
		Testa	1																			
	Crusier	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
7	Top Mark	Endospermo	0																			
		Testa	1																			
	Crusier	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
8	Top Mark	Endospermo	0																			
		Testa	1																			
	Crusier	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
9	Top Mark	Endospermo	0																			
		Testa	1																			
	Crusier	Endospermo	0																			
		Testa	0																			
10	Top Mark	Endospermo	1																			
		Testa	0																			
	Crusier	Endospermo	1																			
		Testa	0																			

Cada fecha de cosecha corresponde a una muestra.
 +=Positivo. ‡= Positivo débil en la prueba de ELISA.

En el testigo (tratamiento 10) se observaron 2 positivos débiles en testa para la variedad Top Mark y un positivo débil para testa en el híbrido Crusier.

El que se haya detectado positivos en el testigo puede indicar que se presentó transmisión de virus por contacto manual de las plantas durante su crecimiento.

Vidales (1987), detectó la presencia del virus Mosaico del Pepino en semilla de melón después de realizar colectas de muestras en diferentes empresas, sin embargo no indica en que parte de la semilla se detectó.

Gillaspie *et al.* (1993) detectaron transmisión por semilla en cuatro lotes de chícharo de vaca del Virus Mosaico de la Mancha Negra con una incidencia del 0.4 al 50%, para lo cual separaron los cotiledones y el eje embrionario y fueron evaluados separadamente por el método ELISA. En los análisis encontraron el virus tanto en cotiledones como eje embrionario, mientras que en la testa se detectó poco virus infeccioso.

En el cuadro 4.2 se reportan los resultados de la prueba ELISA para la presencia de Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía para ambos genotipos.

En el híbrido Crusier se detectó un positivo en endospermo y un positivo débil en testa. Para la variedad Top Mark no se detectaron muestras con

Cuadro 4.2. Presencia de Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía en semilla de melón por ELISA en los genotipos de melón.

TRATAMIENTO	GENOTIPO	TEJIDO	NUMERO DE MUESTRAS	FECHAS DE COSECHA															
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	Top Mark	Endospermo	0																
		Testa	0																
2	Crusier	Endospermo	4																
		Testa	1																‡
	Endospermo	5																	
	Testa	1																	
	Endospermo	0																	
3	Crusier	Endospermo	1																
		Testa	1																
	Endospermo	2																	
	Testa	1																	
	Endospermo	3																	
4	Crusier	Endospermo	1																
		Testa	1																
	Endospermo	4																	
	Testa	0																	
	Endospermo	1																	
5	Crusier	Endospermo	1																
		Testa	0																
	Endospermo	1																	
	Testa	0																	
	Endospermo	0																	
6	Crusier	Endospermo	1																
		Testa	0																
	Endospermo	1																	
	Testa	0																	
	Endospermo	0																	
7	Crusier	Endospermo	2																
		Testa	0																
	Endospermo	2																	
	Testa	0																	
	Endospermo	0																	
8	Crusier	Endospermo	2																
		Testa	0																
	Endospermo	2																	
	Testa	0																	
	Endospermo	0																	
9	Crusier	Endospermo	3																
		Testa	0																
	Endospermo	0																	
	Testa	0																	
	Endospermo	0																	
10	Crusier	Endospermo	1																
		Testa	1																
	Endospermo	1																	
	Testa	1																	
	Endospermo	3																	

Cada fecha de cosecha corresponde a una muestra.
 +=Positivo. ‡= Positivo débil en la prueba de ELISA.

presencia de virus, para el tratamiento 2 hubo una mayor frecuencia de positivos, sobre todo para la variedad Top Mark, en donde para tejido de endospermo se detectaron 5 muestras positivas, mientras que en testa, se identificó una positiva. De manera contraria, para el híbrido Crusier se detectó un positivo débil en testa.

La prueba ELISA detectó en el tratamiento 3 para la variedad Top Mark dos positivos en endospermo y un positivo débil en testa. Mientras que para el genotipo 2 se detectaron tres positivos en endospermo y un positivo en testa.

McDonal y Hamilton (1972) y Uyemoto y Grogan (1977) señalan que la presencia de infecciones virosas en partes de la semilla fuera del embrión (testa) resulta en la transmisión por semilla del Virus Mosaico Meridional del Frijol. Indican además, que la tasa de transmisión por semilla es baja y que la mayoría de virus en la testa y el embrión se inactivan durante la maduración.

Johansen y Edwards (1994) realizaron una serie de investigaciones en donde muestran que la inactivación de los virus en la testa durante la maduración de la semilla se observa en numerosos casos como: Virus Mosaico de la Alfalfa, Virus Mosaico de la Soya, Virus Mosaico Común del Frijol, Virus Moteado Clorotico del Garbanzo, Virus Mosaico Enano del Maíz, Virus Mosaico de la Pera. Tal inactivación explica el porque los virus infecciosos raramente ese encuentran en la testa.

Para el tratamiento 4 se encontraron 3 lecturas positivas en endospermo de la variedad Top Mark y 1 positiva igualmente en endospermo para el híbrido Crusier.

Con relación al tratamiento 5 se identificó un positivo en cada genotipo en tejido de endospermo. Igualmente para el tratamiento 6 únicamente se identificaron 2 positivos para cada genotipo en tejido de endospermo.

Para el tratamiento 7 se identificó un positivo en endospermo para la variedad Top Mark y un positivo débil en testa para el híbrido Crusier.

En el tratamiento 8 en tres de las cuatro muestras analizadas se identificaron positivos para la variedad Top Mark en tejido de endospermo.

Para el tratamiento 9 solamente una de las tres muestras resultó positiva en testa y endospermo para el híbrido Crusier. El testigo (tratamiento 10) para la variedad Top Mark presentó un positivo en endospermo y tres en testa, y para el híbrido Crusier se detectó un positivo en endospermo y un positivo débil en testa. Estos resultados sugieren que el virus se puede transmitir a través del rose de la persona que conduce el experimento, entre plantas con virus y plantas libres de virus.

En el presente trabajo no se detectó la frecuencia de los virus en estudio en el embrión, pero existen diferentes reportes en otros cultivos en donde se ha identificado la presencia de los virus.

Carroll *et al.* (1979) determinaron que la resistencia a la transmisión por semilla del Virus Mosaico Rayado de la Cebada es un carácter recesivo y la transmisión por semilla expresada en la generación F₁ fue de 64.6% y en la crucea recíproca fue de 39.6%, esta diferencia se debe principalmente a que la transmisión de este virus por semilla es más frecuente a través del óvulo infectado que a través del polen infectado.

De acuerdo con Adams y Kuhn (1977) la transmisión por semilla del Virus Moteado del cacahuete es consecuencia de la infección del embrión y la transmisión del virus varió de 0.5 a 8.3% en un experimento llevado a cabo con semilla obtenida en campo. Adams y Kühn (1977), Alconero *et al.* (1986), Bailiss y Offei (1990), Bowers y Goodman (1982), reportan de un 0 a un 20% de frecuencia de transmisión de virus por semilla en los cultivos de cacahuete, chícharo, alfalfa y soya, respectivamente.

Uyemoto y Grogan (1977) reportan transmisión de 3 razas del Virus Mosaico Sureño del Frijol (VMSF) a través de los embriones en tres cultivares de frijol y encontraron también que hay una mayor frecuencia de transmisión en semillas inmaduras que en semillas maduras. Por otra parte Carroll (1981) menciona que por consiguiente, la transmisión por semilla de VMSF es al

parecer determinada por la habilidad de este virus de invadir los órganos masculinos a los meristemas reproductores femeninos en una fase muy temprano en su desarrollo, lo cual infecta indirectamente al embrión.

El acceso del virus al embrión es indirectamente por la infección de los tejidos reproductivos antes de la embriogénesis (óvulo, célula megaspora madre, célula polen madre), o directamente por invasión del embrión durante algunas etapas de la embriogénesis. Por su parte Hemmati y McLean (1977) y Mink (1993) mencionan que raramente se han encontrado virosis provocadas por polen infectado a los embriones, en tejidos sanos.

La mayoría de los experimentos sugieren entrada indirecta de los virus dentro del embrión, pero también hay evidencia de la invasión directa. Los mecanismos de las rutas de entrada de los virus aún no están plenamente identificados (Johansen y Edwards, 1994).

Wang y Maule (1992 y 1993) presentaron nuevas evidencias de la invasión directa del embrión en el cultivar Vedette de chícharo. En este caso la transmisión por polen del PSBMV no ocurrió en las vainas y semillas ya que no fueron detectados por ELISA, inmuno-citoquímica y hidrolización-in situ. Aunque el PSBMV fue detectado en el funículo previo a la fertilización, no se detectó frecuentemente en óvulos no fertilizados. Después de la fertilización el virus fue detectado en testa en desarrollo, endospermo y en el suspensor embrionario.

No se conoce como los virus se mueven dentro del embrión, pero el punto de contacto entre la testa y el suspensor fue sugerido como la ruta de entrada. Wang y Maule (1993) sugieren que el virus puede ser capaz de atravesar la pared celular entre la testa y el suspensor por un mecanismo aun no definido, o este puede ser capaz de inducir la formación de nuevos plasmodiosmos, así permitiendo la invasión directa del embrión.

Johansen y Edwards (1994) han proveído evidencias de invasión indirecta de embriones observando los virus en la célula megaspora madre en el huevo (cigoto), o en las células madres del polen. Por ejemplo en el Virus Rayado del Tabaco (VRT) se encontraron partículas de este virus en premeiosis en células madres del polen antes de la meiosis y después en el polen. Wilcoxson, *et al* (1975) detectaron el Virus Mosaico de la Alfalfa (VMA) en el citoplasma del polen de alfalfa. Ambos virus son transmitidos vía polen – infectado. El virus VMAT tiene el inóculo desde que se produce la semilla porque nace con él, en la pared del gametofito del polen de soya.

Mink (1993) realizó una revisión de los virus convencionales que son transmitidos a través del polen y semilla, menciona a 108 virus entre los que se encuentran el Virus Mosaico del Pepino y Virus Mosaico de la Sandía.

La revisión realizada por Johansen y Edwards (1994), indica que la inestabilidad del virus puede limitar su transmisión por semilla por la inactivación del virus en el embrión durante la maduración de la misma. Por

ejemplo VMA en alfalfa, VMS en soja, y VMSF en frijol, dicha inactivación puede continuar durante el almacenamiento.

En el Cuadro 4.3, se presentan los resultados de la prueba ELISA para presencia de Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía en frutos de la variedad Top Mark y el híbrido Crusier.

Para el tratamiento 1 se detectó un positivo de 4 de las muestras evaluadas en pulpa del fruto de la variedad Top Mark.

En la variedad Top Mark del tratamiento 2 se detectó un positivo en cáscara y otro en pulpa de un total de 8 muestras. También se detectó un positivo en pulpa para el híbrido Crusier.

Con relación al tratamiento 3 en la variedad Top Mark se detectó un positivo en cáscara y dos en pulpa de un total de 5 muestras, mientras que para el híbrido Crusier se detectaron dos positivos en pulpa.

Igualmente en el tratamiento 6, únicamente se encontraron positivos en Top Mark, uno en cáscara y uno en pulpa. En el tratamiento 7 para la variedad Top Mark se identificó un positivo en pulpa.

Para el tratamiento 9 la prueba ELISA indicó un positivo en pulpa para cada genotipo.

Cuadro 4.3. Presencia de Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía en fruto de melón por ELISA en los genotipos de melón.

TRATAMIENTO	GENOTIPO	TEJIDO	NUMERO DE MUESTRAS	FECHAS DE COSECHA															
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	Top Mark	Cáscara	0																
		Pulpa	1	+															
	Crusier	Cáscara	0																
		Pulpa	0																
2	Top Mark	Cáscara	1																+
		Pulpa	1																+
	Crusier	Cáscara	0																
		Pulpa	1																+
3	Top Mark	Cáscara	1																
		Pulpa	1																+
	Crusier	Cáscara	2																
		Pulpa	0																+
4	Top Mark	Cáscara	2																
		Pulpa	2																+
	Crusier	Cáscara	0																
		Pulpa	0																+
5	Top Mark	Cáscara	1																
		Pulpa	1																
	Crusier	Cáscara	0																
		Pulpa	0																
6	Top Mark	Cáscara	1																
		Pulpa	1																+
	Crusier	Cáscara	0																
		Pulpa	0																
7	Top Mark	Cáscara	0																
		Pulpa	1																+
	Crusier	Cáscara	0																
		Pulpa	0																
8	Top Mark	Cáscara	0																
		Pulpa	1																+
	Crusier	Cáscara	0																
		Pulpa	0																
9	Top Mark	Cáscara	0																
		Pulpa	0																+
	Crusier	Cáscara	1																
		Pulpa	1																+
10	Top Mark	Cáscara	0																
		Pulpa	2																+
	Crusier	Cáscara	1																
		Pulpa	1																+

Cada fecha de cosecha corresponde a una muestra.
 +=Positivo, -=Positivo débil en la prueba de ELISA.

En el testigo (tratamiento 10) se identificaron dos positivos en pulpa de la variedad Top Mark de un total de 5 muestras, mientras que para el híbrido Crusier se detectaron dos positivos uno en cáscara y otro en pulpa.

Es importante destacar que para el control (testigo) no se aplicó ningún tratamiento y sin embargo hubo presencia de virus, de acuerdo con Arias *et al.* (1990) mencionan que en el cultivo del melón existe transmisión de virosis por quienes tocan las plantas durante el manejo del cultivo (deshierbe, aclareo y acomodo de guías), principalmente entre los 20 y 35 días de edad de la planta que es donde se incrementa la enfermedad durante el primer tercio de su ciclo y es donde recibe el inóculo primario por diferentes medios.

En este estudio no se pudo evitar el contacto frecuente, debido a que se realizaban constantes pasadas entre las plantas para efectuar riegos, acomodo de guías, fertilizaciones, foliares, sobre todo durante la polinización que es donde tuvo mayor contacto manual en especial con las estructuras reproductivas.

Mink (1993) menciona lo siguiente con relación a la transmisión de virus por semilla:

- a) Los virus transmitidos por semilla se encuentran en el embrión, una excepción es el Virus Mosaico del Tabaco que se localiza en la superficie de las semillas de tomate y chile y que puede infectar las plántulas durante la germinación.

- b) No todos los embriones infectados por virus resultan en plántulas infectadas por virus, ya que la transmisión del virus por semilla a través del óvulo depende de la habilidad del virus para infectar las partes florales durante el desarrollo inicial de la planta.
- c) Los factores dominantes que determinan si la transmisión por semilla se lleva a cabo y su frecuencia son la interacción virus - huésped y el tiempo de infección.
- d) La frecuencia de la transmisión por semilla varía entre 0 y 100%, sin embargo raramente excede el 50%.
- e) Los virus transmitidos por semilla son transmitidos mecánicamente e infectan extensamente el tejido parenquimatoso.
- f) La infección de la semilla puede ocurrir inclusive en plantas madre saludables a través de la fertilización por polen infectado por virus.
- g) La frecuencia de virus transmitidos a semilla a través del polen es menor que a través de los óvulos.
- h) La transmisión por semilla juega un papel importante en la epidemiología de las enfermedades vírales ya que proporciona un medio de dispersión para los virus a través de la distancia y el tiempo.

El papel que tiene la transmisión de semilla en la transmisión horizontal es el establecimiento de la infección inicial para la dispersión por los vectores del virus.

Calidad Física

La calidad física es un atributo de suma importancia ya que proporciona información básica sobre el tamaño y peso por unidad de volumen de la semilla bajo estudio.

El Cuadro A.10 contiene los cuadrados medios y significancia de los análisis de covarianza para parámetros evaluados en calidad física para ambos genotipos. Los análisis muestran que para la fuente de variación fechas de cosecha se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para peso de 1000 semillas, en lo correspondiente a peso volumétrico no se tuvo significancia, lo que nos indica que solo para la primer variable existe efecto de cosecha más no para el peso volumétrico.

Mientras que para la variable peso total de la muestra se detectó el efecto de cosecha con una diferencia altamente significativa ($P \leq 0.01$), por lo que se procederá a realizar los ajustes correspondientes y el análisis de varianza para las variables en estudio.

En el Cuadro 4.4 se presentan los cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza para parámetros evaluados para calidad física en los dos genotipos. Los resultados indican para la variable peso de 1000 semillas una diferencia significativa ($P \leq 0.05$) para las fuentes de variación genotipo y

tratamientos, en lo correspondiente a genotipo x tratamiento no se encontró interacción significativa. La significancia se puede deber al efecto de los siguientes factores: cosecha de diferentes plantas, diferente posición del fruto en la planta madre, características genéticas y a la disponibilidad de humedad a la semilla en desarrollo. El peso volumétrico es también un indicador de la constitución genética de cada genotipo y del ambiente durante el desarrollo del cultivo.

Cuadro 4.4. Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza para parámetros evaluados para calidad física en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus.

F.V.	gl	PESO DE MIL SEMILLAS (g)	PESO VOLUMETRICO (kg/hl)	PESO TOTAL (g)
GENOTIPOS	1	85.93*	12.70	137.70**
TRATAMIENTOS	9	24.28*	71.65	23.13
GENOTIPOS X TRATAMIENTOS	9	16.53	53.37	38.55**
ERROR	44	12.55	72.09	13.51
	C.V. (%)	14.02	21.79	39.47

Datos Ajustados

*,** = significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

El peso de 1000 semillas es uno de los indicadores del tamaño de las mismas, por lo que los resultados obtenidos para la fuente de variación genotipos expresan una diferencia entre el tamaño de semilla producida por el híbrido Crusier y la producida por la variedad Top Mark. El coeficiente de variación de 14.02 nos indica una variación reducida entre evaluaciones.

En cuanto al peso volumétrico, que es otro indicador de la calidad de la semilla, no se detectaron diferencias significativas entre genotipos, tratamientos y la interacción de genotipos x tratamientos.

El coeficiente de variación fue de 21.79%, posiblemente debido a la reducida cantidad de semilla que se maneja y por lo mismo no fue posible ser medida en la balanza de peso volumétrico, por lo que se utilizó otra metodología la cual incrementó el margen de error por ser manual.

Con referencia a el peso total, muestra que solo para la fuente de variación genotipo y la interacción de genotipos x tratamientos se detectó una alta diferencia significativa ($P \leq 0.01$) y esto es debido al tamaño y llenado de la semilla, y para las variables tratamientos no presentó diferencias significativas, así mismo presento un coeficiente de variación de 39.47%.

Cuadro 4.5. Comparación de medias por tratamiento de los parámetros evaluados para calidad física para los dos genotipos.

Tratamientos	PESO DE MIL SEMILLAS [†] (g)	PESO VOLUMETRICO [†] (kg/hl)	PESO TOTAL [†] (g)
1	26.19	41.33	8.83
2	23.47	35.64	8.74
3	25.32	41.41	8.82
4	26.51	37.82	10.75
5	31.43	38.22	8.85
6	22.86	35.50	8.84
7	24.61	39.73	8.31
8	26.82	44.86	10.44
9	27.60	43.69	10.81
10	23.14	34.44	9.68
DMS	7.13	17.09	7.39
X	25.79	39.26	9.41

[†]= Medias con la misma letra en cada columna son estadísticamente iguales, según prueba de Tukey ($P < 5\%$).

En el Cuadro 4.5 se observan las medias para el peso de mil semillas y peso volumétrico de los tratamientos evaluados para ambos genotipos, donde la primer variable se muestra que estadísticamente no existen diferencias, sin embargo biológicamente se encuentran diferencias marcadas debido a que la

mayor media es de 31.43 g en el tratamiento 5 (inoculaciones en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMP) y la menor media para los tratamientos 2 (inoculaciones en la primer hoja verdadera con VMP), 6 (inoculaciones en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMAP-S) y 10 son los que presentaron menor peso con 23.47, 22.86 y 23.14 g, respectivamente. Es importante destacar que el tratamiento 10 es el testigo el cual presento valores bajos con relación a los demás tratamientos.

De igual manera la comparación de medias para peso volumétrico no detectó diferencias entre tratamientos, pero biológicamente si se observan diferencias en donde la mejor media se marca en los tratamientos 8 y 9 con 44.86 y 43.69 g, respectivamente y los tratamientos que presentaron una media menor fueron los tratamientos 2, 6 y 10.

Para la variable peso total no se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos como también lo indica el Cuadro 4.5. Sin embargo, fisiológicamente si se detectaron diferencias entre tratamientos, como en 8 y 9 que se obtuvo la mayor cantidad de semilla y de mayor tamaño.

Calidad fisiológica

El Cuadro A.11 contiene los cuadrados medios y significancia de los análisis de covarianza para parámetros evaluados en germinación estándar para ambos genotipos. Los análisis muestran que para la fuente de variación

fechas de cosecha no se detectaron diferencias para las variables primer conteo y germinación. Lo anterior indica que al menos para estas variables la fecha de cosecha no tuvo efecto alguno.

Sin embargo, para las variables longitud de plúmula y longitud de radícula se detectó efecto de fecha de cosecha ($P \leq 0.01$ y $P \leq 0.05$, respectivamente), procediéndose a realizar los ajustes correspondientes y el análisis de varianza para las variables en estudio.

En el análisis de varianza (Cuadro 4.6) se detectó alta significancia ($P \leq 0.01$) para la fuente de variación genotipos para la variable longitud de plúmula y longitud de radícula y significativa ($P \leq 0.05$) para germinación, lo cual demuestra que existen diferencias en cuanto a la calidad fisiológica de la semilla entre genotipos. Para la fuente de variación tratamientos se detectó que únicamente la variable primer conteo mostró diferencias altamente significativa ($P \leq 0.01$), mientras que para la variable longitud de radícula las diferencias fueron significativas ($P \leq 0.05$) indicando que las inoculaciones con virus en diferentes etapas fenológicas afectaron el vigor de las semillas.

La interacción genotipos x tratamientos indica diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para primer conteo y longitud de plúmula. La interacción significativa puede indicar que los genotipos por su constitución genética

presentan diferente calidad fisiológica la cual depende también de los tratamientos inoculados en diferentes etapas fenológicas.

Cuadro 4.6. Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza para parámetros evaluados para germinación estándar en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus.

F. V.	gl	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
GENOTIPO	1	3.08	10.80*	38.71**	13.31**
TRATAMIENTO	9	5.44**	2.94	2.78	4.11*
GENOTIPO X TRATAMIENTO	9	8.03**	3.40*	12.11**	2.02
ERROR	172	2.17	1.86	3.28	1.74
C.V. (%)		36.73	17.02	24.08	11.36

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

[†], ^{††}= datos transformados $\sqrt{X + 0.5}$; ^{†††}, [§]= datos ajustados.

*, ** = significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

En el Cuadro A.12 se presenta la comparación de medias para tratamientos para los parámetros evaluados para germinación estándar para los dos genotipos.

Para la variable primer conteo, se detectó en el tratamiento 4 el menor porcentaje de semillas germinadas (13.78), mientras que el porcentaje mas alto se observó en el tratamiento 9 con un 27.33%. El resto de los tratamientos tuvieron un comportamiento similar de acuerdo a la prueba de Tukey (P < 5 %).

Para la variable germinación no se detectaron diferencias entre medias para tratamientos, sin embargo biológicamente se presentaron diferencias importantes. El tratamiento 9 manifestó el mejor porcentaje de germinación con un 76.67, mientras que en los tratamientos 4 (inoculaciones en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMAP-S) y 8 se presentó un 70.11 y un

70.07%, respectivamente. En el testigo se observó un 66.17%, que se puede considerar intermedio ya que el tratamiento 7 presentó un 56.2% siendo el valor mínimo obtenido.

Con relación a la longitud de plúmula igualmente no se presentaron diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos. Se puede mencionar que el rango varía de 6.86 cm en el testigo (tratamiento 10) a 8.71 en el tratamiento 8.

Para la variable longitud de radícula si se detectaron diferencias entre tratamientos, indicando que los tratamientos 1, 8 y 9 presentaron los promedios más altos y estadísticamente iguales según prueba de Tukey ($P < 5\%$). En los tratamientos 2, 4 y 10 se observó una menor longitud de radícula (10.87, 10.92 y 11.29 cm, respectivamente) que en el resto de los tratamientos.

Considerando que para tres de las variables evaluadas se detectaron diferencias significativas para las fuentes de variación genotipo y la interacción genotipo x tratamiento (Cuadro 4.6), se procedió a realizar análisis de varianza por genotipo para cada una de las variables (Cuadro 4.7).

En la variedad Top Mark, para la fuente de variación tratamientos se detectaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para las variables longitud de plúmula, longitud de radícula y significativo ($P \leq 0.05$) para la variable

germinación. Mientras que para el híbrido Crusier se detectaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para la variable primer conteo, y significativa ($P \leq 0.05$) para longitud de radícula. Los resultados indican que las diferencias significativas detectadas para genotipo x tratamiento (Cuadro 4.6) se deben tanto a la constitución genética de los genotipos como al efecto de los diferentes tratamientos evaluados. Con relación a los coeficientes de variación cabe señalar que son altos para la variable primer conteo en ambos genotipos, lo cual puede deberse a que la evaluación se llevó a cabo con 25 semillas por repetición lo cual incrementa la variación. De acuerdo a los reglamentos del ISTA se recomienda realizar los estudios de análisis de calidad de semilla con al menos 4 repeticiones de 100 semillas cada una. Debido a que se obtuvo un número reducido de semilla por fruto y no se obtuvieron frutos en todas las cosechas tanto para ambos genotipos como para tratamientos, por lo que se tuvo que reducir el número de semilla por repetición.

Cuadro 4.7. Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza por genotipo para parámetros evaluados para germinación estándar en semilla de melón en estudio de transmisión de virus.

F. V.	gl	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
TOP MARK					
TRATAMIENTO	9	3.93	4.49*	10.49**	7.30**
ERROR	110	2.33	2.19	3.68	2.12
C.V. (%)		38.81	19.13	27.66	12.92
CRUSIER					
TRATAMIENTO	9	7.08**	1.82	8.09**	2.18*
ERROR	62	1.88	1.28	2.56	0.92
C.V. (%)		33.18	13.31	18.85	7.57

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

[†], ^{††}= datos transformados $\sqrt{X + 0.5}$; ^{†††}, [§]= datos ajustados.

*, ** = significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

Cuadro 4.8. Medias por tratamiento para los parámetros evaluados para germinación estándar para el genotipo Top Mark.

Tratamientos	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
1	23.90 ^{§§}	70.08	6.63 ab	12.33
2	17.04	60.80	5.35 ab	10.63
3	12.00	44.45	3.98 b	10.50
4	16.53	68.80	6.27 ab	10.94
5	24.00	76.00	7.51 a	12.28
6	14.56	60.33	5.17 ab	10.98
7	17.33	56.44	5.51 ab	12.05
8	19.50	66.91	6.68 ab	12.53
9	30.00	74.66	7.30 a	11.86
10	12.53	58.13	4.90 ab	10.97
D.M.S	18.46	31.74	3.19	2.95
X	18.74	63.66	5.65	11.51

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

^{§§}Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, según prueba de Tukey (P<5%).

La comparación de medias por tratamientos para los parámetros evaluados para germinación estándar para el genotipo Top Mark se presentaron en el Cuadro 4.8. De acuerdo a la prueba de Tukey (P< 5%) no se presentan diferencias significativas entre tratamientos para las variables por ciento de germinación al primer conteo, por ciento de germinación y longitud de radícula.

Sin embargo, sí se observaron diferencias que a nivel biológico son importantes ya que reflejan la respuesta a los tratamientos evaluados. Para las variables germinación al primer conteo y germinación (plántulas normales) se detectó que los tratamientos con mayor porcentaje de germinación son el 1, 5 y 9 con 23.90, 24.00 y 30.00%, respectivamente para primer conteo y 70.08, 76.00 y 74.66%, respectivamente para germinación. El testigo presentó valores bajos para ambas variables, en comparación con el resto de los tratamientos.

De acuerdo a las medias para la variable primer conteo, se observa que las semillas mas vigorosas se presentaron en los tratamientos 1, 5 y 9.

En la variable longitud de plúmula (Cuadro 4.8) para la variedad Top Mark se observa mínima longitud de plúmula en el tratamiento 3 con 3.98 cm, mientras que la mayor en el tratamiento 5 con 7.51 cm. El testigo presentó un valor más bien bajo con 4.90 cm. Estos resultados concuerdan con los obtenidos para primer conteo ya que los valores mas altos se presentaron en los tratamientos 1, 5 y 9, siendo ambas variables indicadores del vigor de la semilla.

En longitud de radícula se presentaron valores muy próximos, esto es con variación reducida entre tratamientos, siendo los tratamientos 1 (12.33 cm), 5 (12.28 cm), 7 (12.05 cm) y 8 (12.53 cm) donde se observó la mayor longitud. El resto de los tratamientos presentaron promedios en un rango de 10.50 a 11.86 cm, entre lo que se incluye el testigo con 10.97 cm.

En general se observó que para las variables primer conteo, germinación, longitud de plúmula y longitud de radícula el testigo presentó valores intermedios, mientras que los tratamientos 1 (inoculaciones en la primera hoja verdadera con Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía (VMAP-S)), 5 (inoculaciones en la primera, segunda y tercer hoja verdadera con VMP) y 9 (inoculaciones de la primera a la quinta hoja verdadera con VMAP-S y VMP) presentaron promedios mas altos para primer conteo y

germinación. Con relación a longitud de radícula el tratamiento 8 presentó un mayor desarrollo.

Cuadro 4.9. Medias por tratamiento para los parámetros evaluados para germinación estándar para el genotipo Crusier.

Tratamientos	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
1	8.66 ab ^{§§}	67.33	6.48	12.82 a
2	20.00 ab	64.67	6.50	11.85 ab
3	23.24 a	76.57	7.60	12.28 ab
4	0.00 b	76.67	7.18	10.82 b
5	13.33 ab	62.67	6.59	11.75 ab
6	24.67 a	77.00	8.03	12.33 ab
7	21.50 ab	55.83	5.72	11.67 ab
8	14.67 ab	82.67	8.08	12.95 a
9	24.66 a	78.67	8.03	13.09 a
10	18.67 ab	79.56	7.57	11.82 ab
D.M.S	22.37	36.78	3.97	1.90
X	16.94	72.16	7.18	10.96

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

^{§§}Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, según prueba de Tukey (P<5%).

En el Cuadro 4.9 se presenta los promedios por tratamiento para las variables primer conteo, germinación, longitud de radícula y longitud de plúmula para el híbrido Crusier. Para la variable primer conteo se detectó que en los tratamientos 3, 6 y 9 germinó mayor porcentaje de plántulas normales al primer conteo con 23.24, 24.67 y 24.66%, respectivamente. En el tratamiento 4 no se presentó germinación, mientras que los otros tratamientos (1, 2, 5, 7, 8 y 10) se agruparon en un mismo nivel estadístico. El que no se haya presentado germinación en tratamiento 4 indica el nulo vigor de la semilla.

En las variables germinación y longitud de plúmula no se observaron diferencias significativas entre tratamientos, estos son estadísticamente iguales según prueba de Tukey (P< 5%). Cabe mencionar que si se presentó una

respuesta fisiológica a los tratamientos evaluados, aunque como ya se mencionó estadísticamente no se pudo detectar.

Para la variable germinación se presentó un rango de 55.83 a 82.67% en los tratamientos 7 y 8, respectivamente. En longitud de plúmula, el mayor valor se observó en el tratamiento 3 con 9.85 cm, mientras que el menor en el tratamiento 6 con 6.74 cm. El testigo presentó un valor de 8.03 cm.

Para la variable longitud de radícula la prueba de Tukey ($P < 5\%$) detectó que en los tratamientos 1, 8 y 9 se desarrolló en promedio plúmulas de mayor longitud con 12.82, 12.95 y 13.09 cm, respectivamente. En el tratamiento 4 se presentó la menor longitud con 10.82 cm y el resto de los tratamientos formaron un solo grupo estadístico. La reducida longitud de radícula está muy relacionada al bajo vigor detectado en la variable germinación al primer conteo.

En general se observó un mejor comportamiento del híbrido Crusier, ya que las variables primer conteo, germinación y longitud de plúmula presentó los promedios más altos a través de tratamientos mostrando así un mayor vigor que la variedad Top Mark.

Vigor (envejecimiento artificial)

Debido a que el vigor de la semilla es de mucho interés para los productores y de los que se dedican a la producción de las semillas, ya que de

cierta forma la calidad de la semilla se determina por la germinación esto depende en gran parte al vigor (Moreno, 1996), es por ello que se ha realizado el estudio con envejecimiento artificial y los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes:

El Cuadro A.13 muestra los cuadrados medios y significancia de los análisis de covarianza para parámetros evaluados en vigor (envejecimiento artificial) para ambos genotipos. En donde los análisis muestran que para la fuente de variación fechas de cosecha se presentaron diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para germinación y longitud de plúmula, mientras que para primer conteo y longitud de radícula se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), lo cual indica el efecto de fecha de cosecha en las cuatro variables.

Considerando este efecto se realizaron los ajustes correspondientes y se realizó el análisis de varianza y comparación de medias correspondientes.

Cuadro 4.10. Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza para parámetros evaluados para vigor en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus.

F. V.	gl	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
GENOTIPOS	1	0.852	6.48*	1.38**	0.129*
TRATAMIENTO	9	0.599	0.85	0.07	0.025
GENOTIPO X TRATAMIENTO	9	4.691**	3.59**	0.39**	0.024
ERROR	172	1.724	1.01	0.12	0.020
C.V. (%)		23.339	11.60	12.20	4.03

PC[†]= primer conteo, GER^{††}= germinación, LP^{†††}= longitud de plúmula, LR[§]= longitud de radícula, datos transformados

$\cdot x + 0.5$

*, ** = significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

Con relación a la variable germinación de igual manera no se detectaron diferencias según Tukey ($P < 5\%$) entre tratamientos, pero en las medias se puede observar que el tratamiento 8 presentó un 86.20% de semillas germinadas (plántulas normales), mientras que los tratamientos 2, 6 y 10 presentaron las medias más bajas (71.72, 70.24 y 71.18%, respectivamente).

Así mismo, en longitud de plúmula no se presentaron diferencias entre tratamientos, sin embargo se observa que los tratamientos 3, 8 y 9 presentaron los promedios más altos con 8.19, 8.71 y 8.23 cm, respectivamente. En el tratamiento 10 se observó menor longitud de plúmula (6.86 cm) que en el resto de los tratamientos.

Para la variable longitud de radícula igualmente no se presentaron diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos. Se puede mencionar que el rango varía de 12.95 cm en el tratamiento 9 a 11.90 cm en el tratamiento 2.

Considerando que el análisis de varianza para los dos genotipos detectó diferencias entre genotipos y para la fuente de variación genotipos x tratamientos, se presentan los análisis de varianza en forma individual (Cuadro 4.11). En la variedad Top Mark, para la fuente de variación tratamientos se detectaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para las variables germinación y longitud de plúmula. Mientras que para el híbrido Crusier se detectaron

diferencias altamente significativas ($P \leq 0.01$) para las variables germinación y longitud de plúmula, mientras que para longitud de radícula presentó diferencias significativas ($P \leq 0.01$).

Cuadro 4.11. Cuadrados medios y significancia de los análisis de varianza por genotipo para parámetros evaluados para vigor en semilla de melón en estudio de transmisión de virus.

F. V.	gl	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
TOP MARK					
TRATAMIENTO	9	3.08	2.98*	0.352*	0.68
ERROR	110	1.99	1.34	0.140	1.18
	C.V. (%)	25.57	13.73	13.89	8.98
CRUSIER					
TRATAMIENTO	9	2.17	2.23**	0.234**	1.22*
ERROR	62	1.26	0.44	0.075	0.50
	C.V. (%)	19.30	7.28	9.22	5.62

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

[†], ^{††}= datos transformados $\sqrt{X + 0.5}$; ^{†††}, [§]= datos ajustados.

*, ** = significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

El Cuadro 4.12 muestra la comparación de medias para los parámetros evaluados para vigor en el genotipo Top Mark. De acuerdo a la prueba de Tukey ($P < 5\%$) y al cuadro 4.11 se presentaron diferencias significativas entre tratamientos para las variables germinación y longitud de plúmula.

En la variable primer conteo se observaron diferencias biológicas importantes, en el tratamiento 8 se detectó un 42.14% de plántulas normales, mientras que en el tratamiento 5 se presentó un 15.64%. El testigo muestra un valor intermedio con 30.16%.

Cuadro 4.12. Medias por tratamiento para los parámetros evaluados para vigor para el genotipo Top Mark.

Tratamientos	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
1	31.25	70.63 ab ^{§§}	6.87 ab	12.33
2	32.56	70.14 ab	6.86 ab	11.92
3	25.59	60.60 b	5.88 b	11.87
4	29.91	73.27 ab	6.89 ab	11.97
5	15.64	65.07 ab	5.92 b	12.02
6	37.63	75.46 ab	7.24 ab	12.01
7	29.42	73.29 ab	6.84 ab	12.74
8	42.14	89.56 a	9.13 a	12.44
9	39.03	83.47 ab	8.02 ab	12.29
10	30.16	65.69 ab	6.17 b	11.69
D.M.S	23.68	28.14	2.95	1.63
X	31.33	72.72	6.98	12.13

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

^{§§}Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, según prueba de Tukey (P<5%).

Para la variable germinación se detectaron diferencias entre medias para tratamientos, presentando el tratamiento 8 la mejor media con un 89.56% de plántulas normales, mientras que la más baja un 60.60% (tratamiento 3), en lo correspondiente a los demás tratamientos estuvieron en un nivel intermedio.

Con relación a la longitud de plúmula se detectaron diferencias entre tratamientos indicando que el tratamiento 8 presenta la media más alta con 9.13 cm. En los tratamientos 3, 5 y 10 se observaron promedios bajos y estadísticamente iguales con 5.88, 5.92 y 6.17 cm, respectivamente, según la prueba de Tukey (P< 5%).

Mientras que para la variable longitud de radícula no se presentaron diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, el rango de variación es de 11.69 cm en el testigo (tratamiento 10) a 12.74 cm en el tratamiento 7.

La comparación de medias por tratamientos para el híbrido Crusier en las variables evaluadas para vigor se presentan en el Cuadro 4.13.

De acuerdo al análisis de varianza para primer conteo no se observaron diferencias entre tratamientos, y se demuestran que son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey ($P < 5\%$) (Cuadro 4.13), sin embargo se presentaron diferencias que a nivel biológico es importante analizar. El tratamiento 3 presentó la mayor media con 40.98% de plántulas normales, mientras que los tratamientos 6, 8 y 9 presentaron 26.41, 20.10 y 26.49%, respectivamente. El testigo presentó un valor intermedio con 36.05%.

La variable germinación presentó diferencias estadísticas entre tratamientos, indicando que los tratamientos 1 y 3 obtuvieron el mayor porcentaje con 88.47 y 94.13 respectivamente, mientras que el tratamiento 6 presentó el menor con 62.41%. El resto de los tratamientos, incluyendo al testigo formaron un grupo intermedio.

Para la variable longitud de plúmula se detectaron diferencias biológicas entre tratamientos, el rango varió de 9.85 cm en el tratamiento 3 a 6.74 cm en el tratamiento 6.

Sin embargo, se observaron diferencias significativas en la variable longitud de radícula entre tratamientos, indicando la mejor media el tratamiento

9 con 13.60 cm, comparada con las de menor longitud 11.81 y 11.12 cm para los tratamientos 2 y 8. El testigo registró un valor intermedio.

Cuadro 4.13. Medias por tratamiento para los parámetros evaluados para vigor para el genotipo Crusier.

Tratamientos	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
1	37.89	88.47 a ^{§§}	8.65	12.57 ab
2	30.88	78.06 ab	7.72	11.81 b
3	40.98	94.13 a	9.85	12.89 ab
4	29.46	78.01 ab	7.57	12.58 ab
5	35.12	79.19 ab	8.40	12.76 ab
6	26.41	62.41 b	6.74	12.37 ab
7	37.53	78.27 ab	8.05	12.39 ab
8	20.10	72.78 ab	7.04	11.12 b
9	26.49	84.13 ab	8.44	13.60 a
10	36.05	80.34 ab	8.03	12.54 ab
D.M.S	27.73	22.75	3.17	1.42
X	32.09	79.58	8.05	12.46

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

^{§§}Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, según prueba de Tukey (P<5%).

Los resultados del ensayo de germinación y vigor nos conduce a deducir que el primer ensayo no es suficiente para determinar la calidad fisiológica de la semilla en melón, por lo que es necesario someter la semilla a un estrés como lo es el envejecimiento artificial. En esta prueba se evalúa la habilidad de emergencia en condiciones desfavorables, y refleja el vigor de la semilla, el cual varía de acuerdo a las condiciones de manejo y ambiente que prevalecieron durante el desarrollo del cultivo, y del manejo de las muestras de semilla durante su extracción, secado y almacenamiento. Con relación a lo anterior Moreno (1996) y Hernandez (1997) indican que la capacidad de almacenamiento es relativamente corta.

De igual forma es importante destacar que en la prueba de germinación estándar los promedios de las medias para las variables evaluadas (Cuadros 4.8 y 4.9) fueron bajos en comparación con las medias para las mismas variables en envejecimiento artificial (Cuadros 4.12 y 4.13), esto puede ser debido a que los frutos permanecieron entre 30 y 45 días en refrigeración antes de extraer la semilla. Aunado a esto, las pruebas de germinación y vigor no se llevaron a cabo simultáneamente; debido al número de muestras que se manejó, por lo que la semilla para realizar las pruebas de vigor se mantuvo por más tiempo en refrigeración.

En general los resultados están fuera de lo normal ya que por lo regular se obtienen valores mas altos en la prueba de germinación estándar que en la prueba de vigor (Moreno, 1996).

Ruiz (1996) menciona que el tiempo del envejecimiento artificial de 24 horas para uno de tres lotes de chilé evaluados, presentó mejor vigor, mostrándose valores similares estadísticamente a los que mostró la prueba de germinación estándar, emergencia en campo, así como la clasificación de plántulas. Por lo que establece que a medida que pasó el tiempo de exposición en el envejecimiento de la semilla se reducen las diferencias entre lotes en cuanto al vigor.

Por otra parte Hernandez (1997) menciona que en frutos inmaduros de buena calidad, si la semilla permanece dentro le provoca una latencia lo cual

esta de acuerdo con Copeland y McDonald (1985) quienes mencionan dicen que se concentra y aumenta la presencia de inhibidores de la germinación, lo que hace que se conserve de forma natural la especie hasta que este la semilla fuera del fruto (Hernandez, 1997 y Camacho, 1994) y baje su contenido de humedad para romper la latencia.

Moreno (1996) y Hernandez (1997) mencionan que al haber mayor tasa de respiración, existe un mayor gasto de ATP, lo cual trae como consecuencia una mayor pérdida de vigor y mayor número de plántulas anormales. Contrario a esto, en esta investigación se observó un mayor vigor, posiblemente debido al tiempo de exposición a temperaturas elevadas en la prueba de envejecimiento.

Hernández (1997) recomienda que en las evaluaciones en donde se somete a estrés la semilla, se determine la velocidad de emergencia, así que se analice los componentes físicos como peso y tamaño, así como la composición química que puede ser una forma directa o indirecta de evaluar el vigor.

V. CONCLUSIONES

Dados los resultados antes descritos se concluye lo siguiente:

- ◆ Las enfermedades virosas del melón causadas por Virus Mosaico del Pepino (VMP) y Virus mancha Anular del Papayo Variante Sandía (VMAP-S) se diseminan por semilla.
- ◆ Se detecto mayor incidencia de los virus y en fruto en los tratamientos 2 (primera hoja con VMP) 3 (primera hoja con la combinación de ambos virus, 4 (primera y segunda hoja con VMAP-S y 8 (primera, segunda, tercera, cuarta y quinta hoja verdadera con (VMAP-S) VMP.
- ◆ La transmisión del virus VMAP-S fue mayor en testa y endospermo que en fruto (cáscara y pulpa), mientras que para VMP no dieron resultados positivos.
- ◆ La calidad física de la semilla presentó valores aceptables para las variables peso de 1000 semillas y peso volumétrico; con relación a calidad fisiológica, la germinación estándar presentó resultados bajos, en comparación con el

- ◆ envejecimiento artificial (vigor), lo cual puede ser debido a que una latencia inducida en la prueba.

VI. RESUMEN

Las enfermedades virosas reducen la producción de semilla de buena calidad y afectan principalmente el atributo sanitario ya que se corren riesgos en la transmisión de virus por semilla, lo cual es económicamente significativo en cultivos hortícolas.

La presente investigación tuvo por objetivo la transmisión y detectar los Virus Mosaico del Pepino y Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía en semilla (testa y endospermo) y fruto (cáscara y pulpa) en el cultivo de melón, así como identificar la incidencia en las diferentes épocas de inoculación y la calidad física y fisiológica de la semilla de los de los diferentes tratamientos.

El tejido infectado y la semilla para llevar a cabo el estudio en invernadero fueron proporcionados por el Centro de Investigación de la Laguna (INIFAP). Los genotipos utilizados fueron Top Mark y Crusier, en donde se aplicaron 10 tratamientos a diferente número de hojas de los virus mencionados y de la combinación de los mismos. El cultivo se llevó hasta su producción para la obtención de fruto y extracción de la semilla.

Los datos se analizaron de la siguiente forma: para la etapa de invernadero en un diseño completamente al azar con arreglo factorial, mientras que para calidad de semilla se uso análisis de covarianza para observar la respuesta en el efecto de la covariable analizada, para después utilizar un análisis de covarianza en los datos ajustados.

El análisis patológico de virus de las muestras de semilla y fruto se realizaron en el Laboratorio de Patología del INIFAP, el método utilizado para la detección de los virus fue por la metodología ELISA. Las pruebas cumplieron con los objetivos planteados, ya que se determino la localización del Virus Mosaico del Pepino únicamente en testa y endospermo, mientras que el Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía se detectó en las diferentes estructuras de la semilla como en fruto. La confirmación de la presencia fue un positivo de la gammaglobulina y conjugada de la Compañía AGDIA, de los diferentes virus en estudio.

El análisis de calidad de semillas se llevó a cabo en el Centro de Capacitación y Desarrollo de Tecnología de Semillas (C.C.D.T.S) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, todas las pruebas realizadas fueron conforme a las reglas de la ISTA (1996). En lo correspondiente a la calidad física en lo general se presentaron diferencias muy marcadas entre genotipos, debido principalmente a las características genéticas de cada uno de ellos. En lo que respecta a la calidad fisiológica se llevó a cabo en tacos con tres repeticiones para germinación estándar y envejecimiento artificial (vigor),

en donde para la primer prueba se observó un menor porcentaje de germinación. Mientras que en lo correspondiente a envejecimiento artificial presentó mayor numero de plantulas normales por lo tanto una mejor germinación, esto se puede deber probablemente al tipo de manejo que se le dio a la semilla y que se pudo haber inducido latencia, desde la extracción de la semilla hasta el proceso de almacenamiento y que al someterla a un estrés ésta se rompió. Por lo que no se cumplió con lo establecido que la germinación sea mayor que el vigor.

Los valores mas altos para Top Mark en germinación estándar se encontraron en el tratamiento 5 en las variables primer conteo, germinación, longitud de plúmula y longitud de radícula y el tratamiento 3 presentó los resultados más bajos en las mismas variables. En lo que respecta a envejecimiento artificial los tratamientos 3, 5 y 10 fueron los de promedios más bajos y el mejor tratamiento para todas las variables se presentó en el 8.

En lo correspondiente al híbrido Crusier el tratamiento 9 obtuvo los mejores promedios y el 4 y 7 los de valores bajos, en relación con envejecimiento acelerado el tratamiento 3 fue el mejor y 6 y 8 fueron los de menor promedio.

VII. LITERATURA CITADA

- Adams, D. B., and C. W. Kuhn. 1977. Seed transmission of peanut mottle virus in peanuts. *Phytopathology* 67:1126-1129.
- Agrios, G. N. 1988. *Plant Pathology*. Third Edition Academic Press, inc. London.
- Alconero, R., R. Provvidenti and D. Gonsalves. 1986. Three pea seedborne mosaic virus pathotypes from pea and lentil germplasm. *Plant Dis.* 70:783-86.
- Arias Suarez, J. F., A. Vega Piña y J. Javier Mercado. 1990. Efecto de la transmisión de la virosis en melón por contacto manual de las plantas al deshierbe, aclareo y acomodo de guía. *Enfermedades vírales del melón (*Cucumis melo* L.) y su control en México. Informe de Investigación Ciclo 1989-90. Centro de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (CNPH) en el Valle de Apatzingan, Michoacán. México. p 22.*
- Austín, P. 1992. *Taxonomía bacteriana moderna*. Editorial LIMUSA. México, D. F. pp. 78-81.
- Association of Official Seed Analysts (AOSA). 1983. Seed vigour testing hand book. Contribution. No. 32 to handbook on seed testing. p. 88. USA.
- Bailiss K. W. and S. K. Offei 1990. Alfalfa mosaic virus in lucerne seed during seed maturation and storage, and in seedlings. *Plant Pathol.* 39:539-47.
- Bell, A. A. 1980. Time sequence of defense. In *Plant Disease-and Advanced Treatise*, Vol. 5. J.G. Horsfall and E.B. Cowling (Eds). Academic, New, York. p. 53.
- Bernal, V. J. A., R. Sabori P., J. H. Nuñez M., B. Valadez G., R. J. García A. y A. Fu C. 1992. Taller sobre tecnología de producción de melón. *Campo Agrícola Experimental de la Costa de Hermosillo, INIFAP. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. México. p. 77.*

- Bowers GR Jr., and R. M. Goodman. 1982. New sources of resistance to seed transmission of soybean mosaic virus in soybeans. *Crop Sci.* 22:155-56.
- Bustamante G., L. 1982. Semillas: Control y evaluación de su calidad. Memorias del curso de actualización sobre tecnología de semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y la Asociación Mexicana de Semilleros, A.C. México. pp. 99-106.
- Camacho, M. F. 1994. Dormición de semillas causas y tratamientos. Ed. Trillas. México. 125 p.
- Carroll, T. W., P. L. Gossel, and E. A. Hockett. 1979. Inheritance of resistance to seed transmission of barley stripe mosaic virus in barley. *Phytopathology* 69:431-433.
- Carroll, T. W. 1981. Seedborne viruses: Virus-host interactions. *Seed Ref.* 76^a, pp. 293-317.
- Chan N., M. E., J. C. Molina y A. Carballo C. 1985. Influencia del tamaño de la semilla sobre el vigor en sorgo (*Sorghum bicolor* L.) Moench. *Revista Chapingo.* 47-49:194-201. México.
- Christiansen, M. N. 1991. Mejoramiento de plantas en ambientes poco favorables. Editorial LIMUSA. México, D.F. México. pp. 391-393.
- Copeland, L. D. and M. B. McDonald. 1985. Principles of seed science and technology. 2^a ed. Burgess Publishing Company. Minneapolis, Minnesota. U.S.A. 321 p.
- Coudriet, D.L. 1962. Efficiency of various insects as vectors of Cucumbeber mosaic and watermelon mosaic viruses in Canteloups. *J.Econ. Entomol.* 55(4)519-520.
- Dasgupta, P. R. and H. M. Austenson. 1973. Relations between estimates of seed vigour and field performance in wheat. *Can J. Plant Sci.* 53(1)43-46.
- Davis R. F, and R. O. Hampton. 1986. Cucumber mosaic virus isolates seedborne in *Phaseolus vulgaris*: Serology, hostpathogen relationships, and seed transmission. *Phytopathology* 76:999-1004.
- De León, S. M. S. 1993. Identificación de fuentes de resistencia al virus mosaico de la sandía-2 en germoplasma de melón. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Unidad Laguna. Coahuila, México. 55 p.

- Delgadillo, S. F. 1989. Identificación y distribución de virus de cucurbitáceas en México. Enfermedades virales del melón (*Cucumis melo* L.) y su control en México. Informe de Investigación Ciclo 1988-89. Campo Experimental Bajío. Guanajuato. México. pp. 15-20.
- Delgadillo, S., F. y J. A. Garzón T. 1989. Identificación y distribución de virus de cucurbitáceas en México. Enfermedades virales del melón (*Cucumis melo* L.) y su control en México. Informe de Investigación Ciclo 1988-89. Campo Experimental Bajío. Guanajuato. México. pp. 7-10.
- Deluche, J. C. 1986. Physiological seed quality. Proc. short course for seedsmen. Vol. 28:51-59. Mississippi State University. USA.
- Deluche, J. C. and C. C. Baskin. 1973. Accelerated ageing techniques for predicting the relative storability of seed lots. Netherlands. Seed Sci. & Technol. 1:427-452.
- Flores, O. A., J. P. S. Martínez y A. D. E. Martínez. 1997. Uso de nuevas tecnologías en la detección y el análisis genético de fitopatología. Rev. Mex. de Fitopatología. 32(2):96-111.
- Garay, E. A. 1991. Control de calidad en el campo, beneficio y almacenamiento de semillas. CIAT. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali, Colombia. pp. 2-11.
- Garzón, T. J. A. 1990. Formación de variedades de melón (*Cucumis melo* L.) resistentes al virus mosaico del pepino y de la sandía 1 y 2, en México. Informe de Investigación 1989-90. CIFAP-Michoacán, México. pp. 6-9.
- Gillaspie, A. G., Jr., M. S. Hopkins and D. L. Pinnow. 1993. Relationship of cowpea seed-part infection and seed transmission of blackeye cowpea mosaic potyvirus in cowpea. Plant Dist. 77:875-877.
- Hecht, D. 1993. Cultivo del melón Galia. Seminario internacional sobre: Producción de hortalizas en diferentes condiciones ambientales. Shefayim, Israel. pp. 17-18.
- Hemmati K. and D. L. McLean. 1977. Gamete-seed transmission of alfalfa mosaic virus and its effect on seed germination and yield in alfalfa plants. Phytopathology 67:576-79.
- Hernández, M. V. M. 1997. Calidad de la semilla de progenitores de híbridos de melón (*Cucumis melo* L.) con respecto a madurez de cosecha de fruto, y extracción de la semilla en el norte de México. Tesis de Maestría. Tecnología de Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, México. 66 p.

- Ibarra, J.C.L. 1989. Dinámica poblacional daños y transmisión de virus por *Aphis hossypii* Glover y su relación con la fonología del melón. Tesis de Licenciatura. Parasitología. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Unidad Laguna, Torreón, Coahuila. México p. 49.
- International Seed Testing Association (ISTA). 1985. Internacional rules for seed testing. Seed Sci. & Tech. Vol.13(2)300-520.
- International Seed Testing Association (ISTA). 1996. Internacional rules for seed testing. Seed. Sci. & Tech. 24:1-333.
- Johansen, E. and M. C. Edwards. 1994. Seed transmission of viruses: Current perspectives. Ann. Rev. Phytopathol. 32:363-386.
- Lozoya, S. H. 1987. Taxonomía de los virus fitopatógenos. Temas de virología II. F. H. F. Alvizo y S. H. Lozoya. (Eds). Sociedad Mexicana de Fitopatología. 89 pp.
- Lwoff, A. 1957. The concept of virus. J. Gen. Microbiol. 17:239-253.
- McDaniel, R. G. 1969. Relationships of seed weight, seedling vigour and mitochondrial metabolism in barley. Crop Sci. 9(6):823-827.
- McDonald J. G. and R. I. Hamilton. 1972. Distribution of southern bean mosaic virus in the seed of *Phaseolus vulgaris*. Phytopathology 62:387-89.
- Mink, G. I. 1993. Pollen – and seed – transmitted viruses and viroids. Ann. Rev. Phytopathol. 31:375-402.
- Molina, M. J., J. A. Estrada M., M. Livera M. y V. A. González H. 1990. Análisis de enseñanza, producción e investigación de semillas en México. SOMEFI. Chapingo, México. p. 98.
- Morales F. J. and M. Castaño. 1987. Seed transmission characteristics of selected bean common mosaic virus strains in differential bean cultivars. Plant Disease. 71:51-53.
- Moreno, M. E. 1996. Análisis físicos, biológicos de semillas agrícolas. 3ª edición. Instituto de Biología. UNAM. México. pp. 113 -119.
- Neergard, P. 1977. Seed Pathology. Vol. 1. New York. Halsted Press Book. pp. 793-797.
- Nebreada, I. M. and P. C. Parodi. 1977. Effect of seed type on coleotile length weight in triticale X. *tritico-secale* witt mack. Cereal Res. Commun. 5(4):387-365.

- Perry, D. A. 1981. Handbook of vigor test methods. International Seed Testing Association (ISTA). Switzerland. p. 56.
- Popinigis, F. 1985. Fisiologia de Semente. 2ª ed. Brasil. 269 p.
- Populer, C. 1979. Changes in host susceptibility with time. In Plant Disease and Advanced Treatise, Vol. 3. J.G. Horsfall and E.B. Cowling (Eds.). Academic Press, New, York. p. 239.
- Rincón, S. F. 1989. Deterioro de semilla de maíz y su relación con las condiciones de almacenamiento. Tesis Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, México. 85 p.
- Rueda, P. E. O. 1998. Producción de antisueros contra *Acidovorax avenae* pv. *citrulli*; y su detección en la Comarca Lagunera. Tesis de Maestría Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 95 p.
- Ruíz, E.F.H. 1996. Potencial de pruebas de calidad para calificar vigor en lotes de semilla de chile (*Capsicum annum* L.) y jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Maestría en Tecnología de Semillas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo. México p.52.
- Rodríguez, Del A.J.M. 1991. Métodos de investigación pecuaria. Editorial Trillas. México. 208 p.
- S. A. R. H. 1993. Anuarios estadísticos 1988-1992. México. 215 p.
- SAS Institute Inc. 1990. SAS/STAT User's guide. Versión 6. Fourth edition. Vol. 2. Cary, NC. SAS Inc.
- Stace-Smith R, and R. I. Hamilton. 1988. Inoculum thresholds of seedborne pathogens. Viruses. Phytopathology 65:1218-23.
- Stryer, L. 1981. Biochemistry. W.H. Freeman and Company Second Edition. San Francisco, California. 908 p.
- Téliz, O. D. y A. G. Mora, 1986. Inmunosorbencia con enzimas conjugadas. Rev. Mex. de Fitopatología. 4:133-141.
- Timian R. G. 1974. The range of symbiosis of barley and barley stripe mosaic virus. Phytopathology 64:342-45.
- Uyemoto. J. K., and R. G. Grogan. 1977. Southern bean mosaic virus: evidence for seed transmission in bean embryos. Phytopathology 67:1190-1196.

- Vega, P. A. 1989. Transmisión de virus en semilla de chile (*Capsicum annum* L.). Tesis Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillos, México. 85 p.
- Vidales F., J. A. y F. Delgadillo S. 1987. Detección de virus en semillas de melón y pepino en el valle de Apatzingan, Michoacán. Enfermedades virales del melón (*Cucumis melo* L.) y su control en México. Informe de Investigación Ciclo 1986-87 Campo Experimental Bajío. Guanajuato. México. pp. 18-20.
- Vidales F., J. A. 1987. Efecto de prácticas de manejo del cultivo de melón en la incidencia de virosis en el Valle de Apatzingan. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidraulicos. Informe de investigación ciclo 1986-87. Celaya, Guanajuato, México. pp. 22-23.
- Wang, D. and A. J. Muale. 1992. Early embryo invasion as a determinant in pea of the seed transmission of pea seed-borne mosaic virus. J. Gen. Virol. 73:1615-20.
- Wang, D. and A. J. Muale. 1993. Seed transmission of pea seed-borne mosaic virus in pea – a process full of surprises. Int. Congr. Virol., 9th. Glasgow, Scotland. Abstr. W64-8.
- Wilcoxson, R. D, L. E. B Johnson, and F. I. Frosheiser. 1975. Variation in the segregation forms of alfalfa mosaic virus strains in different alfalfa organs. Phytopathology 65:1249-54.

VIII. APENDICE

Prueba ELISA

Se llevó a cabo de acuerdo a Télis y Mora (1986) y modificada por AGDIA.

La preparación de soluciones amortiguadoras (Buffer), se describe a continuación.

Cuadro A.1. Solución de lavado PBS-T.

REACTIVO	1000 ml AGUA DESTILADA
Cloruro de sodio (NaCl).	8.15 g
Fosfato dibásico de sodio, hidratado (Na ₂ HPO ₄ 12H ₂ O).	1.15 g
Fosfato monobásico de potasio (KH ₂ PO ₄), (anhydro).	0.20 g
Cloruro de potasio (KCl).	0.20 g
Tween – 20	0.50 ml

Ajustar el pH 7.4.

Cuadro A.2. Solución de cubrimiento.

REACTIVO	1000 ml DE AGUA DESTILADA
Carbonato de sodio (Na ₂ CO ₃).	1.59 g
Bicarbonato de sodio (NaHCO ₃).	2.93 g
Acido de sodio (N ₃ N ₉).	0.20 g

Ajustar el pH a 9.6. Almacenar a 4°C.

Cuadro A.3. Solución de extracción †.

REACTIVO	DISOLVER EN 1000 ml
Sulfito de sodio (anhydro)	1.30 g
Polyvinyl pyrrolidona (PVP) MW 24-40,000	20.00 g
Acido de sodio (N ₃ N ₉).	0.20 g
Albumina de huevo grado II	2.00 g

Ajustar el pH 7.4. Almacenar a 4°C.

† Disolver en solución PBS-T. Se prepara al momento de moler el tejido.

Cuadro A.4. Solución de conjugada †.

REACTIVO	DISOLVER EN 1000 ml
Albumina de bovino (BSA)	2.00 g
Polyvinyl pyrrolidona (PVP) MW 24-40,000	20.00 g

Ajustar el pH a 7.4. Almacenar a 4°C.

† Disolver en solución PBS-T.

Cuadro A.5. Solución de substrato

REACTIVO	DISOLVER EN 800 ml DE AGUA DESTILADA
Cloruro de magnesio (ClMg)	0.10 g
Acido de sodio (N ₃ N ₉).	0.20 g
Dietanolamina	97.00 ml ¹

Ajustar el pH a 9.8 con ácido hidroclicoridrico. Aforar a un volumen de 1000 ml¹ con agua destilada y almacenar a 4°C.

A.6. Procedimiento.

Se usó Conjugada y Gammaglobulina de la Compañía AGDIA de los virus Mosaico del Pepino y Virus Mancha Anular del Papayo Variante Sandía. La metodología consistió en ocho pasos que a continuación se describen:

1. Las paredes del plato fueron cubiertas con la solución de cubrimiento y gammaglobulina (Cuadro A.2), donde la primera se calculó basándose en 96 cavidades o posos cada uno con 20 μ l, la segunda se calculó sobre la base de la dilución 1:200, por lo que se agregó a la solución de cubrimiento 60 μ l de gammaglobulina.

Una vez hecha la mezcla anterior los pozos se llenaron con una micropipeta, posteriormente el plato se cubrió con una tapa del mismo material del plato y se incubó en una cámara germinadora húmeda Burrows (Honeywel), a una temperatura de 36°C por cuatro o cinco horas.

2. Después de haberse incubado el plato por el tiempo requerido este se lavó cinco veces con solución PBS-T (Cuadro A.1), la cual se aplicó a presión en cada cavidad para eliminar los excedentes de la conjugada y la

gammaglobulina. Cada vez que se lavó el plato, se llenó perfectamente y se dejó reposar con la solución por 5 minutos, enseguida el plato fue sacudido en una base de madera y cubierto con papel sanita para eliminar el exceso de humedad de los posos, y continuar con el siguiente paso.

3. Para la preparación de la muestra se empleó morteros en los cuales se agregó 5.0 ml de solución de extracción (Cuadro A.3) + 1.0 g de tejido. Posteriormente, se realizó una molienda de lo anterior y esta fue pasada por un pedazo de tela de cielo con la finalidad de separar el líquido del tejido, enseguida se depositó en vasos de plástico (en el caso de fruto y material vegetativo) y con relación a la semilla se agregó 1.0 ml + 10 semillas en tubos Ependorff los cuales fueron previamente etiquetados para tener una buena identificación.

Después de realizar el filtrado, los pozos del plato se llenaron con dicha mezcla con ayuda de una micropipeta, al termino de esto, se tapó y se incubó en un refrigerador a 4°C por toda la noche.

4. Este paso de lavado es importante ya que no deben de quedar residuos del tejido a analizar en las paredes de los pozos, porque puede alterar el resultado. Después de haberse incubado el plato por el tiempo requerido se lavó cinco veces con solución de PBS-T, la cual se aplicó a presión en cada cavidad para eliminar los excedentes de la muestra, en cada lavado el plato se dejó reposar en dicha solución por cinco minutos, una vez que se cumplió

con lo anterior el plato se sacudió en una base de papel sanitas para quitar el exceso de humedad y continuar con el siguiente paso.

5. En este paso se pipetearon 12 ml de la solución de conjugada (Cuadro A.4) 12 ml + 60 μ l de conjugada de gammaglobulina con la enzima (los cálculos se realizaron para 98 pozos y sobre la base de la dilución de la conjugada de gammaglobulina. Posteriormente, se cargó el plato con una micropipeta, cada pozo se le agregó 60 μ l, enseguida se tapó el plato y se incubó en una cámara germinadora húmeda Burrows (Honeywel) a 36°C por un período de dos a tres horas.
6. Una vez incubado el plato por el tiempo requerido, este se lavó cinco veces con solución de PBS-T aplicada a presión en cada cavidad para eliminar los excedentes de la conjugada, cada que se lava el plato este se llena perfectamente y se deja reposar por 5 minutos. Enseguida el plato se sacude en una base de madera y cubierto con papel sanita para eliminar el exceso de humedad de los pozos, y continuar con el siguiente paso.
7. Se cargó el plato con solución ya que es el que nos indicará la reacción, la cual es el sustrato de la enzima y esta se basa en P – nitrofenil fosfato a una concentración de 0.01 mg / 12 ml de dietanolamina (Cuadro A.5), posteriormente se tapó con su cubierta. A continuación el plato se cubrió con papel sanitas en su totalidad para que la luz no penetrará y así evitar una reacción indeseable debido a que esta última solución es demasiado

sensible a la luminosidad, por lo que se incubó en un cajón oscuro por un período de una hora.

8. El último paso de la ELISA consistió en evaluar la reacción, el plato se sacó y se descubrió para observar la coloración amarilla que nos indicó (+) y la ausencia de color (-). Posteriormente se observó el testigo (+) el cual nos indicó que toda la metodología estuvo bien realizada. En el resto de los pozos positivos nos indicaron la presencia de los virus evaluados.

Cuadro A.7. Cuadrados medios y significancia estadística de los análisis de varianza para las variables evaluadas en el estudio de transmisión de virus en la etapa de invernadero.

F.V.	gl	PESO (g)	DIAMETRO				LONGITUD		
			ECUATORIAL (cm)	POLAR (cm)	PLACENTA (cm)	GRADOS BRIX	PULPA (cm)	CASCARA (cm)	
Genotipos	1	983201.42**	20.89**	1.76	3.02*	9.82*	1.08	0.01	
Tratamientos	9	238593.10	3.23	18.82	0.87	3.60	0.47	0.02	
Genotipos x tratamientos	9	196511.07	2.25	17.18	0.80	2.31	0.11	0.02	
Error	47	130680.18	2.71	(46)9.63	0.66	2.35	1.40	0.12	
	C.V (%)	36.16	14.49	19.02	17.47	17.47	19.96	52.55	

*,** = significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

Cuadro A.8. Comparación de medias para tratamientos de virus inoculados en diferentes etapas fenológicas para el híbrido Crusier.

TRATAMIENTOS	PESO [†] (g)	ECUATORIAL [†] (cm)	DIAMETRO			GRADOS BRIX [†]	PULPA [†] (cm)	LONGITUD	
			POLAR [†] (cm)	PLACENTA [†] (cm)	CASCARA [†] (cm)			CASCARA [†] (cm)	
1	1270.3	12.71	17.00	6.45	9.90	3.62	0.23		
2	1130.4	12.16	19.00	4.97	8.10	3.22	0.34		
3	827.8	10.95	13.62	4.27	9.15	3.20	0.22		
4	894.7	11.25	13.50	5.15	9.00	3.03	0.50		
5	1454.3	13.28	20.25	5.15	9.85	4.04	0.36		
6	1740.0	13.78	21.00	6.05	9.80	3.49	0.49		
7	1303.5	12.91	19.25	4.84	10.10	3.79	0.25		
8	1496.5	13.17	16.25	4.70	11.35	3.28	0.21		
9	1511.2	13.47	17.50	4.99	9.95	3.83	0.25		
10	735.3	10.40	12.70	4.28	9.04	2.95	0.19		
DMS	1562.7	6.71	10.16	3.55	4.38	2.66	0.29		
\bar{X}	1236.4	12.41	17.01	5.09	9.62	3.45	0.30		

[†]= Medias con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.05).

Cuadro A.8. Comparación de medias para tratamientos de virus inoculados en diferentes etapas fenológicas para el híbrido Crusier.

TRATAMIENTOS	PESO† (g)	ECUATORIAL† (cm)	DIAMETRO		PLACENTA† (cm)	GRADOS BRUX†	LONGITUD	
			POLAR† (cm)	PULPA† (cm)			CASCARA† (cm)	
1	1270.3	12.71	17.00	6.45	9.90	3.62	0.23	
2	1130.4	12.16	19.00	4.97	8.10	3.22	0.34	
3	827.8	10.95	13.62	4.27	9.15	3.20	0.22	
4	894.7	11.25	13.50	5.15	9.00	3.03	0.50	
5	1454.3	13.28	20.25	5.15	9.85	4.04	0.36	
6	1740.0	13.78	21.00	6.05	9.80	3.49	0.49	
7	1303.5	12.91	19.25	4.84	10.10	3.79	0.25	
8	1496.5	13.17	16.25	4.70	11.35	3.28	0.21	
9	1511.2	13.47	17.50	4.99	9.95	3.83	0.25	
10	735.3	10.40	12.70	4.28	9.04	2.95	0.19	
DMS	1562.7	6.71	10.16	3.55	4.38	2.66	0.29	
X	1236.4	12.41	17.01	5.09	9.62	3.45	0.30	

f= Medias con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey, P<0.05).

Cuadro A.10. Cuadrados medios y significancia de los análisis de covarianza para parámetros evaluados para calidad física en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus.

F.V.	gl	PESO DE MIL SEMILLAS (g)	PESO VOLUMETRICO (kg/hl)	PESO TOTAL (g)
GENOTIPO	1	85.92*	12.67	137.68**
TRATAMIENTO	9	24.13*	66.65	23.11
GENOTIPO X TRATAMIENTO	9	16.51	50.81	36.72
FECHAS DE COSECHA	1	71.76*	211.17	181.90**
ERROR	43	12.84	73.77	13.82
C.V. (%)		14.19	22.04	39.93

*, ** = Significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

Cuadro A.11. Cuadrados medios y significancia de los análisis de covarianza para parámetros evaluados para germinación estándar en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus.

F. V.	gl	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
GENOTIPO	1	110.14	2485.11*	51.75**	13.57**
TRATAMIENTO	9	223.45	594.52	6.87	4.83**
GENOTIPO X TRATAMIENTO	9	411.74**	963.18*	10.30*	2.33
FECHAS DE COSECHA	1	3.04	1384.17	14.06*	8.86*
ERROR	171	139.13	391.54	4.18	1.70
C.V. (%)		65.42	30.05	32.61	11.22

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

*, ** = Significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

Cuadro A.12. Comparación de medias para tratamiento de los parámetros evaluados para germinación estándar para los dos genotipos.

Tratamientos	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
1	18.83 ab ^{§§}	69.17	7.46	12.50 a
2	17.63 ab	61.60	7.03	10.87 b
3	18.56 ab	63.19	8.20	11.54 ab
4	13.78 b	70.11	7.00	10.92 b
5	16.89 ab	67.11	7.58	11.92 ab
6	18.60 ab	67.00	7.04	11.52 ab
7	19.00 ab	56.20	7.33	11.90 ab
8	18.53 ab	70.07	8.71	12.61 a
9	27.33 a	76.67	8.23	12.48 a
10	14.83 ab	66.17	6.86	11.29 b
D.M.S	13.15	22.29	2.02	1.45
X	18.40	66.73	7.54	11.75

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

^{§§}Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, según prueba de (Tukey P<5%).

Cuadro A.13. Cuadrados medios y significancia de los análisis de covarianza para parámetros evaluados para vigor en semilla de dos genotipos de melón en estudio de transmisión de virus.

F. V.	gl	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
GENOTIPOS	1	19.49	1592.55*	38.71**	6.37**
TRATAMIENTO	9	60.24	248.05	2.55	1.20
GENOTIPO X TRATAMIENTO	9	562.95**	924.47**	11.31**	1.17
FECHAS DE COSECHA	1	1215.95*	3640.34**	53.53**	4.83*
ERROR	171	223.84	263.62	3.30	0.91
C.V. (%)		45.37	21.34	24.15	7.77

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

*, ** = Significancia al 0.05 y 0.01 de probabilidad, respectivamente.

Cuadro A.14. Valores medios por tratamiento de los parámetros para vigor evaluados para los dos genotipos.

Tratamientos	PC [†] (%)	GER ^{††} (%)	LP ^{†††} (cm)	LR [§] (cm)
1	33.46 ^{§§}	76.58	7.46	12.41
2	32.22	71.72	7.03	11.90
3	34.57	80.16	8.19	12.46
4	29.83	74.06	7.00	12.08
5	28.63	74.49	7.57	12.51
6	33.14	70.24	7.04	12.16
7	32.66	75.28	7.32	12.60
8	37.73	86.20	8.71	12.38
9	32.76	83.80	8.23	12.95
10	32.37	71.18	6.86	12.01
D.M.S	16.68	18.10	2.02	4.53
X	32.74	76.37	7.54	12.35

[†]PC= primer conteo, ^{††}GER= germinación, ^{†††}LP= longitud de plúmula, [§]LR= longitud de radícula.

^{§§}Valores con la misma letra son estadísticamente iguales, según prueba de (Tukey P<5%).