



**CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE NEMATODOS TRANSMISORES DE VIRUS  
(Xiphinema spp.) Y EL VIRUS DE LA "DEGENERACION INFECCIOSA" DE LA VID -  
ENTRENUDO CORTO - (GFLV)**

**I**

**Memoria que presenta  
Jesus FRESNO PEREZ  
para optar al grado de Doctor en Ciencias Biologicas  
Enero 1992**

**Directora: Dra. Dña. Maria ARIAS DELGADO  
Ponente: Prof. Dr. D. Benjamín FERNANDEZ RUIZ**

**Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense  
Madrid**



**ARCHIVO**

**TESIS DOCTORAL**

**CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE NEMATODOS TRANSMISORES DE  
VIRUS (Xiphinema spp.) Y EL VIRUS DE LA "DEGENERACION INFECCIOSA"  
DE LA VID - ENTRENUDO CORTO - (GFLV)**

*Jesus FRESNO PEREZ*

Enero 1992

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE  
MADRID**

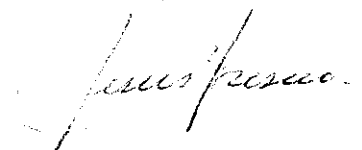
**RESUMEN**

**CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE NEMATODOS TRANSMISORES DE VIRUS  
(Xiphinema spp.) Y EL VIRUS DE LA "DEGENERACION INFECCIOSA"  
DE LA VID - ENTRENUDO CORTO - (GFLV)**

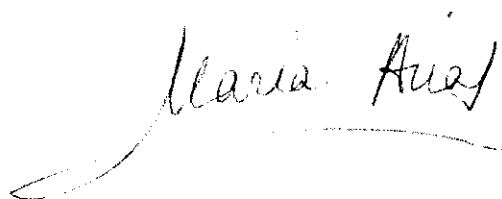
**Jesus FRESNO PEREZ**

La memoria que lleva por título **CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE NEMATODOS TRANSMISORES DE VIRUS (Xiphinema spp.) Y EL VIRUS DE LA "DEGENERACION INFECCIOSA" DE LA VID - ENTRENUDO CORTO - (GFLV)**, que presenta Jesús FRESNO PEREZ, para optar al grado de DOCTOR en Ciencias Biológicas, ha sido realizada en el Departamento de Agroecología del Centro de Ciencias Medioambientales (CSIC), bajo la dirección de la Dra. Dña. María ARIAS DELGADO con la supervisión del ponente Prof. Dr. D. Benjamín FERNANDEZ RUIZ, Profesor del Departamento de Zoología de la Universidad Complutense de Madrid.

Madrid, Enero de 1992



Jesús FRESNO PEREZ



Dra. Dña. María ARIAS DELGADO

Prof. Dr. D. Benjamín FERNANDEZ RUIZ

**RESUMEN**

Se pretende contribuir con este trabajo al conocimiento de la incidencia del virus de la degeneración de la vid y de sus nematodos vectores en los viñedos españoles, así como su correlación con la sintomatología que producen y la influencia de los factores ambientales en el desarrollo de los patógenos.

Se realiza en primer lugar una recopilación de los estudios a nivel mundial sobre la virosis en el viñedo, centrándose en aquellos referentes a la "degeneración infecciosa" de la vid; de igual modo se revisan los trabajos existentes sobre la incidencia e importancia de los nematodos fitoparásitos en el viñedo, con especial énfasis en las especies transmisoras de virus. En el capítulo de material y métodos, tras la indicación de los planteamientos para la realización de las muestras, se hace una descripción detallada de la zona de estudio y de las fincas experimentales donde se llevó a cabo el trabajo. A continuación se expone la metodología utilizada en la detección del virus, estudio de la nematofauna, caracterización en el estudio de los parámetros edáficos, tratamiento estadístico y cartografiado automático de los datos.

Los resultados obtenidos indican que la incidencia del virus alcanza el 12 % y que la coincidencia del virus con los nematodos vectores es variable, puede ir de próxima al 100 % a prácticamente nula dependiendo de las zonas. Se indica la importancia de los factores medioambientales, especialmente el contenido de agua en el suelo, en el desarrollo de estos nematodos y por lo tanto la importancia de realizar los muestreos en los distintos horizontes del suelo y en épocas del año adecuadas, dada la distribución aleatoria y contagiosa de estos organismos. Se resalta, asimismo, la baja correlación entre la sintomatología que muestran algunas plantas y la presencia de virus, indicándose que, en muchos casos, se debe a la acción de otros nematodos fitoparásitos ó, incluso, algunos focos de filoxera, condiciones ambientales o a características fisiológicas de la planta, observándose que dicha sintomatología muestra una relación más clara con la presencia del virus en unas variedades que en otras.

Por último, se destaca la necesidad de tener en cuenta la presencia de ambos patógenos, puesto que aún en el caso de que la infección se haya producido a través del injerto, la existencia de un solo nematodo transmisor de virus garantiza la persistencia de la infección; así como la importancia de abordar estos problemas desde una órbita multidisciplinar profundizando en el conocimiento tanto de la morfología y fisiología de la planta como en las características agroecológicas de los patógenos implicados y de la especificidad de transmisión a fin de conseguir un control de la enfermedad que sea ecológicamente compatible.

**INDICE**

	<u>Pág.</u>
RESUMEN	VI
INTRODUCCION	1
PLAN DE TRABAJO	4
I. ANTECEDENTES	10
I.1 Enfermedades víricas de la vid	12
I.1.1. Nepovirus	13
I.1.2. Virus de la degeneracion infecciosa o del entrenudo corto de la vid (GFLV)	16
I.1.2.1. Caracteristicas generales	19
I.1.2.2. Acidos nucleicos	19
I.1.2.3. Ultraestructura	22
I.1.2.4. Mecanismos de transmisi3n	23
I.1.2.5. T3cnicas de diagn3stico del GFLV	24
I.2. Nematodos asociados a la vid	27
I.2.1. Nematodos ectoparasitos y transmisores de virus	28
I.2.1.1. Sistemtica y taxonomia de la familia <b>Longidoridae</b>	28
I.2.1.2. Caracteristicas morfol3gicas	29
I.2.2. Nematodos de la familia <b>Longidoridae</b> asociados al vi3edo	34
I.2.2.1. <u>Xiphinema index</u>	37
I.2.2.2. <u>X. italiae</u>	40
I.2.2.3. Otras especies de nematodos de la familia Longidoridae	42
I.3. Relacion virus-vector	45
I.4. Metodolog3a para el estudio de la transmisi3n	47
I.5. Estado actual de los estudios sobre GFLV y los nematodos asociados a la vid en Espa3a	48
I.5.1. Virus de la degeneracion infecciosa de la vid	48
I.5.2. Nematodos de la vid	49

II.MATERIAL Y METODOS	52
II.1. Planificación de muestreos	53
II.2. Descripción de las zonas de estudio	54
II.2.1. Zonas vitícolas. La Mancha	57
II.2.2. Fincas Experimentales	65
II.2.2.1. Finca Experimental "La Higuera"	65
II.2.2.2. Finca de La Escuela Museo de la Vid y el Vino de Madrid	67
II.3. Muestreos realizados	67
II.3.1. Muestreos previos	69
II.3.2. Muestreo en la región de La Mancha	70
II.3.3. Muestreos en Fincas Experimentales	71
II.4. Recogida y preparación de muestras	76
II.4.1. Muestras de suelo	76
II.4.2. Muestras de material vegetal	79
II.5. Métodos de extracción y estudio de nematodos del suelo	79
II.5.1. Preparación de muestras de suelo	80
II.5.2. Método de sedimentación-decantación	81
II.5.3. Método de centrifugación	82
II.5.4. Métodos de estudio cuantitativo y cualitativo de los nematodos	84
II.5.4.1. Recuento, aislamiento, fijación y montaje	85
II.5.4.2. Conservación del extracto de la muestra	87
II.5.4.3. Observaciones microscópicas	87
II.6. Técnicas para el estudio del material vegetal	89
II.7. Técnicas para la detección del virus	89
II.7.1. Transmisión mecánica a planta herbácea	89
II.7.2. Tinción negativa ( <i>Microscopía Electrónica</i> )	90
II.7.3. Inmunoelectromicroscopía	91
II.7.3.1. ISEM (Immunosorbent Electromicroscopy)	92
II.7.3.2. AVM (Antiserum Virus Mixture)	93
II.7.3.3. Decoración	94
II.7.3.4. Tampones y colorantes necesarios	95
II.7.4. Secciones ultrafinas	96
II.7.5. Métodos serológicos	97

	<u>Pág.</u>
II.7.5.1. ELISA-DAS	98
II.7.5.2. Sistemas de amplificación de ELISA	101
II.7.6. Hibridaciones de ácidos nucleicos, sondas radioactivas y colorimétricas	102
II.8. Metodología para el estudio de los virus en el interior de los nematodos	103
II.8.1. Metodología para la detección del virus en el nematodo por Microscopía Electrónica	103
II.8.2. Preparación de nematodos para la detección del virus en su interés por ELISA e ISEM	105
II.8.3. Metodología pra detectar el virus en el nematodo por la reacción en cadena de la polimerasa ("Polimerasa Chain Reaction") (PCR)	108
II.9. Metodología para el estudio de la transmisión por vectores	108
II.10. Métodos para el estudio de las características edáficas	112
II.11. Métodos estadísticos para el tratamiento y cartografiado automático	113
III. RESULTADOS	114
III.1. Muestreo previo	115
III.2. Detección del virus de la degeneración infecciosa	127
III.2.1. Comprobación de la fiabilidad del método	128
III.2.2. Comparación de tampones de extracción	131
III.2.3. Variación del pH en función del tampón utilizado	136
III.2.4. Ensayos de comprobación entre distintas partes y estados de la planta frente a diferentes tampones	141
III.2.5. Sensibilidad del test ELISA para distintas concentraciones de la muestra	144
III.3. Variación de la concentración del virus	155
III.4. Correlación entre sintomatología y virosis	180
III.4.1. Correlación sintomatología-virosis en distintas variedades	180
III.4.2. Correlación sintomatología-virosis en Garnacha	181
III.4.3. Correlación sintomatología-virosis en focos de La Mancha	191
III.5. Incidencia del GFLV en La Mancha	197
III.6. Incidencia virus-nematodos vectores	198

	<u>Pág.</u>
III.7. Estudios ultraestructurales de plantas indicadoras y de <u>X.index</u>	207
III.8. Transmisión del virus de la degeneración infecciosa por <u>X.index</u> . Detección del virus en el nematodo vector y en planta herbácea	215
V. DISCUSION	222
IV.1. Incidencia y detección del virus de la degeneración infecciosa	223
IV.2. Incidencia de nematodos fitoparásitos y transmisores de virus	231
IV.3. Correlación bioecológica entre virus y nematodo vector	237
V. CONCLUSIONES	240
VI. BIBLIOGRAFIA	245
VII. APENDICES	
VII.1. Relación de muestreos.	
VII.2. Tablas y matrices de resultados.	

## **INTRODUCCION**

La práctica del cultivo de la vid surge en Asia, desde donde pasa a Egipto, de allí al resto de la cuenca mediterránea (Grecia y Las Galias) y con el Imperio Romano se propagó por el Continente Europeo. La vid es el frutal más conocido en el mundo, puede cultivarse desde las regiones templadas a las tropicales, pero la mayor parte de los viñedos se encuentran en las zonas templadas, donde ocupan una superficie de 10 millones de ha, distribuidas a lo largo de los paralelos 40-42, en dos franjas que incluyen la cuenca mediterránea, fuera de las cuales destacan los cultivos de los países del hemisferio sur -Sudafrica, Chile y Argentina -. Sin embargo, la mayor concentración del viñedo se encuentra en Europa: Albania, España, Francia, Grecia, Italia, Portugal y Yugoslavia.

De igual manera, las enfermedades de la vid se conocen desde antiguo, así en la mitad del siglo XIX el mildio se extendió desde el oeste de Europa a todo el Continente causando pérdidas de hasta un 80% en la producción, de modo parecido a lo que ocurrió con la filoxera y, una vez controladas estas epidemias, al introducir en los viñedos patrones resistentes, se han desarrollado nuevas enfermedades, entre ellas **"la degeneración infecciosa"**, que es tan antigua como el cultivo de la vid, su hospedador principal, que también parece tener su origen en el Oriente Medio y de cuya sintomatología ya se tenían referencias en 1800 según VUITTENEZ (1970), pero que hasta los años 30 no se comprobó que se transmitía por injerto y era una enfermedad de origen edáfico (HEWITT, 1956) y es en los años 50 cuando se supo que era causada por un virus y su vector un nematodo del suelo (HEWITT et al., 1958).

Actualmente se considera que dicha enfermedad es la que causa mayores pérdidas en el viñedo en todo el mundo por decaimiento progresivo de las vides, reducción del contenido de clorofila de las hojas, pérdidas de producción y calidad, etc. (Bovey, 1973). Por el momento, no existen métodos de control del virus, aunque en los últimos años los métodos de diagnóstico han sido de una gran ayuda para la selección de material de propagación vegetativa libre de virus, y dentro de ellos ha sido, sin duda, la técnica ELISA la que en mayor grado ha contribuido al reconocimiento de los niveles de infección en los estudios epidemiológicos y en el mejor conocimiento de la relación virus-vector. Por otro lado, conocido el papel como vectores del virus de los nematodos Xiphinema index y X. italiae -, los estudios de ecología de la transmisión y la relación virus-vector son de gran interés en las investigaciones sobre la patología de la vid, a fin de dar pautas para la correcta solución de los procesos tradicionales de arranque y replante dirigidas al control de "la degeneración infecciosa".

Respecto a la producción vitivinícola mundial, España está clasificada en tercer lugar, tras Francia e Italia, el viñedo es uno de sus cultivos más tradicionales, siendo de gran importancia para la economía española, ocupa el tercer lugar en extensión, después del trigo y del olivo. Según el Anuario Estadístico de la Producción Agraria (1988) el viñedo ocupa 1.513.810 ha, que representan el 7% de las tierras cultivadas. Además, hay que destacar el valor social y económico de este cultivo, si se tiene en cuenta que la mayor densidad de población dentro de algunas Comunidades Autónomas se encuentra en las zonas vitícolas y su explotación resulta rentable en comarcas y zonas marginales, donde no lo son otros cultivos, debido al terreno pobre y al clima seco, como son las tierras albarizas de Jerez y las calizas del mioceno manchego.

El virus de la degeneración infecciosa de la vid (GFLV) fué identificado en España en los años 70 (PEÑA-IGLESIAS y AYUSO, 1971) al igual que sus nematodos vectores, Xiphinema index y X. italiae (ARIAS y NAVACERRADA, 1973); por aquellos años se creó el Departamento Regional y Coordinador de Viticultura y Enología del INIA a fin de realizar una selección sanitaria de la vid, que durante muchos años se ha venido realizando a base de diagnóstico visual (determinación de síntomas), por transmisión a indicadores leñosos (Vitis rupestris) y herbáceos (Chenopodium quinoa, Ch. amaranticolor, Ch. murale, etc), técnicas serológicas de floculación y/o precipitación, determinación de virus por microscopía electrónica y sólo recientemente métodos serológicos e inmunoenzimáticos (ELISA).

Todo ello nos ha llevado al estudio de la epidemiología del virus en relación con sus nematodos vectores, en nuestros viñedos, dentro de un contexto bioecológico. A tal fin hemos centrado el trabajo en La Mancha, dado que por su extensión (717.295 ha) esta zona representa la mayor concentración de dicho cultivo en el mundo, el 8% de la superficie vitícola mundial y el 11,4% de Europa y el 5% de la nacional, por otro lado, debido a sus características geográficas y climáticas, que retrasaron en su día el avance de la filoxera, y por constituir un buen marco de referencia para el estudio epidemiológico de las enfermedades de las plantas de origen edáfico y su control ambiental (BELLO et al., 1990).

**PLAN DE TRABAJO**

Las referencias bibliográficas y la experiencia de nuestros laboratorios de diagnóstico han conducido a la idea de la presencia generalizada del virus de la degeneración infecciosa en los viñedos españoles. Además de los datos recogidos en los antecedentes sobre la presencia en determinadas regiones como Jerez, La Rioja, Montilla, etc., existe evidencia de dicha sintomatología en todas las zonas vitícolas debida a la información de los técnicos agrarios y agentes del SEA. De acuerdo con estos trabajos, generalmente visuales, se tiene la creencia en nuestro país de que prácticamente el 100 % de las plantas de vid son portadoras y manifiestan en mayor o menor grado los efectos del virus, a tal extremo de que PEÑA-IGLESIAS (1972) en las II Jornadas Técnicas de Vid y vino en Rioja (Haro - Logroño) manifestaba que "... siendo los virus transmisibles por injerto y siendo este procedimiento usual de reproducción de la vid, es lógico pensar que será difícil encontrar cepas de variedades comerciales que estén exentas o libres de los virus que con mayor incidencia económica y extensión afectan este cultivo".

En algunos casos se ha comprobado la correlación de los síntomas con la presencia de virus, como es el caso de viñedos de Cebolla (Toledo) donde las alteraciones que se venían detectando desde los años 70 por PEÑA y ALFARO, presumiblemente causadas por virus, fueron confirmadas mediante la realización de test de diagnóstico en nuestros laboratorios del INIA, pero en otras ocasiones la sintomatología se debe a características varietales o es la manifestación de alteraciones fisiológicas debidas a causas diferentes a los virus, y que pueden inducir a error, máxime cuando los diagnósticos visuales se realizan en distintas zonas y variedades y por técnicos diferentes.

La cuestión es si, de estar tan extendida la virosis, la mayor parte de nuestros viñedos deberían ser improductivos, y la infección se habría producido a través del material vegetal, injertos o patrones, siendo de menor importancia el papel del nematodo vector en su dispersión, aunque sí en la persistencia. Por otro lado la selección sanitaria, que se venía realizando en base a esta sintomatología de visu, da lugar a la posible eliminación de genotipos de interés agronómico, al confundir síntomas virales con características varietales.

Debido a estos problemas, al iniciar el estudio, se realizaron una serie de contactos con agentes del SEA y técnicos en viticultura de los principales centros nacionales, a fin de conocer la situación en cada comarca; la mayor parte de ellos consideraban muy extendidas las virosis, con la casi única excepción de J. PROVEDO del departamento de Viticultura y Enología de la consejería de Agricultura y Alimentación del gobierno de La Rioja, quien manifestó que: "... a pesar de la opinión generalizada de que el viñedo estaba afectado por virosis en un porcentaje alto, la producción era aceptable, no acusándose la disminución propia de la enfermedad".

De acuerdo con los objetivos y planteamientos expuestos, se realizó en primer lugar una síntesis de las enfermedades víricas de la vid, con especial énfasis en las producidas por *Nepovirus*, para centrarnos a continuación en la revisión de los estudios existentes sobre el virus de la degeneración infecciosa (GFLV), sus características generales, morfología, mecanismos de transmisión y técnicas de diagnóstico utilizadas en su detección.

A continuación se lleva a cabo, igualmente una revisión de los nematodos asociados a la vid, centrándonos en los ectoparásitos y transmisores de virus de la familia Longidoridae. Se detalla su posición sistemática, taxonomía y caracteres morfológicos de la familia, y asimismo se descubren con detalle la morfología y biología de X. index y X. italiae que son los nematodos más importantes como transmisores de GFLV en Europa. Se pasa a revisar las relaciones virus-vector, la metodología empleada en el estudio de la transmisión, para terminar el capítulo de antecedentes con el análisis del estado actual en España de los estudios sobre el virus causante de la degeneración infecciosa, como de los nematodos que los transmiten.

En el siguiente capítulo se describe la metodología empleada en la planificación de los muestreos, se da una descripción detallada de las zonas de estudio y fincas experimentales en que se llevó a efecto el trabajo. Asimismo se detallan los muestreos realizados, la metodología seguida en la toma de muestras, preparación de las mismas, métodos de extracción y estudio de los nematodos, las técnicas utilizadas para la detección del virus en material vegetal por transmisión mecánica, estudios ultraestructurales o inmunológicas (ELISA), los métodos para el estudio del virus en el interior del nematodo y, en fin, los seguidos para el estudio de las características del medio y en el tratamiento estadístico y cartografiado automático de los datos.

En el capítulo de resultados se exponen en primer lugar los obtenidos en los muestreos previos, para entrar a continuación en la problemática relacionada con la detección del virus de la degeneración infecciosa, los resultados obtenidos en la comprobación del método de extracción más correcto y su grado de sensibilidad. Los ensayos realizados para el diagnóstico del virus y el estudio de la concentración del mismo en las distintas partes de la planta y su variación a lo largo del año. Asimismo se estudia la correlación

existente entre la sintomatología observada y la presencia del virus en distintas variedades en campos de experimentación y en distintos focos de los viñedos de La Mancha, pasando a continuación a los resultados obtenidos sobre la incidencia real del virus en La Mancha, la zona más profundamente estudiada, y a la comprobación de la incidencia virosis-nematodos. Los dos últimos apartados del capítulo tratan de los resultados obtenidos en los estudios ultraestructurales del virus que han sido realizados bien en planta herbácea indicadora, bien en el interior de sus nematodos vectores, y se termina con la realización de los postulados preestablecidos y con la detección del virus en planta herbácea indicadora y en el nematodo vector.

En la discusión se distinguen tres apartados principales, el primero de los cuales trata de la incidencia y detección del virus, pasando a continuación a discutir la incidencia nematodos fitoparásitos y transmisores de virus en el viñedo, sus exigencias ambientales, para terminar con la incidencia virus-vector. A continuación se destacan las conclusiones principales, para terminar con una extensa bibliografía donde se recogen las referencias más importantes sobre el tema. Se ilustra el trabajo con esquemas de la metodología seguida y de la morfología de los patógenos así como una gama completa de fotografías de sintomatología y ultraestructuras.

## **I. ANTECEDENTES**

En este capítulo se hace, en primer lugar, una revisión de las virosis que vienen afectando a las zonas vitícolas del mundo, indicándose brevemente las principales características de cada virus, su importancia económica y mecanismos de transmisión. A continuación se hace una somera descripción de los Nepovirus asociados al viñedo, para centrarnos en el virus de la degeneración infecciosa o entrenudo corto haciendo una descripción completa de sus características morfológicas y serológicas así como de la sintomatología que provoca y las alteraciones ultraestructurales que provocan en las plantas infectadas.

Del mismo modo, se revisan los nematodos asociados a dicho cultivo, su importancia económica y distribución mundial con especial atención a los ectoparásitos y transmisores de virus de la familia Longidoridae, indicándose su taxonomía, caracteres morfológicos mas importantes para su determinación, sus características biológicas, distribución mundial y asociación con virosis; para centrarnos directamente en las especies que afectan al viñedo, Xiphinema index y X. italiae del que se hace una descripción completa.

Finalmente, se hace una puesta a punto de los conocimientos existentes sobre la especificidad de transmisión, la metodología utilizada para comprobar dicha transmisión y, por último, el estado actual de las investigaciones sobre este tema en España.

### I.1. ENFERMEDADES VIRICAS DE LA VID.

Las virosis de la vid son enfermedades que pueden propagarse mecánicamente a través del material vegetal (por cortes o injertos), por inoculación de savia de una planta enferma a otra sana o por medio de vectores, que pueden ser invertebrados (insectos o nematodos) u hongos edáficos, también pueden transmitirse a través del pólen y la semilla infectada. Las primeras referencia sobre síntomas de virosis en vid ya se encuentran a finales del siglo XIX y principio del XX, pero no es hasta los años 30-40 cuando aparecen los primeros trabajos sobre virus en viñedo. Hasta 1950 se consideró que toda la sintomatología observada en vid, no debida a alguno de los patógenos conocidos, estaba motivada por un solo virus (BRANAS, 1948). A partir de esta fecha se realizan trabajos como los de HEWITT (1950) que describen el virus de la degeneración de la vid o "fanleaf" (GFLV) o el de DIAS y HARRISON (1963) que consiguen aislarlo. De gran repercusión fué el descubrimiento por HEWITT *et al.* (1958) de la transmisión del GFLV por un nematodo del suelo Xiphinema index, puesto que a partir de este momento surgen numerosos trabajos sobre sintomatología, aislamiento, descripciones, mecanismos de transmisión, importancia económica, etc. PADILLA (1989) hace una revisión de todos estos artículos, en la que recoge más de 450 trabajos referentes al tema. En los años 60 se atribuían las enfermedades víricas de la vid a 7 virus diferentes (HEWITT, 1968), en la actualidad han sido aislados más de 20. De los 34 grupos de virus vegetales aprobados por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (MATTHEWS, 1991), cuatro afectan a la vid, dos de ellos de origen edáfico (los **Nepovirus** transmitidos por nematodos y los **Necrovirus** cuyos vectores son hongos del suelo), otro grupo del virus del mosaico de la alfalfa, "**Alfalfa Mosaic Virus Group**", se

transmite mediante pulgones y el último, los **Closterovirus**, cuyo mecanismo de transmisión es poco conocido por el momento aunque se ha demostrado que algunos se transmiten por cochinillas de la familia *Pseudococcidae* GUGERLI et al.(1990) y MURANT et al. ( in: MATHEWS, 1991).

De todos ellos, los que causan enfermedades más importantes en la vid son los nepovirus: entrenudo corto infeccioso de la vid ("Fanleaf Grape Virus" (GFLV); manchas en anillo del tomate "Tomato Ringspot Virus" (TRSV); virus de la mancha en anillo del tabaco "Tobacco Ringspot Virus" (TobRV) y virus del mosaico en roseta del melocotonero "Peach Rossetta Mosaic Virus" (PRMV), así como el "enrollado" "Leafroll"; madera acorchada "Corkey bark" y ahoyado del tallo de la vid "Rupestris Stem Pitting", enfermedades de sintomatología vírica en las que no se ha comprobado el agente causal, aunque se han encontrado frecuentemente asociadas a la presencia de closterovirus. Los restantes causan enfermedades de menor importancia o son de interés local, estando restringidos a determinadas áreas (GOHEEN, 1988).

1.1.1. **NEPOVIRUS.**- Son virus de partículas poliédricas de unos 30 nm de diámetro que se transmiten por nematodos; los siguientes se han aislado de vid:

- Virus del mosaico del Arabis "**Arabis Mosaic Virus**" (AMV), se transmite por X. diversicaudatum. Está relacionado serológicamente y produce una sintomatología similar a la del entrenudo corto con el que puede hallarse en infecciones mixtas. Se encuentra disperso en Europa y también se ha citado en Japón.

- Virus latente búlgaro de la vid "**Grapevine Bulgarian Latent Virus**" (GBLV), MARTELLI et al. (1977), de Bulgaria, también citado en Nueva York, su nematodo vector es X. americanum s.l.

- Virus del mosaico cromático de la vid "**Grapevine Chrome Mosaic Virus**" (GCMV), MARTELLI et al. (1965) y MARTELLI (1970), causa mosaico amarillo, detención del crecimiento y decaimiento de la vid pudiendo inducir síntomas de "fanleaf". Se ha encontrado en Hungría e Inglaterra y lo transmite X. vuittenezi, MARTELLI et al.(1972).
- Virus de las Enaciones de la vid "**Grapevine Enations Disease**"(GED). Se pensó que se producía por un nepovirus porque su sintomatología aparece frecuentemente unida a la presencia de virus de este grupo, pero aún no se ha aislado el agente causal, PEÑA-IGLESIAS, (1989).
- Virus del entrenado corto infeccioso de la vid "**Grapevine Fanleaf Virus**" (GFLV), descrito por HEWITT (1950); CADMAN et al. (1960); DIAS (1963); MARTELLI y HEWITT (1963); VUITTENEZ (1963) y HEWITT et al. (1970), causa la degeneración infecciosa de la vid, se encuentra disperso en todas las zonas vitícolas del mundo, siendo el más importante para el cultivo desde el punto de vista económico. Sus vectores son X. index y X. italiae , este último de menor importancia como vector en campo, MARTELLI (1978).
- Virus del mosaico en roseta del melocotonero "**Peach Rosette Mosaic Virus**" (PRMV), RAMSDELL y MYERS (1974), produce la degeneración de la vid (*Vitis labrusca* cv. concord); está extendido en USA en el Estado de Michigan con algunas repercusiones en Nueva York. Como vectores de este virus se han citado Xiphinema americanum Cobb y Macroposthonia xenoplax (*Criconemoides xenoplax*) (KLOS et al., 1967); pero la transmisión por M. xenoplax requiere ser confirmada (RAMSDELL y MYERS, 1974), así como también por Longidorus diadecturus (ALLEN et al., 1982).
- Virus de las manchas en anillo del frambueso "**Raspberry Ringspot Virus**" (RRSV), CADMAN (1956), es un virus disperso en los viñedos de Europa, Turquía y URSS, transmitido por Longidorus elongatus y L. macrosoma (MURANT, 1978).

- Virus de los anillos latentes de la fresa "**Strawberry Latent Ringspot Virus**" (SLRV) (LISTER, 1964), presente en el oeste de Europa, habiéndose encontrado una vez en Canadá y, recientemente, en Turquía (SAVINO et al., 1987), sus vectores son X. coxi y X. diversicaudatum (MURANT, 1974).

- Virus de las manchas en anillo del tabaco "**Tobacco Ringspot Virus**" (TobRSV), se encuentra bastante extendido en las regiones de Norteamérica donde existen sus vectores, así como en Australia, Canadá, Holanda, India, Irán, Japón, Nigeria, URSS y Yugoslavia. Se transmite por X. americanum s.l. y, aunque también se citó como vector X. coxi por Van HOFF (1971), TRUDGILL et al. (1983) consideran que debe confirmarse, así como X. rivesi (GONSALVES, 1988). Se sospecha que también puede ser transmitido por artrópodos, Thrips tabaci, Tetranychus spp. Melanoplus spp., Epitrix hirtipennis y algunas especies de áfidos (STACE-SMITH y RAMSDELL, 1987).

- Virus de los anillos negros del tomate "**Tomato Black Ringspot Virus** (TBRV), sólo ha sido citado en Europa, transmitido por L. attenuatus y L. elongatus (MURANT, 1970).

- Virus de las manchas en anillo del tomate "**Tomato Ringspot Virus**" (TRSV) o "**Grape Yellow Vein Virus**" (GYVV), es un virus de regiones templadas de Norteamérica (California) donde abundan sus nematodos vectores X. americanum s.l.; también se ha aislado en Chile, Dinamarca, Holanda, Japón, Nueva Zelanda, Reino Unido, Suecia, URSS y Yugoslavia. Sus principales vectores son X. rivesi y X. californicum (STACE-SMITH y RAMSDELL, 1987). La enfermedad es más severa en climas fríos y es el virus más importante de árboles frutales.

De todos ellos el de mayor repercusión es el GFLV que, al igual que su principal vector X. index, aparece con una distribución paralela al viñedo, en todas las zonas vitícolas del mundo y, a diferencia de otros parásitos y enfermedades criptogámicas, por el momento no está controlado.

I.1.2. VIRUS DE LA DEGENERACION INFECCIOSA O DEL ENTRENUDO CORTO DE LA VID (GFLV).- Es conocido como "Grapevine Fanleaf Virus", "Grapevine arriciamiento Virus", "Grapevine court-none Virus", "Grapevine infentious degeneration Virus", "Grapevine Reisigkrankheit Virus", "Grapevine roncet Virus", "Grapevine urticado Virus", entre otros nombres.

La degeneración infecciosa de la vid constituye el mayor problema en todas las zonas vitícolas del mundo, siendo el virus más antiguo del viñedo. Ya en 1800 se describió su sintomatología en varios países europeos (VUITTENEZ, 1970), por lo que se considera que la enfermedad existe en la cuenca mediterránea desde la implantación de la viticultura (HEWITT, 1968). El virus fué aislado por CADMAN et al. (1960), existiendo descripciones posteriores de DIAS (1963), DIAS y HARRISON (1963), MARTELLI y HEWITT (1963), HEWITT (1970), VUITTENEZ (1963 y 1970), VUITTENEZ et al. (1964), BOVEY (1973), BOVEY et al. (1980), ENGELBRECHT (1980), HUSS et al. (1986), QUAQUARELLI et al. (1976).

HEWITT (1956) ya especulaba sobre la naturaleza de enfermedad edáfica de esta virosis y HEWITT et al. (1958) descubrieron su transmisión por X. index, constituyendo ésta la primera cita de un nematodo como vector de virus; ALFARO y GOHEEN (1974) establecieron que el umbral máximo de adquisición del virus por el nematodo es de 5 minutos.

En principio se pensó que *Vitis* spp. era el único hospedador en condiciones naturales, quizá debido a la presunta especificidad del nematodo vector X. index; sin embargo COIRO et al. (1980) demuestran que tiene otros hospedadores entre ellos diversas plantas cultivadas y malas hierbas; por otro lado, COHN et al. (1970) comprueban la

capacidad de X. italiae para transmitir el virus, aunque MARTELLI (1978) considera que, a pesar de haberse logrado la transmisión experimental mediante este nematodo, en condiciones naturales no es un vector eficaz. El impacto de la enfermedad varía con la tolerancia del cultivo al virus y las condiciones ambientales. En condiciones extremas (suelos poco profundos, climas cálidos y soleados) puede llegar a la muerte de las vides, *sin embargo, en general, las vides afectadas pueden sobrevivir mucho tiempo en condiciones de mayor o menor productividad. La productividad se reduce en cierto grado según el clima y sobre todo en el periodo de floración, pero la media estimada en países europeos para las variedades susceptibles de Vitis vinifera, llega al 50% de reducción del peso, con depreciación comercial de la uva de mesa. Además los plantones e injertos de plantas enfermas tienen un crecimiento débil, reducen la capacidad de enraizamiento y los injertos prenden con dificultad (VUITTENEZ, 1970).*

Los síntomas que se le atribuyen son muy variados, tanto en hoja como en fruto y madera, DIAS, (1970); HEWITT (1970); VUITTENEZ (1970); MARTELLI y SAVINO (1988). Esta variabilidad ha dado lugar a cierta confusión y actualmente se considera que dichos síntomas son más bien resultado de la fisiología de la planta y de determinadas condiciones genéticas y ambientales (WALKER et al., 1985).

De acuerdo con MARTELLI y SAVINO (1988) la enfermedad se caracteriza por tres síntomas distintos, provocados por diferentes reacciones del agente causal:

- **Malformaciones infecciosas:** Hojas distorsionadas, asimétricas, con denticiones agudas. Manchas cloróticas, acompañadas por deformaciones foliares, brotes malformados con ramificaciones anormales. Nudos dobles, entrenudos cortos, fasciaciones y crecimiento en zig-zag. Racimos menores y en menor número de lo normal, maduración irregular,

con uvas pequeñas y racimos pobres. Los síntomas foliares se desarrollan al principio de la primavera y persisten a lo largo de todo el periodo vegetativo, aunque pueden enmascararse en verano.

- **Mosaico amarillo**, desarrollo de decoloraciones, amarillo brillante al principio de la primavera, que pueden afectar a todas las partes vegetativas de la cepa (hojas, ramas, pámpanos e inflorescencias). Las alteraciones cromáticas de las hojas varían desde unas pocas manchas salteadas, a anillos o líneas o un extenso moteado de las venas y/o áreas intervenales, a un amarillo total. En primavera, las partes afectadas se distinguen fácilmente a distancia. El follaje y las ramas muestran pocas o ninguna malformación, pero los racimos son pequeños con uvas que no maduran y de coloración débil, en las variedades tintas. En climas cálidos, la vegetación en verano resume su color verde normal y el amarillo se torna blanquecino y tiende a desaparecer.

- **Bandeado de venas** (GOHEEN y HEWITT, 1962). Amarillo en las venas principales de las hojas maduras que después se extiende a las áreas intervenales. Esta decoloración desaparece a mediados o final del verano, generalmente en un número limitado de hojas. Las hojas descoloridas muestran una ligera malformación. Racimos pobres y la producción puede ser virtualmente cero.

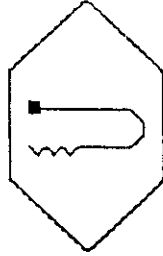
La aparición de trabéculas o cordones endocelulares se consideraron características sintomatológicas internas de las vides afectadas por degeneración infecciosa de las células. Son barras radiales que cruzan el lumen del parénquima epidérmico, floema y xilema. Se forma un núcleo rodeado de una capa de celulosa incrustada con lignina, suberina o cutina, dependiendo del tejido donde se forme. Estas estructuras se utilizaron en el diagnóstico de la enfermedad, pero se ha comprobado que son más abundantes en unas variedades de vid que en otras, lo que limita su aplicación en diagnóstico.

1.1.2.1. Características generales.- El virus de la degeneración infecciosa (GFLV) es un nepovirus formado por partículas isométricas de unos 30 nm de diámetro con un contorno angular y poca resolución de superficie de estructura. Al purificar el virus y someterlo a una centrifugación diferencial en gradiente de sacarosa, se separan tres bandas correspondientes a tres tipos de partículas denominadas, en función de su coeficiente de sedimentación: **T** (Top, banda superior), **M** (Middle, banda media y **B** (Botton, fondo), de 53, 93 y 126 S respectivamente. Examinados extractos brutos de savia o virus purificado, por microscopía electrónica se aprecian claramente dos tipos de partículas, unas con RNA en su interior, correspondientes a las bandas **B** y **M** y, otras vacías pertenecientes a la **T**.

Los aislados de GFLV son antigénicamente uniformes frente anticuerpos policlonales, incluso los de áreas geográficamente distantes. HUSS et al. (1986), fueron capaces de reconocer diferentes aislados del virus, utilizando anticuerpos monoclonales. Todos estos aislados son serológicamente distintos del "Arabis Mosaic Virus" (ArMV). La diagnosis serológica puede hacerse por tests convencionales como ELISA, Inmuno-electromicroscopía, etc.

Acidos nucleicos. Son virus RNA de sentido positivo que presentan dos tipos distintos de RNA (RNA<sub>1</sub> y RNA<sub>2</sub>) que encapsidan en partículas diferentes. Puede haber un tercer tipo de RNA, un RNA satélite (RNA<sub>3</sub>) de pequeño tamaño, 1150 nucleótidos y que encapsida conjuntamente con los otros RNAs (PINCK et al. 1988), pero sin homología de secuencia con éstos. Las estirpes de virus que llevan este tercer tipo de RNA satélite (F13) se diferencian de las que no lo llevan en que al ser inoculadas a Ch.quinoa producen síntomas severos (Fig.1).

## TRES SUBGRUPOS DE NEPOVIRUS



Componente M (RNA 2)

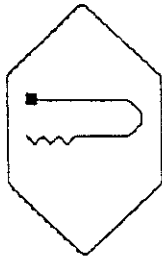
### SUBGRUPO I

TobRV (Miembro tipo)

- Dos tipos de componente B
- Tamaño del RNA 1: 7-8 Kb
- Tamaño del RNA 2: ≈ 3 Kb



Componente B (RNA 2) Componente B (RNA 1)



Componente M (RNA 2) Componente B (RNA 1)

### SUBGRUPO II

IBRV (Miembro tipo)

- Componente B único
- Tamaño del RNA 1: 7-8 Kb
- Tamaño del RNA 2: ≈ 4 Kb



Componente M (RNA 2) Componente B (RNA 1)

### SUBGRUPO III

CLRV (Miembro tipo)

- Componente B único
- Tamaño del RNA 1: 7-8 Kb
- Tamaño del RNA 2: ≈ 7 Kb

Figura 1. Los nepovirus se pueden dividir en tres subgrupos en función del tamaño del RNA 2 y del tipo de componente B.



Representa el extremo 3' poliadenilado.

Representa el extremo 5' con la Vpg unida covalentemente.

En función del tamaño del RNA<sub>2</sub> se han establecido subgrupos dentro de los Nepovirus. El virus GFLV pertenece a los de RNA<sub>2</sub> pequeño, de peso molecular  $1,4 \times 10^6$  daltons que encapsidan en partículas M, mientras que el RNA<sub>1</sub> de peso molecular  $2,4 \times 10^6$  encapsida en partículas B. Puede haber dos tipos de partículas B, no distinguibles ni por microscopía electrónica y difícilmente en gradiente por tener en gradiente por tener coeficientes de sedimentación muy próximos, unas con RNA<sub>1</sub> en su interior y otras con dos moléculas de RNA<sub>2</sub>. Se pueden encontrar también variaciones en los coeficientes de sedimentación dependiendo de la existencia o no de RNA<sub>3</sub>.

Los dos RNAs en el extremo 3' están poliadenilados, en el extremo 5' se encuentra unida covalentemente una proteína pequeña denominada VPg (MAYO *et al.*, 1979 y MAYO 1982), con función desconocida, pero que pudiera estar relacionada con fenómenos de infectividad del virus (CHU *et al.*, 1981; HELLEN *et al.*, 1987). El RNA<sub>2</sub> lleva la información genética para la síntesis de la proteína de la cápsida, mientras que la capacidad de infección puede radicar en la información cifrada en el RNA<sub>1</sub>.

Mediante tinción negativa, sombreado con metales pesados y rotación, CHAMBERS *et al.* (1965) indican que la cápsida de viriones de TRSV está formada por 42 capsómeros con simetría 5:3:2. Por geles de poliacrilamida se determina que la cápsida de todos los nepovirus está formada por una única poliproteína de peso molecular entre  $5,4$  y  $6 \times 10^4$  daltons y que la cápsida de los nepovirus está formada por 60 unidades de esta única poliproteína, dispuestas según un número de triangulación  $T = 1$  (MAYO *et al.*, 1971; TAKEMOTO *et al.*, 1985 y ROBERTS, 1988), mientras que CHU y FRANCKI (1979) manifiestan que para ToBRV, esta proteína de  $5,5 \times 10^4$  daltons, forma tetrámeros de peso molecular  $13 \times 10^6$  daltons de los que entrarían 240 unidades a formar cada partícula con un número de triangulación  $T = 4$ .

Ultraestructura.- Las modificaciones ultraestructurales de células infectadas con GFLV en hospedadores naturales o experimentales son las típicas debidas a NEPOVIRUS, inclusiones citoplásmicas, vacuolas vesiculares, paredes celulares gruesas, virus con tubulos y agregados paracristalinos de partículas de virus.

Secciones ultrafinas de plantas herbáceas infectadas con GFLV, muestran como características comunes la asociación de partículas de virus a plasmodesmos (PEÑA-IGLESIAS y RUBIO HUERTOS, 1971), la formación de filas de partículas en el citoplasma, sin túbulos, la acumulación de vesículas, estructuras membranosas, aparatos de Golgi, la acumulación de partículas dentro de membranas (GEROLA et al., 1969, SARIC y WRISCHER, 1975), la formación de viriones alineados dentro de membranas formando túbulos (ROBERTS y HARRISON, 1970, PEÑA-IGLESIAS y RUBIO HUERTOS, 1971 y FRESNO et al., 1976), la formación de estructuras cristalinas en el nucleo compuestas por partículas vacías (PEÑA-IGLESIAS y RUBIO HUERTOS, 1971; PEÑA-IGLESIAS et al., 1978, FRESNO et al., 1978 y RUSSO, 1985); estructuras de difícil comprensión hasta el momento, en cuanto a su posición en el núcleo, ya que está descrito que la cápsida de este virus se forma en el citoplasma en los ribosomas dentro de complejos multivesiculares (REZAIAN et al., 1974 y 1976). HONDA et al. (1972 y 1974) consigue eliminar ribosomas en los que las partículas del virus del mosaico del pepino (CMV) se destacan. Este virus tiene la capacidad de invadir con rapidez todos los tejidos de la planta, incluidos los meristemos (WALKER y WEBB, 1970; JONES et al., 1973).

I.1.2.2. Mecanismos de transmisión.- Se transmite fácilmente por inoculación de savia a planta herbácea. No se ha comprobado su transmisión a través de semilla de vid, a pesar de que el virus se ha encontrado en gran concentración en el endospermo de la misma sin infectar el embrión. Sin embargo se transmite experimentalmente por semilla en algunos hospedadores herbáceos (Ch. quinoa y Ch. amaranticolor) (HEWITT et al. 1970).

Aunque, en condiciones normales, el número de hospedadores es limitado, experimentalmente tiene un rango de hospedadores que comprende unas 30 familias botánicas. Chenopodium amaranticolor Costa et Reyn, Ch. quinoa Willd., Gomphrena globosa L. y Cucumis sativus L. son especies útiles para su diagnóstico, así como Vitis rupestris "St. George" inoculada mediante injerto.

El GFLV, de acuerdo con su naturaleza de Nepovirus, se transmite de vid a vid por nematodos longidóridos X.index Thorne et Allen y X. italiae Meyl (HEWITT et al., 1958; COHN et al., 1970). Basta que el nematodo se alimente una sola vez en una planta infectada y por un periodo de 5 minutos (ALFARO y GOHEEN, 1974) para adquirir el virus. X. index lo retiene durante más de 8 meses en ausencia de planta huésped o hasta 3 meses si el Nepovirus se alimenta en plantas hospedadoras inmunes al virus. El virus se retiene en la capa cuticular del lumen del esófago del vector. Tanto los adultos como los estados larvarios transmiten el virus experimentalmente, en la naturaleza X. index parece ser su vector más eficaz. Debido al movimiento limitado del vector la dispersión del GFLV en condiciones naturales es lenta (1,3-1,5 m/año), los vectores no son agentes de dispersión eficaces; la propagación a grandes distancias se realiza a través del material vegetal. A pesar de su existencia en Europa, en zonas muy concretas, desde los comienzos de la viticultura, su diseminación comenzó a finales del siglo XIX con la introducción de la vid americana para el control de la filoxera; al no

transmitirse por semillas de vid su principal reservorio en la naturaleza es la vid misma, debido a que las raíces permanecen en el suelo muchos años después de quitar la cepa madre infectada, pueden constituir la fuente de inóculo para los vectores en el intervalo entre que se levanta un viñedo y se implanta el siguiente, por lo que los procesos tradicionales de arranque e implante, si no se realizan correctamente, no son efectivos.

El virus se ha encontrado en el endospermo de semillas de vid infectada, pero no en el embrión y en el polen de vid y plantas herbáceas (CORY y HEWITT, 1968) cuyas semillas son capaces de transmitirlo. Estas plantas herbáceas, Chenopodium amaranticolor, Ch. quinoa, Cucumis sativa, Gomphrena globosa y Phaseolus vulgaris, pueden ser reservorios del virus en la naturaleza y se vienen utilizando conjuntamente con especies sensibles de Vitis (V. rupestris var. St. George) como plantas indicadoras para la detección del virus y como fuentes para la purificación del mismo.

Aunque no existen métodos de control contra los virus, en los últimos años, las técnicas de diagnóstico han sido de gran ayuda en la selección del material de propagación vegetativa exento de virus, siendo sin duda la técnica ELISA (CLARK y ADAMS, 1977) la que en mayor grado ha contribuido al conocimiento de la incidencia y niveles de infección en estudios epidemiológicos y de la relación virus-vector.

1.1.2.3. Técnicas de diagnóstico del GFLV.- Se ha venido realizando mediante la *inoculación en las plantas hospedadoras sensibles anteriormente citadas, que dan una respuesta rápida con sintomatología clara y bien conocida. La inoculación puede realizarse mediante nematodos vectores, por injerto (VUITTENEZ, 1957 y 1965; TAYLOR et al., 1969; CONVERSE, 1979; BOVEY, 1980; JIMENEZ y GOHEEN, 1980) ó por inoculación mecánica de la savia ( HEWITT y CORY, 1965; VUITTENEZ, 1965).*

Sin embargo, las infecciones cruzadas pueden inducir a error y en programas de indexaje y mejora se precisa de métodos más sensibles, seguros y rápidos, como son las técnicas serológicas, que han adquirido un papel clave en el diagnóstico de virus en tejidos vegetales. De todos ellos la técnica ELISA (Enzyme-Linked-Immunoabsorbent Assay) es la más importante y se utilizó por primera vez en la detección de virus vegetales por VOLLER et al. (1976) para el "Plum Pox Virus" (PBV) y casi desde esta fecha se viene aplicando a la detección de GFLV en vid (GONSALVES, 1979; RAMSDELL et al., 1979; BOVEY et al., 1980; CLARK, 1981; ENGLEBRECHT, 1980; JIMENEZ y GOHEEN, 1980; SHANMUGANATHAN Y FLETCHER, 1982; TANNE, 1980 y VUITTENEZ, 1980).

Este método muestra una serie de ventajas sobre las técnicas convencionales, es cómoda, rápida, de gran sensibilidad y permite su aplicación en la detección de virus en mezclas de muestras sanas y enfermas en las que los porcentajes de infestación son pequeños (LISTER, 1978; NOLASCO, 1982). La potencialidad de esta técnica permite su aplicación en estudios epidemiológicos y en el certificado de material vegetal de propagación, como complemento y confirmación de la selección visual (VOLLER et al., 1976; CLARK y ADAMS, 1977; LISTER, 1978; BARBARA et al., 1978; BOVEY, 1980; NOLASCO, 1982; RUDEL et al., 1983; WALTER et al., 1983), así como la detección del virus en el nematodo (BOUQUET, 1983).

Al ser una técnica serológica con especificidad en reacciones antígeno (virus) - anticuerpo, a veces dificulta los ensayos de diagnóstico por lo que para diferentes estirpes de un mismo virus, a veces se requieren sueros distintos. Para evitar tal inconveniente, VAN REGENMOSTEL et al. (1980) y CLARK (1981), recomiendan el ELISA indirecto que requiere la obtención de sueros de distintos animales. ROWHANI (en prensa) aplica una modificación del  $F(ab')_2$  ELISA (BARBARA y CLARK, 1982) que

es, a su vez, una modificación del ELISA indirecto, a la detección de GFLV y CLRV, encontrando que este método muestra una mayor sensibilidad para la detección de GFLV. Asimismo, y debido a la naturaleza ácida de los tejidos de la vid, ensaya diferentes tampones de extracción y concluye que para GFLV, la absorbancia aumenta cuando se consigue en un pH 7.0 - 7.5, mientras que para CLRV no se aprecian diferencias. MENDOÇA et al.(1980) utilizan igualmente nicotina para visualizar partículas de virus directamente. Según BOVEY et al. (1980), NOLASCO (1982) y RUDEL et al. (1983) la facilidad de detección del virus depende de la época del año, siendo más sensible en Junio y menos en Diciembre y Marzo.

ROWHANI et al. (en prensa) encuentran diferencias en los valores de la absorbancia con  $F(ab')_2$  entre los distintos tejidos de la planta a lo largo del año; los brotes apicales pasan de máximos en mayo a mínimos en septiembre, las hojas maduras solo dieron valores altos en mayo que decrecieron rápidamente manteniéndose en valores bajos el resto de la estación, en madera triturada las lecturas fueron moderadas a lo largo de la estación y en sarmientos valores altos.

GOLINO et al.(en prensa), hallan diferencias en la severidad de la sintomatología de vides afectadas por GFLV de una misma viña y en las mismas vides en distintos años; aunque en algunas cepas hay predominio de uno u otro síntoma, en la mayoría de los viñedos pueden observarse los tres tipos de síntomas descritos para el virus. También encuentran diferencias en la titulación en las mismas cepas de un año a otro, por lo que consideran que es preciso establecer niveles de confianza para trabajos de rutina. Por último, FUCHS et al. 1991 utilizan sondas radiactivas para detectar el virus con gran sensibilidad.

## I.2. NEMATODOS ASOCIADOS A LA VID.

Los nematodos fitoparásitos ocasionan alteraciones en las plantas por acción directa sobre las mismas en el desarrollo de sus actividades tróficas y, sobre todo, como vectores de virus. Todas las especies asociadas al viñedo son de origen edáfico y se alimentan de sus raíces; el daño que producen es, en muchos casos, de muy difícil evaluación debido, por un lado, a su asociación con otros microorganismos patógenos de origen edáfico y, por otro, porque los síntomas que provocan son en general inespecíficos.

En una revisión de los nematodos asociados a la vid, TACCONI y MANCINI (1987) encuentran referencias de 89 especies, pertenecientes a 35 géneros, de hábitos tanto saprofitos y depredadores como fitoparásitos; de estos últimos, los que pueden afectar al viñedo son los **endoparásitos sedentarios** del género Meloidogyne: M. arenaria (Neal) Chitwood, M. incognita (Kofoid et White) Chitwood, M. javanica (Treub) Chitwood y M. thamesi (Chitw.) Goodey; **endoparásitos migratorios**: Pratylenchus penetrans; **semiendoparásitos**: Rotylenchulus macrodorus Dasgupta, Raski et Sher y Tylenchulus semipenetrans Cobb, que es un problema grave para los viñedos de Australia; **ectoparásitos sedentarios**: Macropostonia xenoplax (Raski) De Grisse et Loof que produce clorosis y otras alteraciones a viñedos de California y, de menor importancia, Gracilacus peratica Raski y algunas especies de Paratylenchus; los **ectoparásitos migratorios** de los géneros Helicotylenchus, Rotylenchus y Tylenchorhynchus s.l. aparecen frecuentemente asociados al cultivo, pero se sabe poco de su posible patogenicidad; los de mayor repercusión en el viñedo son los **ectoparásitos migratorios** vectores de virus de la familia Longidoridae.

I.2.1. NEMATODOS ECTOPARASITOS Y TRANSMISORES DE VIRUS.-La comprobación por HEWITT et al. (1958) de la transmisión del GFLV de la vid por X. index fué la primera prueba experimental del papel de los nematodos como vectores de virus vegetales; desde entonces se intensificaron las investigaciones en este sentido y hoy se conocen otras especies transmisoras de virus, que pertenecen a dos familias distintas, Trichodoridae y Longidoridae y que transmiten grupos de virus distintos, Tobravirus y Nepovirus, respectivamente, este último grupo tiene interés para el viñedo.

I.2.1.1. Sistematica y taxonomia de la familia Longidoridae.- Como antes se indicó, los nematodos transmisores de virus vegetales se sitúan dentro del Orden Dorylaimida de la Clase Nematoda, se encuentran incluidos en dos familias distintas Trichodoridae que engloba especies transmisoras de Tobravirus, y Longidoridae, algunas de cuyas especies son vectores de Nepovirus, que estudiamos en detalle.

De los nueve géneros descritos dentro de la familia Longidoridae (Xiphinema Cobb; Longidorus Micoletzky; Paralongidorus Siddiqi, Hopper et Khan; Xiphidorus Monteiro; Longidorus Khan, Chawla et Saha; Siddiqia Khan, Chawla et Saha; Brevinema Stegarescu; Inagrei Khan y Neolongidorus(Khan), COOMANS (1984/85) excluye tres de ellos Brevinema, Inagrei y Siddiqia por considerar que las características que los distinguen de los otros son insuficientes para establecer un nuevo género, de igual modo los caracteres que diferencian Neolongidorus de Longidorus no tienen suficiente base para mantener un género separado.

De acuerdo con estas consideraciones, dentro de la familia se distinguen cinco géneros atendiendo a la forma y aperturas anfidiales, naturaleza del odontostilo, posición y naturaleza del anillo guía del estilete y tamaño y posición relativa de los núcleos de las glándulas esofágicas subventrales. COOMANS (1984/85) propone, en base a las consideraciones filogenéticas, la siguiente clasificación:

Familia Longidoridae

Subfamilia Xiphinematinae

Género: Xiphinema

Subfamilia Longidoridae

Tribu Xiphidorini

Género Xiphidorus

Tribu Longidorini

Géneros: Paralongidorus

Longidoroides

Longidorus

---

I.2.1.2. Características morfológicas.- La morfología de los Longidóridos es básicamente dorilaimida (Fig. 2), son largos (de 2 a más de 14 mm de longitud), delgados con un estilete (odontostilo) axial hueco con una extensión (odontóforo), el esófago es cilíndrico con una parte anterior delgada y un bulbo posterior musculoso, formado por una glándula dorsal y dos subventrales, con el orificio de la dorsal en la parte anterior y el de las subventrales en la parte media del bulbo. En la unión esófago-intestino existe una válvula esofageo-intestinal (cardias). Los longidóridos se distinguen de otros doriláimidos por su estilete largo, la naturaleza del anillo guía del odontostilo y el cuerpo largo y delgado. La cutícula parece lisa pero, a grandes aumentos se distinguen en su capa interna, sobre todo en los engrosamientos de la región cervical y caudal estrías muy finas que le dan apariencia radial a la cola. A lo largo de todo el cuerpo pueden distinguirse los cordones hipodérmicos más estrechos en la región esofágica y más anchos en la anal.

Las aperturas anfidiales son laterales, sublabiales; pueden ser alargadas como un corte o como un poro. Los sacos anfidiales pueden ser en forma de estribo o saciformes lobulados o no, con lóbulos simétricos o asimétricos.

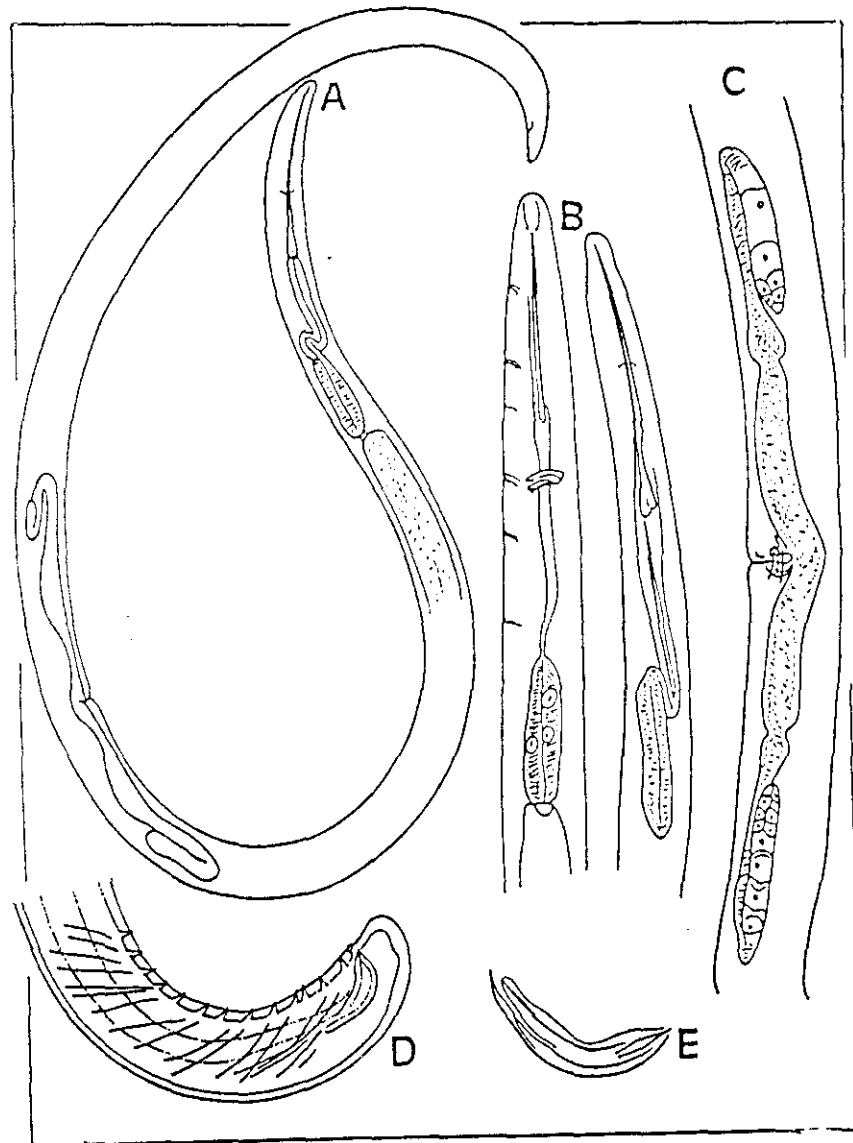


Fig. 2.- Morfología general de los Longidóridos:  
 A = Aspecto de la hembra; B = regiones  
 esofágicas del adulto y el primer estado  
 juvenil; C = sistema reproductivo; D =  
 cola del macho; E = Espícula

CUADRO I.- CARACTERES UTILIZADOS PARA DISTINGUIR LOS GENEROS DE LA FAMILIA Longidoridae

	<u>Longidorus</u>	<u>Longidoroides</u>	<u>Paralongidorus</u>	<u>Xiphidorus</u>	<u>Xiphinema</u>
		sin. <u>Inagreiis</u>	sin. <u>Siddigia</u>		
- Anillo guía tubular, en el tercio posterior.	-	-	-	+	+
- Idem anular en el tercio inferior.	+	+	+	-	-
- Base del odontostilo no bifurcada	+	+	+	-	-
- Idem bifurcada	-	-	-	+	+
- Odontóforo sin extensiones	+	+	+	-	-
- Idem con extensiones	-	-	-	+	+
- Apertura del anfidio puntiforme	+	-	-	+	-
- Idem alargado	-	+	+	+	+
- Anfidio en forma de embudo	-	-	+	-	+
- Nucleo de la glándula esofágica dorsal distante de su apertura.	+	+	+	+	-

Las hembras presentan la vulva como un corte transversal, generalmente en la parte media del cuerpo. Las ramas genitales son relativamente cortas, dobles, opuestas y con el ovario retroflejo. El macho presenta una región caudal similar a la hembra; tienen espículas curvas con piezas accesorias laterales, un par adanal y una serie de papilas submedianas. Los testículos son dobles y opuestos.

Su ciclo biológico tiene cuatro estadios juveniles, que se distinguen fácilmente de los adultos por poseer dos odontostilos, uno funcional que pierden con la muda y el de repuesto que pasa a funcional después de dicha muda. El primero de los cuales (L1) emerge del huevo y en algunas especies tiene una forma característica de la región caudal que la distingue de los otros estadios y puede tener valor taxonómico, también se distinguen de los otros estadios juveniles porque la parte anterior del odontostilo de repuesto se encuentra incluida en la pared del odontóforo del estilete funcional, los otros estados juveniles (J2, J3 y J4) tienen el odontostilo de repuesto en la pared de la parte anterior del esófago. Por lo demás, la morfología de los estados juveniles es básicamente similar a los adultos, por lo que no puede hablarse propiamente de estados larvarios.

La taxonomía para la determinación de los distintos géneros se basa en la forma de anfidios y aperturas anfidiales, base del odontostilo, naturaleza del odontóforo, posición y naturaleza del anillo guía del estilete y tamaño y posición relativa de los núcleos de las glándulas esofágicas. Puede decirse que los géneros fundamentales son Longidorus y Xiphinema, los restantes parecen ser intermedios y participan de las características de uno y otro (Fig. 3).

Xiphinema presenta anfidios en forma de embudo o estribo invertido, con apertura anfidial en forma de corte, el anillo guía del estilete se encuentra siempre en el tercio posterior del odontostilo y es doble; el odontostilo en su unión con el odontóforo presenta la base bifurcada o dentada; el odontóforo presenta esclerotizaciones basales; el núcleo de la glándula esofágica

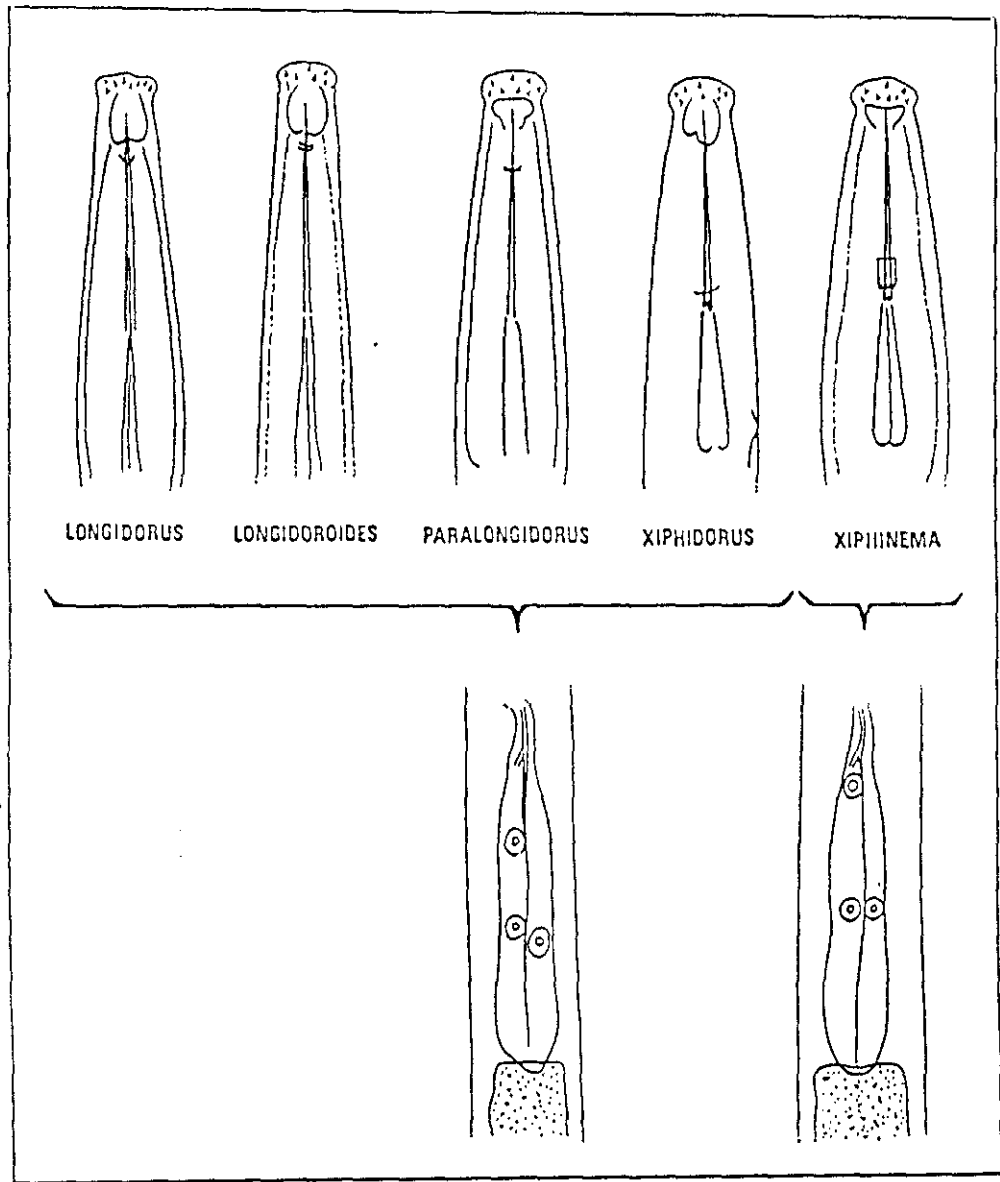


Fig. 3.- Características morfológicas para diferenciar los géneros de la familia Longidoridae

dorsal es grande y se encuentra situado muy próximo a la apertura de dicha glándula, los núcleos de las glándulas subventrales son menores y se encuentran situados en la parte media del bulbo esofágico. El útero puede ser desde corto y simple hasta largo con varias porciones bien diferenciadas.

Por el contrario Longidorus se caracteriza por tener anfidios saciformes, bifurcados o no, con lóbulos simétricos o asimétricos, con la apertura anfidial difícil de distinguir, como un poro; la base del odontostilo siempre lisa; el odontóforo con su parte basal ligeramente engrosada, pero sin esclerotizaciones basales, el anillo guía situado en posición anterior, generalmente en el tercio anterior del odontostilo, a veces en el segundo tercio, al 40% de su longitud. El núcleo de la glándula esofágica dorsal es pequeño y se encuentra alejado del orificio de la misma; los núcleos de las glándulas subventrales son mayores que el de la dorsal. El sistema reproductor de la hembra es siempre anfidélfico-didélfico con el útero uniforme.

Paralongidorus y Longidoroides comparten las características de Longidorus excepto en la forma y apertura anfidiales que son en forma de embudo y como un corte, respectivamente, en Paralongidorus y solo en la apertura anfidial alargada, en Longidoroides.

Xiphidorus es más próximo a Xiphinema del que se distingue por la forma de los sacos anfidiales y el tamaño y posición de los núcleos de las glándulas esofágicas subventrales (Cuadro I).

1.2.2. NEMATODOS DE LA FAMILIA Longidoridae ASOCIADOS AL VIÑEDO. Se han citado asociados al viñedo dos especies de Paralongidorus: P. epimikis Dalmasso y P. maximus (Butschli); 24 de Longidorus: L. africanus Merry, L. attenuatus Hooper, L. auratus Jacobs et Heyns, L. belloi Andrés et Arias, L. coespitcola Hooper, L. closelongatus Stoyanov, L. diadecturus Eveleigh et Allen, L. elongatus (De Man Thorne et Swanger, L. eridanicus Roca,

Lamberti et Agostinelli, L. enonymus Mali et Hooper, L. goodeyi Hooper, L. iranicus Sturhan et Barooli, L. juvenilis Dalmasso, L. kakamus Jacobs et Heyns, L. laevicapitatus Williams, L. macrosoma Hooper, L. martini Herny, L. micrus Khan, Chawle et Seshadri, L. protae Lamberti et Bleve-Zacheo, L. rotundicaudatus Jacobs et Heyns, L. sylphus Thorne, L. taniwha Clarke, L. tardicauda Merzhevskaya y L. vineacola Sturhan et Weischer) y 31 especies de Xiphinema: X. algeriense Luc et Kostadinov, X. americanum Cobb, X. arenarium Luc et Dalmasso, X. barbercheckae Coomans et Heyns, X. basilgoodeyi Coomans, X. bolandium Coomans et Heyns, X. brevicolle Lordello et Da Costa, X. bulgariensis Stoyanov, X. capense Heyns, X. clavatum Coomans et Heyns, X. diversicaudatum (Micoletzki) Thorne, X. elongatus Schuurman Stekhoven et Teunissen, X. hybradiensis Quaraishi et Das, X. index Thorne et Allen, X. ingens Luc et Dalmasso, X. insigne Loos, X. italiae Meyl, X. kosaigudensis Quaraishi et Das, X. lafoense Roca, Pereira et Lamberti, X. meridianum Heyns, X. monohysterum Brown, X. neovuittenezi Dalmasso, X. opisthysterum Siddiqi, X. pachtaicum Tulaganov, X. pacificum Ebsary, Vrain et Graham, X. pini Heyns, X. rivesi Dalmasso, X. rotundicaudatum Schuurman, Stekhoven et Teunissen, X. sabelense Dalmasso, X. turcicum Luc et Dalmasso, y X. vuittenezi Luc, Lima Weischer et Flegg); de todas ellas solamente L. attenuatus, L. coespiticola, L. elongatus, L. goodeyi, L. macrosoma, Paralongidorus maximus, X. americanum, X. coxi, X. diversicaudatum, X. index, X. italiae, X. rivesi y X. vuittenezi han sido comprobados como transmisores de virus. Su distribución en Europa la recogen ALPHEY y TAYLOR (1986).

X. americanum Cobb se ha citado como vector del "Tobacco Ringspot Virus" (TRSV) (FULTON, 1962), "Tomato Ringspot Virus" (Tom RSV) (TELIZ et al., 1966), del "Peach Rossette Mosaic Virus" (PRMV) (KLOS et al., 1967) y "Cherry Rasp leaf Virus" (CRLV) (NYLAND et al., 1969). Según LIMA (1965 y 1968) X. americanum sensu lato es un complejo de especies morfológicamente muy próximas, que, para TARJAN (1969) son poblaciones de distintas áreas geográficas. LAMBERTI y BLEVE-ZACHEO (1979) distinguen 25 especies distintas dentro del

complejo y consideran que X. americanum sensu stricto tiene una distribución geográfica limitada en el este de USA. Sin embargo GRIESBACH y MAGGENTI (1990) consideran que la especie existe también en California. Se considera que no existe en Europa y las citas en este Continente se refieren a X. pachtaicum, X. rivesi y X. brevicolle.

X. pachtaicum (Tuloganov) Kirjanova, conocida anteriormente como X. americanum Cobb y como X. mediterraneum Martelli et Lamberti es una especie de amplia distribución en la cuenca mediterránea (Alphey y Taylor, 1986) frecuentemente asociada al viñedo (LAMBERTI y SIDDIQI, 1977; ARIAS et al., 1986). Se ha citado como posible vector del virus del entrenudo corto infeccioso de la vid (GFLV) (ALFARO GARCIA, 1971) y "Stem Pitting" del melocotonero (GIUNCHEDI y TACCONI, 1974), pero no ha sido comprobada experimentalmente como vector de ningún virus.

Otra especie del grupo X. americanum s.l. presente en Europa es X. rivesi Dalmasso, está ampliamente distribuida en USA y Canadá (GEORGI, 1988; GRIESBACH y MAGGENTI, 1990; EBSARY et al., 1984) y se le considera la principal responsable de la transmisión del TRSV (FORER, POWELL y HILL, 1981; FORER y STOUFFER, 1982). En Francia se encuentra en viñedo del Bourdelais y en España en la Región Central y zona costera mediterránea asociada a diferentes cultivos, especialmente vid y rosál al que parasita (ARIAS et al., 1991).

X. brevicolle Lordello et Da Costa, también del grupo X. americanum s.l. se ha citado como vector de Tom RSV (FRIZTSCHKE y KEGLER, 1968), pero se considera dudoso (TRUDGILL et al., 1983) al no haberse realizado las pruebas experimentales de transmisión de acuerdo con las posibilidades establecidas por estos autores. Se encuentra con escasa frecuencia en Europa Central, España y Yugoslavia (ALPHEY y TAYLOR, 1986).

I.2.2.1. Xiphinema index.- La especie de mayor importancia para el cultivo es sin duda, por el momento, X. index Thorne et Allen debido a que su distribución coincide con la del viñedo, que es su principal hospedador junto a la higuera, y por transmitir el virus del entrenudo corto infeccioso de la vid "Grapevine Fanleaf" (GFLV).

*Morfológicamente se caracteriza (Fig. 4) por presentar el cuerpo alargado cilíndrico, de unos 3 mm de longitud, formando una espiral abierta con mayor curvatura en la mitad posterior; la cutícula es gruesa con estrias finas superficiales, mostrando una serie de poros todo a lo largo del cuerpo. La región labial es hemisférica, casi continua con el contorno del cuerpo, pero mostrando una ligera depresión bajo las aperturas anfidiales. Los anfidios en forma de estribo con aperturas como cortes casi del tamaño de la anchura labial. El estilete, típico del género, con un odontóstilo hueco de 126  $\mu\text{m}$  de longitud, bifurcado en el punto de unión con el odontóforo con unas 70  $\mu\text{m}$  de longitud y mostrando tres extensiones basales. El anillo guía del estilete se encuentra a 108 (100-114)  $\mu\text{m}$  del extremo anterior. El anillo nervioso se encuentra por debajo de la base del odontóforo. La parte posterior del esófago es cilíndrica, musculosa, 2,5 veces más larga que su anchura en la base. La vulva es como un corte transversal aproximadamente en la parte media del cuerpo; generalmente se localiza al 38-40 % de la longitud del cuerpo. Las gónadas son didélficas, retroflexas en el oviducto y no presentan organo "Z". Los ovarios son alargados, simétricos con varios oocitos en fila excepto en la región de multiplicación. La región caudal es mamiforme, con una longitud de 1 a 1,3 veces su anchura al nivel del ano, convexo-cónica con mayor curvatura en su parte dorsal y un mucrón en la parte ventral de 9 a 13  $\mu\text{m}$  de longitud, aunque a veces aparecen hembras amucronadas. Los machos son muy escasos, no son esenciales para la reproducción, de morfología similar a la de la hembra excepto por la presencia de espículas y testículos, dos, uno recto y otro retroflexo, además en la parte ventromediana de la región caudal muestra un par de suplementos anteriores a la cloaca y una serie de cinco papilas.*

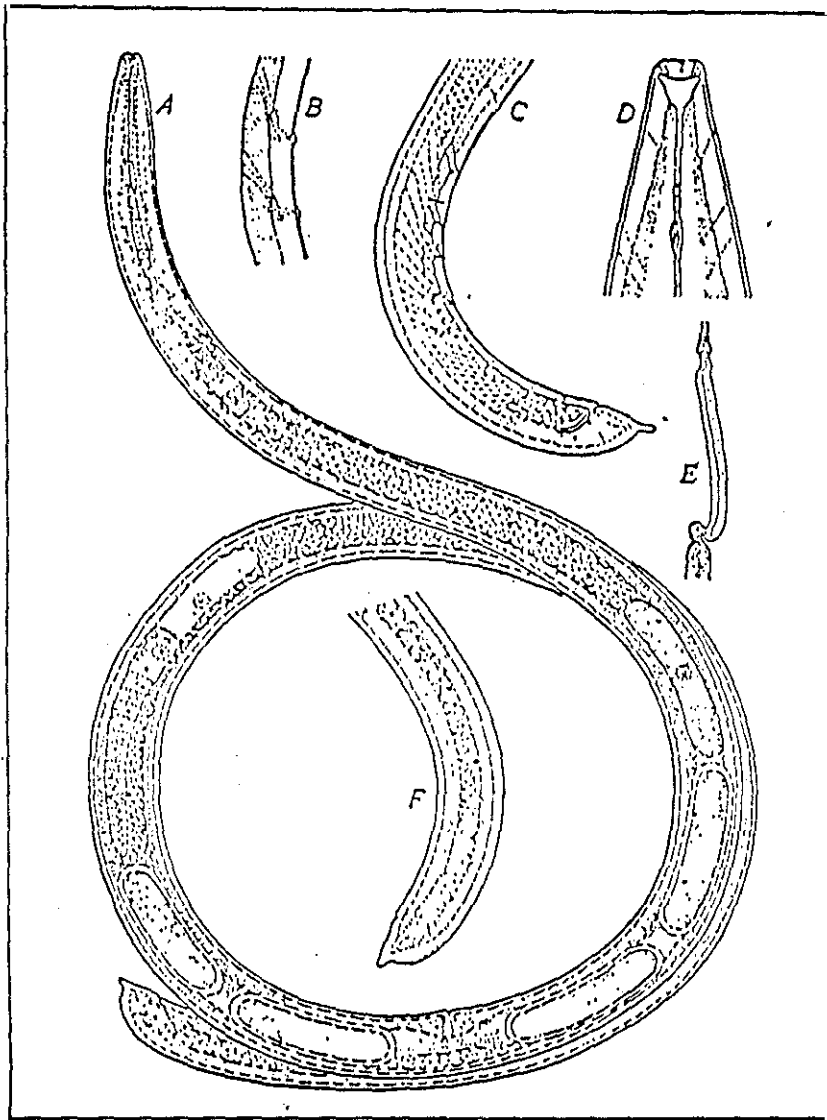


Fig. 4.- Morfología general de *X. index*: A = Aspecto general del cuerpo; B = Detalle de los poros cuticulares; C = Región caudal del macho; D = Región labial mostrando la forma del anfidio; E = Detalle del estilete del juvenil de primer estadio (J 1) (según Thorne et Allen, 1950)

Diversos trabajos de campo y laboratorio (RADEWALD y RAS KI, 1962; AMICI, 1967; COHN y MORDECHAI, 1969, 1970; PROTA et al., 1973, 1977; WEISCHER, 1973; COIRO y LAMBERTI, 1978; HARRIS, 1979; PINOCHET et al., 1986; ALLEN et al., 1988 y SCOTTO LA MASSESE et al., 1988) demuestran la influencia que tienen los factores ambientales (temperatura, humedad y textura del suelo, principalmente) en el desarrollo de X. index de manera que la duración de su ciclo de vida puede variar entre 2 a 14 meses dependiendo principalmente de la temperatura y el desarrollo estacional de la planta huésped; parece ser que en campo X. americanum s.l. y X. diversicaudatum se desarrollan con mayor rapidez que X. index que, en zonas templadas, parece tener una sola generación al año, con un ciclo que se completa en 2-3 meses y adultos que sobreviven en el suelo varios años; de cualquier modo en estudios de campo es difícil determinar la duración del ciclo puesto que, como en la mayor parte de las especies de Xiphinema, pueden encontrarse a lo largo del año tanto los adultos como todos los estados juveniles (FLEGG, 1966, 1968; REUDEL, 1971; HARRIS, 1979). Las diferencias fisiológicas existentes entre poblaciones de X. index de distintas áreas, unidas a las diferencias morfológicas e histoquímicas entre poblaciones virulíferas y libres de virus, observadas por ROGGEN (1966), explicará las diferencias en la capacidad de transmisión de distintos aislados de GFLV por poblaciones de distintas áreas geográficas que encuentran CATALANO et al. (1989) de manera similar a lo observado por BROWN y TAYLOR (1981) en la transmisión de distintos aislados de SRLV por poblaciones de X. diversicaudatum de distintas procedencias. Por otro lado, DAS y RAS KI (1968) comprueban que la presencia del virus aumenta la supervivencia del nematodo en ausencia de alimento y RAS KI et al. (1965) que en suelo estéril no perdura más de 9-10 meses, pero en suelos de viñedo con restos de raíces sobrevive más de 4 años.

Respecto a los suelos, X. index se desarrolla mejor en suelos arenosos y limosos de origen aluvial ligeros que en los arcillosos, pero muestra gran tolerancia a la textura y pH de los suelos, (SIDDIQI, 1986; ARIAS y NAVAS, 1986; SCOTTO LA MASSESE et al., 1988), lo que, como indica WEISCHER (1975) explica su amplia distribución mundial. En cuanto a su distribución vertical se ha comprobado que en suelos de buena permeabilidad se encuentra entre 30 y 50 cm de profundidad que corresponde a la zona de máxima densidad de raíces (WEISCHER, 1975; SCOTTO LA MASSESE et al., 1988) pero puede sobrevivir a profundidades de hasta 3,5 m en ausencia de raíces y a 2 m es frecuente encontrar ejemplares virulíferos (RAS KI et al., 1965).

X. index tiene una gama restringida de hospedadores (vid, higuera, rosál y morera) aunque COIRO et al. (1987) han comprobado que tiene otros hospedadores en una serie de cultivos y malas hierbas que pueden servirle de reservorio. Independientemente de su papel de vector de virus produce una serie de alteraciones en las raíces de las plantas como consecuencia de su actividad trófica, y que consisten en engrosamiento y necrosis de los extremos apicales de las raicillas secundarias, con alteraciones celulares (LEHMANN y WYSS, 1978).

I.2.2.2. X. italiae.- También ha sido señalado como transmisor de GFLV en test de laboratorio (COHN et al., 1970), pero no ha sido comprobado en campo, donde no parece ser un vector muy efectivo (MARTELLI, 1978). Se caracteriza (Fig.5) por el cuerpo delgado, de unos 3 mm de longitud, casi recto en la parte anterior y arqueado ventralmente en la posterior, cutícula lisa, gruesa, con estrías muy finas más visibles en la región acudal. Poros en una sola fila, visibles en la región esofágica. Región labial suavemente redondeada, diferenciada del contorno del cuerpo por una constricción clara. Anfidios postlabiales, en forma de estribo, con aperturas como cortes de 1/2 a 2/3 el diámetro de la región labial. Odontostilo típico del género, de 95  $\mu\text{m}$  de longitud y bifurcado en la base, odontóforo de 60  $\mu\text{m}$  con tres extensiones basales. Anillo guía del estilete a 81  $\mu\text{m}$  del extremo anterior, anillo nervioso tras la base del odontóforo. Parte posterior del

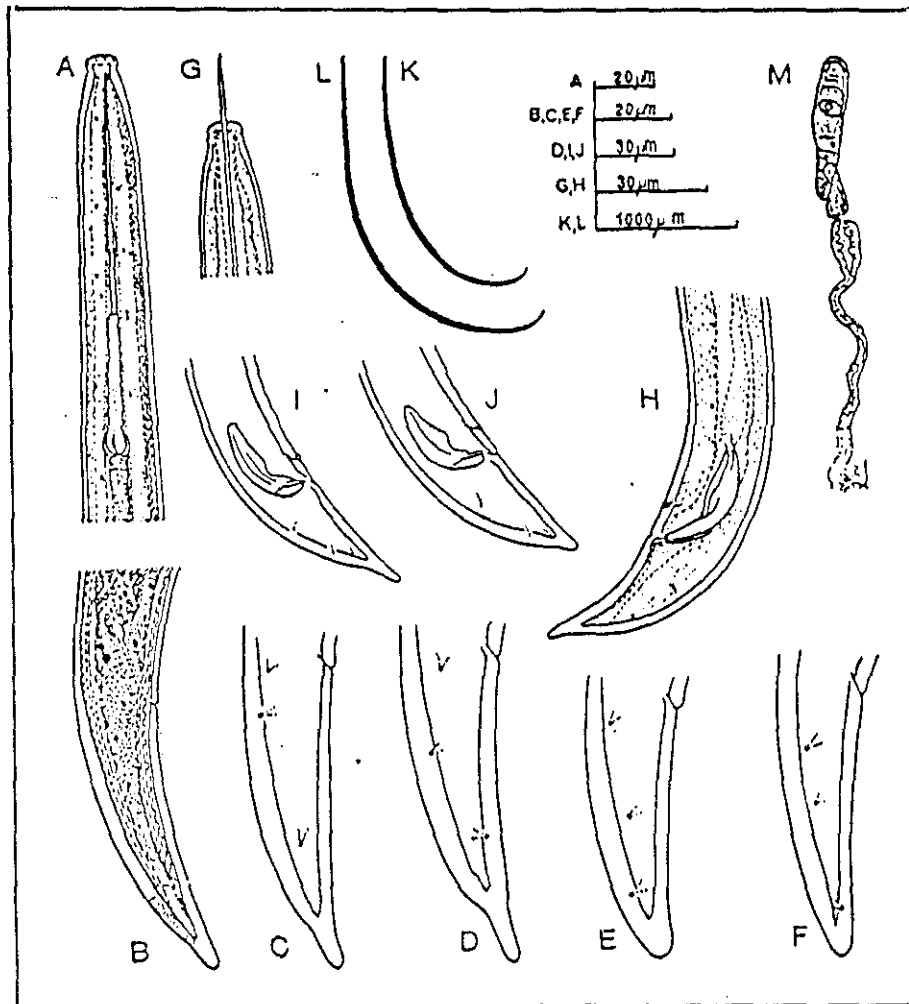


Fig. 5.- Morfología general de *X. italiae*: A y C = Región anterior; B = Región caudal de la hembra; C - F = Variabilidad de la región caudal de los distintos estados juveniles; I - H = Región caudal del macho; L - K = Forma del cuerpo cuando muere por calor; N = Rama ovárica (según Cohn, 1977)

esófago cilíndrica, muscular. Vulva como un corte transverso en posición ligeramente anterior a la parte media del cuerpo (43-49% de la longitud total del cuerpo). Gónadas dobles, opuestas y retroflexas en el oviducto; no presentan órgano "Z", útero diferenciado. Forma de la región caudal variable incluso dentro de la misma población, generalmente conoide alargada ligeras, constricciones ventral y dorsal hacia el terminus, a veces conoide e incluso subdigitada. La longitud caudal es de 2,8 a 4,3 veces la anchura del cuerpo al nivel del ano, con dos pares de papilas caudales. Los machos son escasos, no son esenciales para la reproducción, morfológicamente similares a la hembra excepto por la presencia de espículas arqueadas y los suplementos ventromedianos.

Es una especie distribuida en Europa Central y Meridional, especialmente en el área costera mediterránea (COHN, 1977, ALPHEY y TAYLOR, 1986) donde aparece en viñedos asociada a X. index y X. pachtaicum. También se ha citado en Sudáfrica (HEYNS, 1974) y en Nigeria asociada a GFLV (KHAN, 1988). Presenta un amplio rango de hospedadores, en general plantas cultivadas, pero solamente se ha comprobado su desarrollo en vid y cítricos (COHN y MORDECHAI, 1969; COIRO y AGOSTINELLI, 1991), aunque también es frecuente en bosques (HEYNS, 1974; LAMBERTI et al., 1985; NAVAS y ARIAS, 1986), prefiere suelos arenosos. NAVAS y ARIAS (1986) la encuentran asociada a suelos areno-limosos y limo arenosos con pH ácido (5-5,5) y contenidos de materia orgánica entre 2,5 y 5,5%.

1.2.2.3. Otras especies de la familia Logidoroideae.- X. coxi Tarjan se citó como vector del virus del mosaico del Arabis "Arabis mosaic" (AMV) (FRITZSCHE, 1964), "Cherry Leaf Roll" (CLRV) (FRITZSCHE y KEGLER, 1964), virus de los anillos latentes de la fresa "Strawberry Latent Ringspot" (SLRV) (PUTZ y STOCKY, 1970) y Tom RSV (VAN HOOFF, 1971) pero TRUDGILL et al. (1983) consideran estas citas dudosas al no haberse realizado las pruebas experimentales de transmisión de acuerdo con los postulados establecidos por estos autores.

Por otro lado, esta especie descrita en poblaciones de Florida (USA) y Alemania ha sido citada en numerosos países europeos, DALMASSO (1969 y 1970) y RAU (1975) aludían a la existencia de dos formas morfométricas distintas y STURHAN (1985) llegó a la conclusión de que la especie constituye un complejo que engloba dos especies bien diferenciadas, X. coxi Tarjan y X. pseudocoxi Sturhan, con dos subespecies X. coxi coxi Sturhan y X. coxi europaeum Sturhan que pueden ser formas ecológicas, ARIAS *et al.* (1987) encuentran X. c. europaeum y X. pseudocoxi en la Región Central de España preferentemente asociados a vegetación natural, aunque también lo encuentran en viñedos. X. diversicaudatum (Micoletzky) Thorne, distribuido en zonas de clima templado y húmedo de todo el mundo, es vector del virus del mosaico del Arabis (AMV) (JHA y POSNETTE, 1959) y del virus de los anillos latentes de la fresa (SLRV) (LISTER, 1964), aunque también ha sido citado como transmisor del (CLR) y virus de las manchas en anillo del frambueso (RRSV) por FRIZTSCHKE y KEGLER (1964 y 1968) respectivamente.

Estas últimas citas se consideran dudosas por no haberse realizado las pruebas experimentales de transmisión de acuerdo con la metodología establecida a tal fin por TRUDGILL *et al.* (1983). Es una especie muy frecuente en la parte septentrional de Francia, a lo largo de las cuencas fluviales y en la Costa Atlántica y se encuentra muy dispersa en el Reino Unido y Centro Europa (ALPHEY y TAYLOR, 1986). ARIAS *et al.* (1985) lo encuentran asociado a vegetación natural en suelos con un 60-70% de arena, preferentemente en suelos ácidos y condicionados por la humedad y el clima continental (subhúmedo a húmedo), su límite sur en Europa parece estar en la Región Central de España. Ocasionalmente aparece asociado a vid donde parece ser el transmisor de AMV. X. vuittenezi Luc, Lima, Weischer y Flegg es la especie más común en Europa Central (ALPHEY y TAYLOR, 1986) donde aparece asociada a la vid y se indica la posibilidad de que sea vector de GFLV en Alemania (RÜDEL, 1977, 1980 y 1985; WEISCHER, 1973) y Francia

(VUITTENEZ et al., 1972) donde el virus se propaga en ausencia de X. index y X. italiae, hipótesis que está por confirmar (BERCKS et al., 1977). Fué citado como vector de CLRV por FLEGG (1969), pero para TRUDGILL et al. (1983) es una cita dudosa por las razones ya indicadas.

Las restantes especies de Xiphinema que aparecen en viñedos en Europa, X. basilgoodeyi Coomans, X. clavatum Heyns, X. ingens Luc et Dalmasso, X. neovuittenezi Dalmasso, X. rotundatum Schuurmans Stekhoven et Teunissen, X. sabelense Dalmasso y X. turcicum Luc et Dalmasso no parecen estar asociadas a la transmisión de virus.

Respecto a las especies de Longidorus y Paralongidorus asociadas al viñedo, han sido comprobadas como vectores de virus L. apulus Lamberti et Bleve-Zacheo, que transmite el "Artichoke Italian Latent Virus" (AILV) (RANA y ROCA, 1975); L. attenuatus Hooper Tom BRV) (HARRISON, 1964); L. elongatus (De Man) Thorne et Swagen (Tom BRV) (HARRISON et al., 1961) y RRSV (TAYLOR, 1962); L. macrosoma Hooper (RRSV) (HARRISON, 1964) y L. martini Merny del "Mulberry Ringspot (MRSV) (YAGITA y KAMURO, 1972). Las citas de L. attenuatus Hooper como vector del AILV (RANA y ROCA, 1975), L. caespiticola Hooper, del AMV y RRSV (VALDEZ, 1972) y L. profundorum del RRSV (FRIZTSCHKE y KEGLER, 1968), así como la de Paralongidorus maximus (Butschli) como vector del AMV y RRSV se consideran dudosas (TRUDGILL et al., 1983) por las razones ya expuestas.

### I.3. RELACION VIRUS-VECTOR.

La mayoría de los estudios sobre relacion virus-vector se han realizado para X. index - GFLV que es una de las interacciones mejor estudiadas. Se ha comprobado que es suficiente que el nematodo se alimente por una sola vez en una planta infectada, para que adquiriera el virus (TAYLOR y ROBERTSON, 1975). El tiempo mínimo necesario para la adquisición del virus fué establecido por ALFARO y GOHEEN (1974) en cinco minutos, pero este detalle es de poca importancia práctica dado que las raíces permanecen en el suelo durante periodos largos, a disposición del nematodo. De mayor interés es el tiempo de retención del virus en el vector, ya que de ello depende la mayor o menor posibilidad de infección entre un cultivo y otro, según los estudios de TAYLOR y ROBERTSON (1975) y DAS y RAS KI (1968) principalmente, X. index es capaz de retener el GFLV hasta 8 meses cuando permanece alimentándose de hospedadores inmunes al virus, como es la higuera; en presencia de restos de raíces de vid mantiene la infección varios años.

El lugar de retención del virus es la capa cuticular que recubre la pared del lumen esofágico donde pueden observarse por microscopía electrónica las partículas situadas en una sola capa a lo largo del lumen (TAYLOR y ROBERTSON, 1970; RAS KI et al., 1973). Esta capa cuticular se cambia en las mudas por lo que durante el periodo de desarrollo del nematodo los estados juveniles pierden su infectividad al pasar de una fase a la siguiente, por lo tanto los adultos como todas las fases del desarrollo del nematodo tienen igual capacidad infectiva (RAS KI y HEWITT, 1963; COHN et al., 1970), aunque RÜDELL (1977) observa que los estados juveniles de L. attenuatus son menos eficaces en transmisión que los adultos. De cualquier modo, la eficacia de transmisión se incrementa considerablemente con el tiempo de adquisición y con el número de individuos utilizados en el test.

La transmisión de Nepovirus por vectores es específica (TAYLOR y ROBERTSON, 1975), así X. diversicaudatum transmite el AMV pero no GFLV a la inversa que X. index. Pero además, virus serológicamente diferentes pueden tener un mismo vector (AMV y SLRV se transmiten por X. diversicaudatum) y aislados diferentes de un mismo virus pueden transmitirse por especies diferentes de un mismo género, así serotipos escoceses de RRV y TRBV se transmiten por L. elongatus, mientras que los serotipos ingleses tienen sus vectores en poblaciones de L. macrodorus y L. attenuatus respectivamente (HARRISON, 1964). Incluso existe el caso de que un virus pueda tener dos vectores pertenecientes a géneros distintos, así PRMV puede transmitirse por X. americanum y por L. diadecturus (ALLEN *et al.*, 1982).

Esta asociación específica entre el virus y el vector parece relacionar la proteína de la cápsida del virus que interactúa con la cutícula del aparato digestivo del vector en el punto de fijación del virus, odontóforo y esófago (ROBERTS y BROWN, 1980; BROWN y TRUDGILL, 1983). Esta retención específica del virus, en opinión de ROBERTSON y HENRY (1986), se debe a la capa de carbohidratos que tapiza de manera discontinua odontóforo y esófago, que puede reconocer las moléculas de lectina de la proteína de la cápsida del virus.

Las diferencias sustanciales en la eficacia de la transmisión de un virus entre las distintas poblaciones de un nematodo hacen pensar en la posible existencia de razas biológicas dentro de las especies, sobre todo en aquellas especies de amplia distribución geográfica que no presentan suficientes diferencias morfológicas como para considerarlas especies distintas (BROWN y TOPHAM, 1985) cuando además hibridan entre sí (BROWN y TAYLOR, 1987). BROWN (1986) opina que la capacidad de un nematodo para transmitir virus es hereditaria y está controlada por un único gen, las diferencias en la eficacia de transmisión entre las distintas poblaciones indican la posible existencia de diferencias biológicas que no son suficientes para considerarlas especies distintas.

Por otro lado, la capacidad de un vector para transmitir un virus también radica en el propio virus. La asociación virus-vector-planta es un proceso interactivo que probablemente ha llevado a una selección evolutiva paralela en el desarrollo de relaciones específicas entre determinadas cepas de virus y poblaciones de nematodos vectores (BROWN et al., 1988). Este proceso evolutivo, como respuesta a los cambios en las condiciones medioambientales es un flujo continuo en las relaciones virus-vector-planta. La aparición de distintos aislados de virus asociados a especies de nematodos puede ser el resultado de un proceso de selección relacionado con diferencias en la planta huésped y en la biología del vector, todo ello daría lugar al descubrimiento de nuevas asociaciones virus-vector conforme progresen las técnicas de identificación de virus y nematodos (BROWN et al., 1988).

#### 1.4. METODOLOGIA PARA EL ESTUDIO DE LA TRANSMISION.

---

La mayor parte de las citas sobre transmisión de virus se han basado en pruebas experimentales en las que se ponía un cierto número de individuos del nematodo presunto vector en macetas en las que crecían plantas infectadas de virus, para transferirlas posteriormente, tras un periodo más o menos largo, a macetas con plantas herbáceas cebo, susceptibles al virus. Las transmisiones obtenidas de este modo estaban influenciadas por una serie de factores que pueden enmascarar la transmisión (TRUDGILL et al., 1983; BROWN y TRUDGILL, 1983; BROWN et al., 1989).

Ya Mc ELROY (1978) opinaba que para establecer que un nematodo es vector debe seguirse un criterio único en las pruebas experimentales y TRUDGILL et al. (1983) establecen los siguientes criterios: 1. El virus y el nematodo deben estar correctamente identificados; 2. Debe comprobarse que las plantas cebo se han infectado como consecuencia del test y 3. Debe comprobarse que el

nematodo es el único vector posible a lo largo del experimento. Para asegurar estos criterios se han desarrollado una serie de metodologías por Mc ELROY (1978); TRUDGILL et al. (1981), pero la propuesta por TRUDGILL et al. (1983) es la más sensible para detectar pequeñas diferencias en la eficacia de la transmisión permitiendo determinar dicha eficacia en cada proceso, adquisición, retención y transmisión del virus, por lo que es la que se viene siguiendo.

#### I.5. ESTADO ACTUAL DE LOS ESTUDIOS SOBRE GFLV Y LOS NEMATODOS ASOCIADOS A LA VID EN ESPAÑA.

---

Se revisan, en este apartado, en primer lugar, los trabajos realizados sobre el virus de la degeneración infecciosa y su importancia en España y a continuación los referentes a nematodos asociados al viñedo y su distribución, con especial atención a los transmisores de virus.

I.5.1. VIRUS DE LA DEGENERACION INFECCIOSA DE LA VID. - Es MARCILLA ARRAZOLA (1942) quien se refiere en primer lugar en España a la degeneración infecciosa de la vid como enfermedad vírica y FERNANDEZ DE BOBADILLA (1948 y 1950) describe la sintomatología en viñedos de Jerez, pero es en los años setenta cuando la aparición de las primeras publicaciones haciendo referencia expresa a la aparición del virus en España. ALFARO (1971) y FIJO y ARIAS (1976) detectan la enfermedad asociada a su nematodo vector, X. index; PEÑA-IGLESIAS y AYUSO (1971) y AYUSO y PEÑA-IGLESIAS (1973) identifican el virus y PEÑA-IGLESIAS y RUBIO (1971), FRESNO et al. (1978) y PEÑA-IGLESIAS et al. (1978) hacen un estudio biológico, bioquímico y biofísico del virus. GARCIA DE LUJAN (1975 y 1976) indica la gravedad del problema en la región de Jerez, así como GUZMAN (1970), PROVEDO y FERNANDEZ-SEVILLA (1973); DIAZ-YUBERO y ESTEBAN (1973) en La Rioja y PEREZ CAMACHO (1981) en la zona de Montilla-Moriles. PEÑA-IGLESIAS (1972) indica que el virus del entrenudo corto se encuentra

en España en el 20% del viñedo causando problemas graves, el mismo autor (1989) opina que las enfermedades víricas son el principal problema de los viñedos y afectan al 67% de los mismos, lo que da lugar a unas pérdidas mínimas de 346 millones de dólares, considera que el 90% de las vides de las variedades Cayetana Blanca y Garnacha están infectadas por GFLV, así como el 87% de las Macabeo, 85% de Airen; 75% de Tempranillo, 60% de Xarelo; 49% de Palomino; 45% de Pedro Ximenez y 5% de Monastrel. PADILLA y MARTINEZ (1986) establecen la importancia del entrenudo corto en las variedades de la uva de mesa, no sólo por una disminución del rendimiento sino también por la merma de calidad. PADILLA *et al.* (1990) someten a procesos de indexaje y control de producción parras de las variedades Don Mariano, Domínguez y Ohanes, procedentes de preselección, encontrando un alto nivel de infección viral que no se corresponde con la producción satisfactoria de las mismas.

El Departamento Regional y Coordinador de Viticultura y Enología del INIA viene desarrollando desde los años 70 un programa de selección sanitaria de las vides españolas a nivel nacional, en el que las cepas se seleccionan en base a las buenas aptitudes varietales (vigor, producción, etc.) y comprueban su sanidad por diagnóstico visual, comprobación de síntomas, no siempre de valor diagnóstico, por transmisión a indicadores leñosos y herbáceos y muy recientemente por indexaje serológico (ELISA) (PEÑA-IGLESIAS, 1989).

I.5.2. NEMATODOS DE LA VID.- NAVACERRADA (1975) hace una revisión de las publicaciones existentes hasta el momento de los nematodos asociados al viñedo, encontrando doce publicaciones que hacen referencia a 20 especies y 50 géneros; de ellas merece destacar la primera cita de X. index y M. xenoplax en viñedos españoles (JIMENEZ-MILLAN, 1962), la distribución geográfica de las especies de Xiphinema en los viñedos españoles, las únicas estudiadas en profundidad (ARIAS y NAVACERRADA, 1973) y el hallazgo de Tylenchulus semipenetrans en vid en España (NAVACERRADA, 1975).

Posteriormente ARIAS et al. (1985) recogen todas las citas sobre nematodos ectoparásitos y transmisores de virus en España Continental, donde aparecen 29 referencias de X. index Thorne et Allen y de X. ingens Luc et Dalmasso, 16 de X. italiae Meyl, una de X. neovuittenezi Dalmasso, 198 de X. pachtaicum (Tulagarov) Kirjanova, una de X. rivesi Dalmasso, 2 de X. turcicum Luc et Dalmasso, 2 de Xiphinema spp., una de Longidorus attenuatus Hooper, una de L. elongatus (De Man) Thorne et Swagen, 2 de L. macrosoma Hooper, 4 de L. profundorum Hooper, posteriormente identificado como L. belloi Andrés et Arias y una Longidorus spp. Merece destacarse el trabajo de TOBAR, JIMENEZ y PEMAN MEDINA (1979) que estudian la distribución vertical y horizontal y hacen una valoración de los niveles de población de Xiphinema en relación con la sintomatología de degeneración infecciosa en los viñedos de Jerez.

PINOCHET y BERGUA (1983) estudian los nematodos fitoparásitos asociados a viñedos de Cariñena, encontrando 18 especies de 12 géneros siendo los más importantes por su frecuencia y patogenicidad: Xiphinema, Helicotylenchus, Macrophostonia, Paratylenchus, Pratylenchus, Tylenchorhynchus, Gracilacus y Zygotylenchus; PINOCHET y CISNEROS (1986) estudian las fluctuaciones estacionales de poblaciones de tres nematodos (Criconemella xenoplax, Xiphinema mediterraneum y Helicotylenchus dihystra) que consideran los más importantes en viñedo en Castilla, Cataluña y La Rioja.

NAVAS et al. (1986) realizan estudios sobre la ecología y distribución de X. index y X. italiae, ARIAS et al. (1986) y NAVAS et al. (1988) sobre la de X. diversicaudatum y X. pachtaicum y ARIAS et al. (1987) sobre la de X. coxi s.l. La distribución de estas especies en España continental aparece reflejada en la Fig.6. BELLO et al. (1989) encuentran focos de Meloidogyne incognita afectando al viñedo en La Mancha.

fig 6

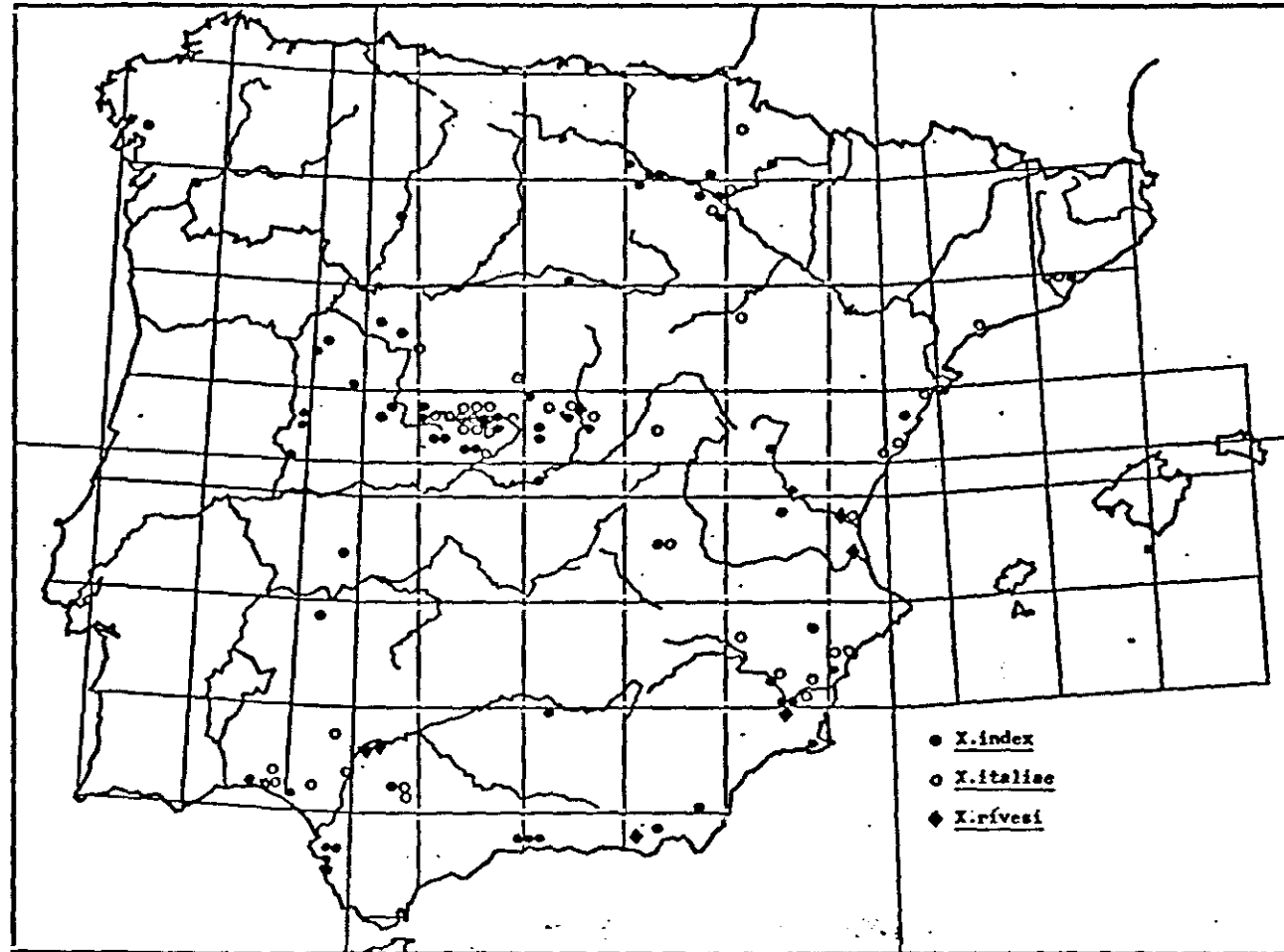


Fig. 6.- Distribución geográfica de las principales especies vectoras de virus (según Arias et al., 1985)

## II. MATERIAL Y METODOS

La planificación correcta de los muestreos y la elección de una metodología adecuada es fundamental en estudios de ecología y epidemiología de organismos edáficos y muy especialmente en el caso de los nematodos del suelo. Debido a ello, en el primer apartado, de los 11 que componen este capítulo, se reflejan los motivos que llevaron a la elección de las áreas de estudio, para pasar a continuación a la descripción de las mismas. En los apartados siguientes se describen con detalle las metodologías seguidas para la toma de muestras, tanto de suelo como de material vegetal, para la extracción y estudio de nematodos y para la detección, identificación y transmisión del virus. Finalmente, se indican las técnicas utilizadas en la determinación de los parámetros edáficos, elaboración de mapas climáticos y de suelo, así como en el tratamiento estadístico y cartografiado de datos.

## II.1. PLANIFICACION DE MUESTREOS

Teniendo en cuenta de las consideraciones anteriores, se han planificado distintos tipos de muestreos, según los fines pretendidos, bien en zonas vitivinícolas concretas o en fincas experimentales.

Para estimar el grado real de la incidencia del virus y sus nematodos vectores en el viñedo en contraste con las opiniones generales expuestas, se realizó un muestreo previo al azar en La Mancha. Dicho muestreo planteó la necesidad de diseñar otro en tres zonas con diferentes condiciones medioambientales, en base a muestrear no sólo los viñedos más importantes, sino también zonas periféricas de menor interés vitivinícola, teniendo en cuenta, dentro de lo posible, el tipo de suelo y como base a la elección del área de estudio.

Asimismo se diseñaron sendos muestreos en dos fincas experimentales, uno de ellos encaminado principalmente a la comprobación de la persistencia del virus en distintos tejidos de la planta (hojas, sarmientos, raíz, etc.) y a lo largo de todo el año y otro a fin de comprobar la correlación entre sintomatología observada y presencia de virus en distintas variedades de vid.

## II.2. DESCRIPCION DE LAS ZONAS DE ESTUDIO

Para la elección de las áreas de estudio se han tenido en cuenta los trabajos sobre litología de SOLE SABARIS (1984), que distingue en la Península tres zonas, la España arcillosa, la caliza y la silíceo (fig.7), los de climatología de FONT TULLOT (1983), que considera dos zonas climáticas (la verde y la parda) y tres áreas (árida, semiárida y húmeda) de acuerdo con el índice hídrico de Thorntwaite (Fig.8), así como el **modelo bioclimático** de GONZALEZ REBOLLAR (1983); MONTERO DE BURGOS Y GONZALEZ REBOLLAR (1989) que integra los datos de precipitación con las características del suelo y relieve, sintetizando la variación estacionaria de la temperatura media con el balance hídrico en cada caso; los parámetros que utilizan son: temperatura media (+), precipitación real (p), evapotranspiración potencial (E), evapotranspiración residual (e), capacidad de resistencia del suelo (CR) y escorrentia lateral (W) y, en base a estos parámetros, establecer unidades de medida (unidades bioclimáticas) que permiten cuantificar la actividad vegetativa potencial y real, así como el grado de inactividad por sequía y frío (Fig. 9), que estructuran las características generales de los ambientes de la Península en cuatro categorías, en tres de las cuales

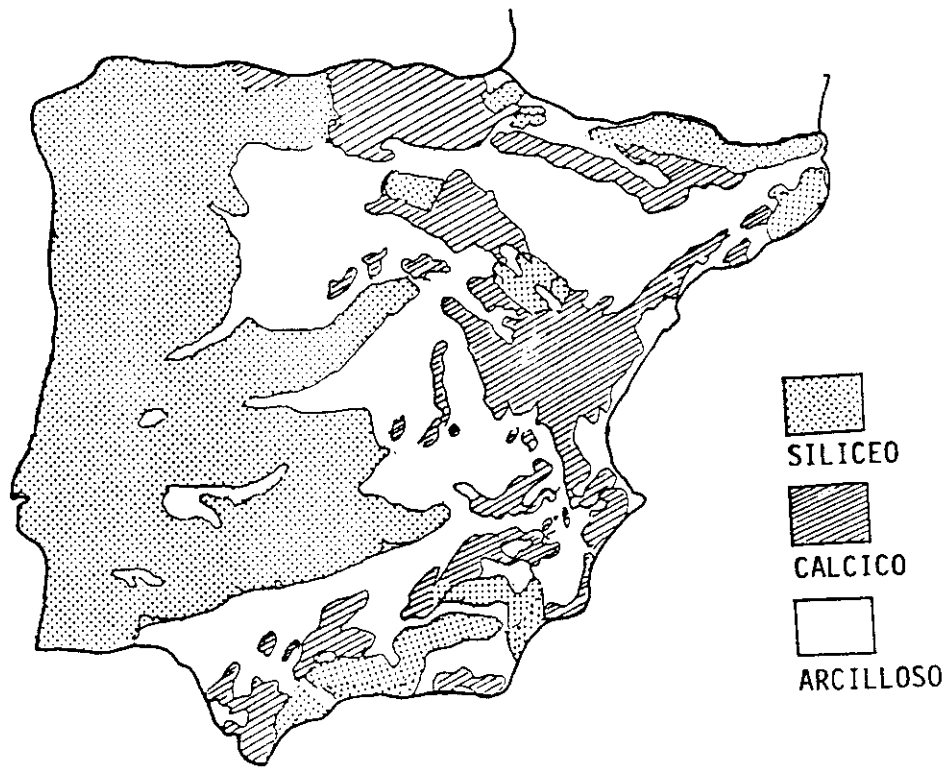


Fig. 7.- Litología (Según Solé Sabarís, 1984)

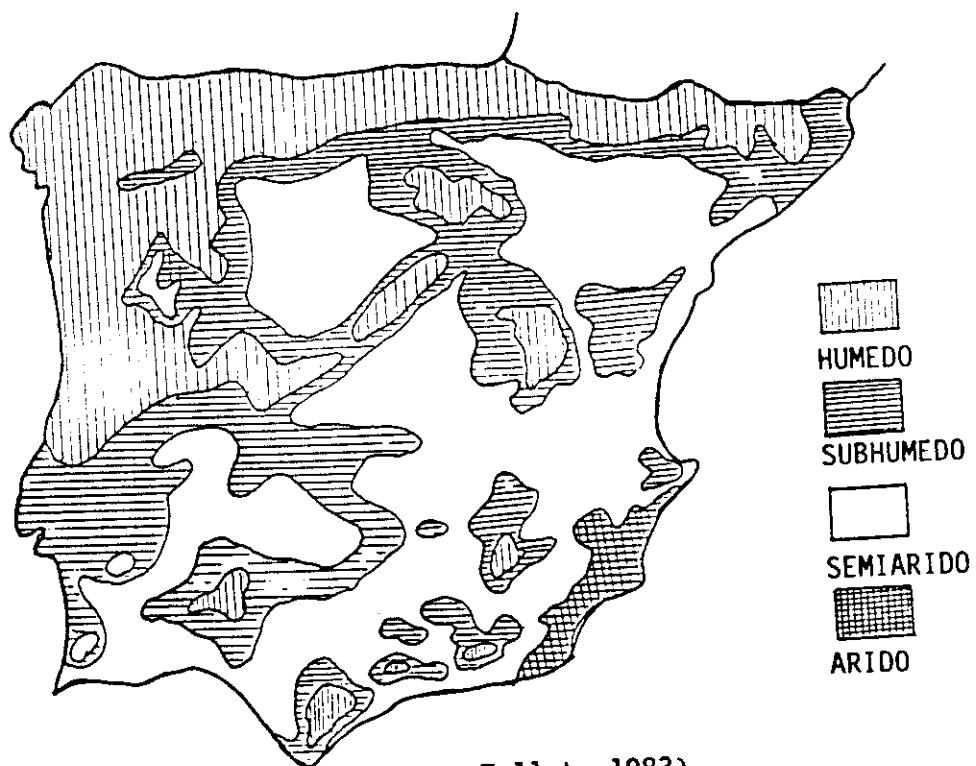


Fig. 8.- Clima (Según Font Tullot, 1983)

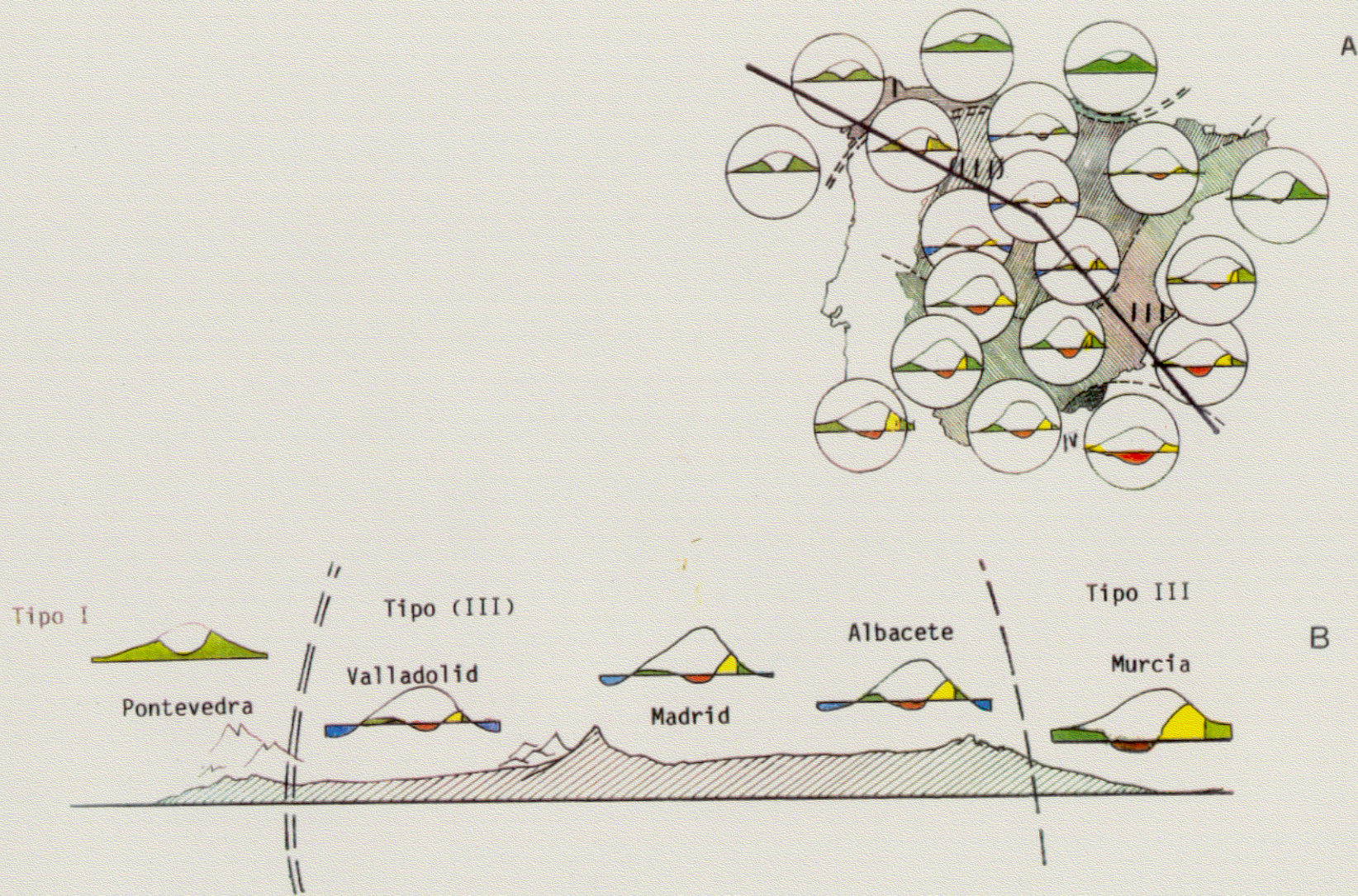


Fig. 9.- A: Tipos climáticos generales de la Península Ibérica, B: Transición atlántica. NO-SE (según González Rebollar, 1983).

existen enclaves de viñedo: Eurosiberianos, tipo 1, del norte peninsular en los que no se presenta inactividad vegetativa ni por sequía ni por frío; Mediterráneos, tipo 3, templados y secos, con las variantes continentales de la Meseta, con inactividad vegetativa en invierno; Subdesérticos, tipo 4, de Almería con inactividad vegetativa en verano.

II.2.1. ZONAS VITICOLAS, LA MANCHA. - Con el fin de comprobar si la incidencia del virus y el nematodo, por un lado, y su relación con la sintomatología observada, por otro, mostraba diferencias en las distintas condiciones ambientales, se eligieron para el estudio previo tres zonas que presentaban ambientes distintos, en un transecto que iba de Galicia a Murcia: **Galicia** como representante de la **España silícea, verde y húmeda**, con un **ambiente Eurosiberiano** donde, como se indicaba anteriormente, no existe inactividad vegetativa ni por sequía ni por frío; **La Meseta arcillosa**, correspondiente a la **España parda**, con un **clima semiárido**, representante de los **ambientes mediterráneos continentales** donde existe inactividad vegetativa en invierno; **Murcia, caliza**, de **clima mediterráneo árido y ambiente de transición** hacia el subdesértico (Fig.9). Finalmente, el estudio se centró en los viñedos de **La Mancha**, debido a su extensión y peculiaridades ambientales.

**La Mancha** es la región natural de más extensión y quizás la más continental de todas las regiones centrales de la Península. Es una planicie de tipo fisiográfico con una altura media de 650 m sobre el nivel del mar. Limita al Norte con la Mesa de Ocaña, planicie que constituye una continuación de La Mancha y se extiende hasta el río Tajo; por el sur limita con el Campo de Montiel y estribaciones de Sierra Morena; al Este con las Serranías de Cuenca y Alcaraz, en Albacete, y al Oeste con el Campo de Calatrava y estribaciones de los Montes de Toledo.

El **clima** es **continental** con precipitaciones escasas que oscilan alrededor de los 400 mm, dándose las máximas en primavera y finales de otoño y las mínimas en invierno y verano. Según el índice hídrico anual de Thorntwaite, se distinguen cinco tipos climáticos gradientes (Fig. 10), de los que los más extendidos en el área de estudio son el seco subhúmedo ( $I_m = -20 - 0$ ) y semiárido  $I_m = -40 - 20$ . La temperatura media anual va desde los 9 a los 17° C (Fig. 11), si bien el área de estudio está comprendida entre los 13 y 15° C, con riesgo de heladas nocturnas desde finales de otoño a primavera avanzada, los veranos son secos y calurosos. Su **hidrografía** está representada fundamentalmente por dos ríos, el Guadiana y el Júcar, que afectan poco a la región manchega. Los dos afluentes principales del Guadiana, el Záncara y el Cigüela aportan poco caudal, lo que unido a la escasa pendiente del terreno y al drenaje imperfecto de la roca subyacente, caliza, hace que se produzcan fenómenos de endorreísmo y la formación de lagunas o charcas de carácter salino. Por otro lado, el agua de lluvia se filtra por las numerosas fisuras de la roca y se acumula formando un manto acuífero muy potente. Los restantes afluentes y arroyos son de poca importancia, debido a su curso intermitente y normalmente están secos en verano debido a las escasas lluvias, la intensa evaporación estival y el carácter kárstico de la roca caliza.

Desde el punto de vista **geomorfológico**, ha seguido la misma evolución del antiguo Macizo Ibérico del que es parte integrante. Desde el **litológico** se encuentran en La Mancha los siguientes materiales que, a continuación se indican y que darán lugar a los respectivos suelos:

- Sierras constituidas por materiales paleozoicos (pizarras y cuarcitas) y que forman, aparte de las grandes cordilleras, los montes-islas distribuidos principalmente por las provincias de Toledo, Cuenca y, en menor proporción, Ciudad Real.

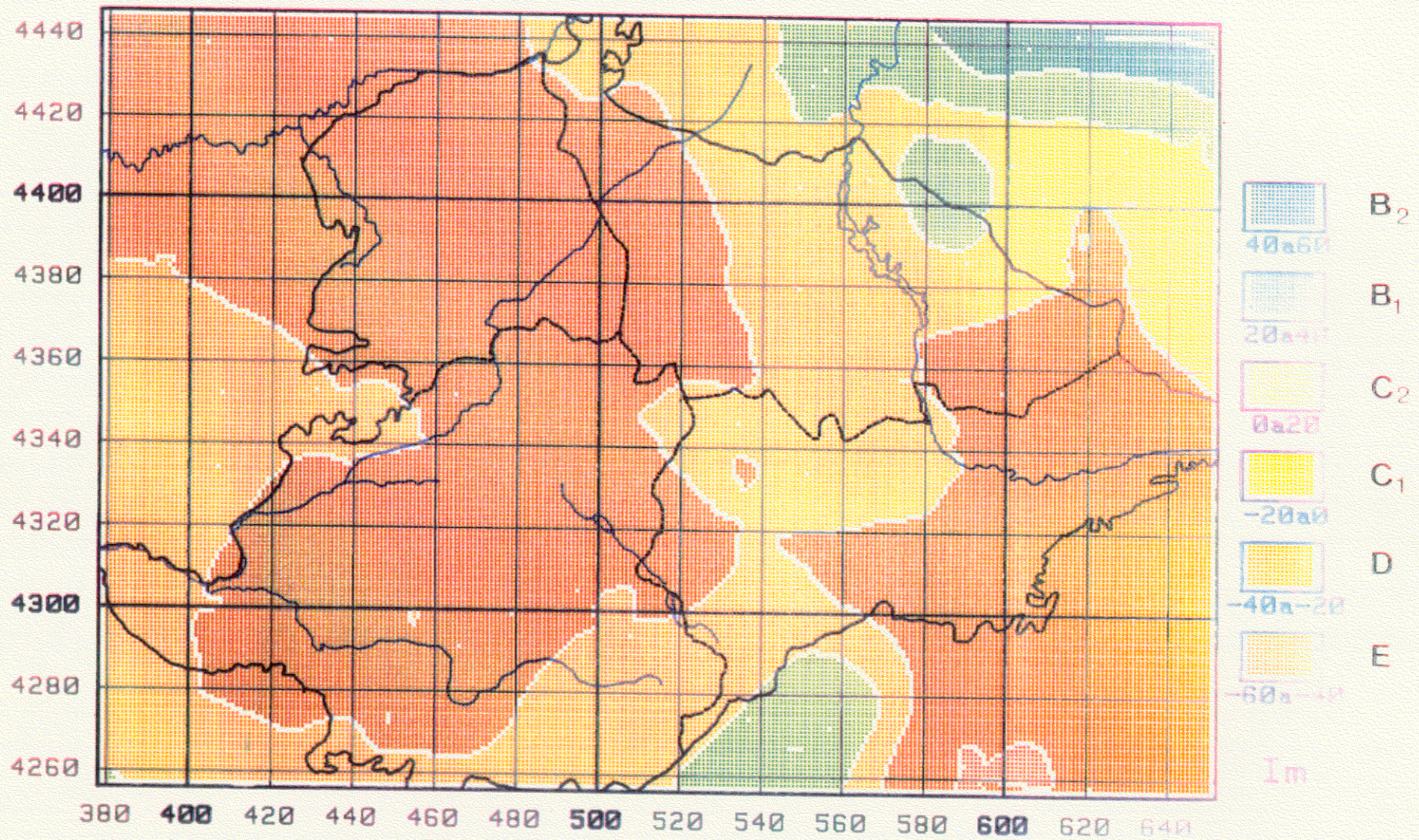


Fig.10.- Tipos climáticos de La Mancha: B<sub>2</sub>=Húmedo II; B<sub>1</sub>= Húmedo I;  
 C<sub>2</sub>= Subhúmedo; C<sub>1</sub>= Seco, subhúmedo; D = Semiárido y E = Arido.  
 (según el Im de thornthwaite).

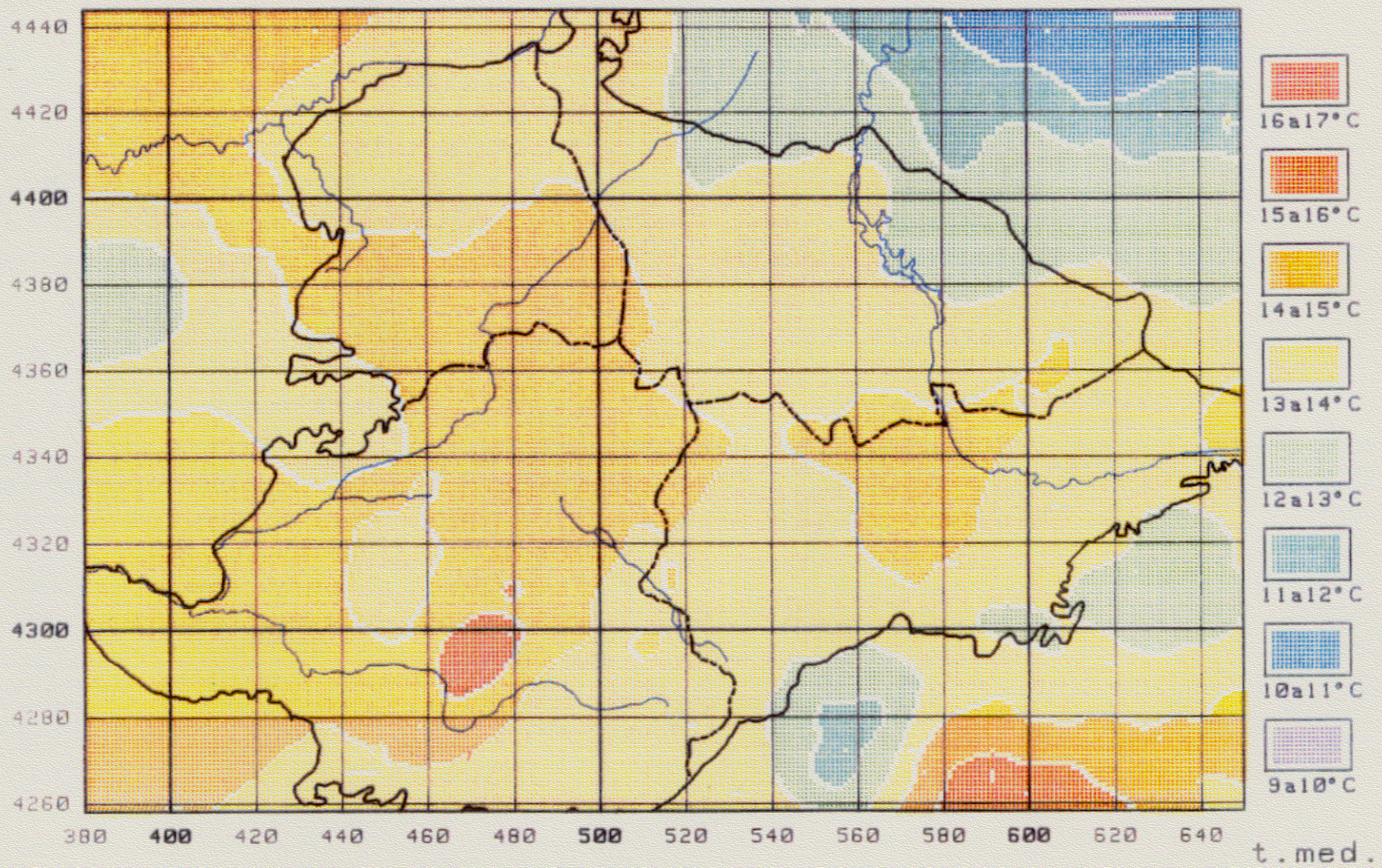


Fig. 11.- Temperaturas medias en La Mancha.

- Los conos de materiales volcánicos (basaltos y limburgitas) que forman el Campo de Calatrava y que hacen de límite occidental.
- Materiales de origen secundario (margas abigarradas, dolomitas, areniscas, calizas y margas) que pertenecen a los pisos Triásico, Jurásico y Liásico y que se localizan en las proximidades del Campo de Montiel, entre Valdepeñas y Villanueva de los Infantes. Dan lugar a suelos muy aptos para el cultivo del cereal.
- La llanura manchega, formada principalmente por materiales terciarios y cuaternarios de origen químico y detrítico. Los primeros constituidos por arcillas, yesos, margas y calizas de origen mioceno y oligoceno principalmente; los segundos formados por cantos de cuarcita, arena, arcillas, etc., de naturaleza más bien silícea.
- Entre los materiales de origen químico hemos de destacar **la costra caliza ó caliche** que forma parte u origina la mayoría de los suelos manchegos, cuyo aprovechamiento principal hasta hace poco tiempo ha sido el cultivo de la vid y ahora se están imponiendo los cultivos de regadío (alfalfa, maíz, etc.).
- Otros terrenos cuaternarios son los constituidos por los derrubios pedregosos de ladera de las sierras paleozoicas o montes-isla, compuestos por cantos de cuarcita apenas rodados y unidos por una matriz arcillosa que proviene de la descomposición de la pizarra. Suelen estar aprovechados para el cultivo del olivar.

Desde el punto de vista **edáfico** destaca el marcado carácter eútrico de la casi totalidad de los suelos presentes en esta región. En consecuencia, salvo raras excepciones, los suelos más desarrollados no suelen sobrepasar del estadio de Luvisol, como también es frecuente en otras regiones mediterráneas. En el área de estudio, de acuerdo con el mapa de suelos de la FAO/UNESCO (1985), se distinguen nueve asociaciones de suelos (Fig. 12), luvisoles rodocrómicos y cromocálcicos, cambisoles cálcicos, dístricos, eutrícos, gléicos, solonchaks gléicos y vertisoles, los que presentan una mayor extensión

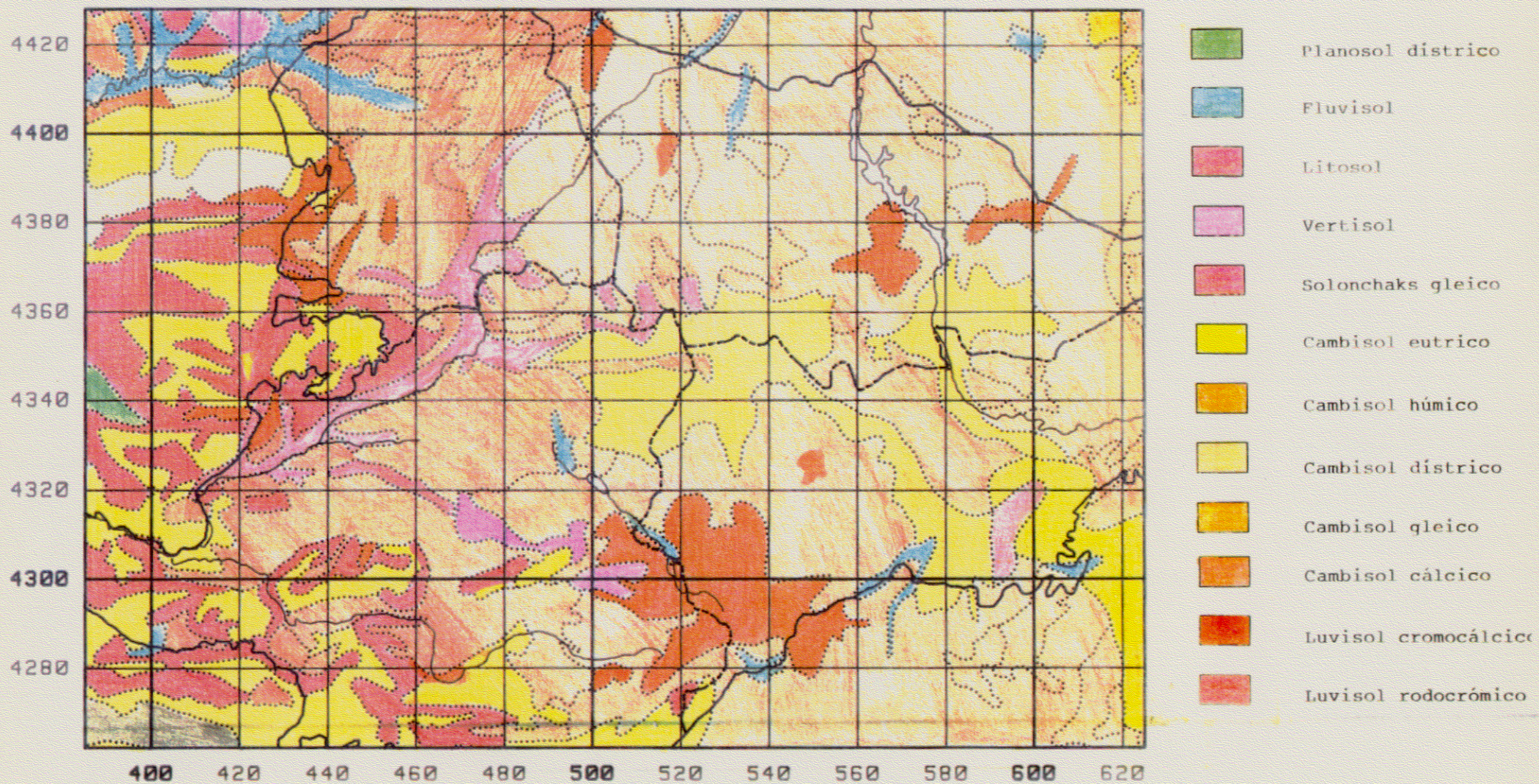
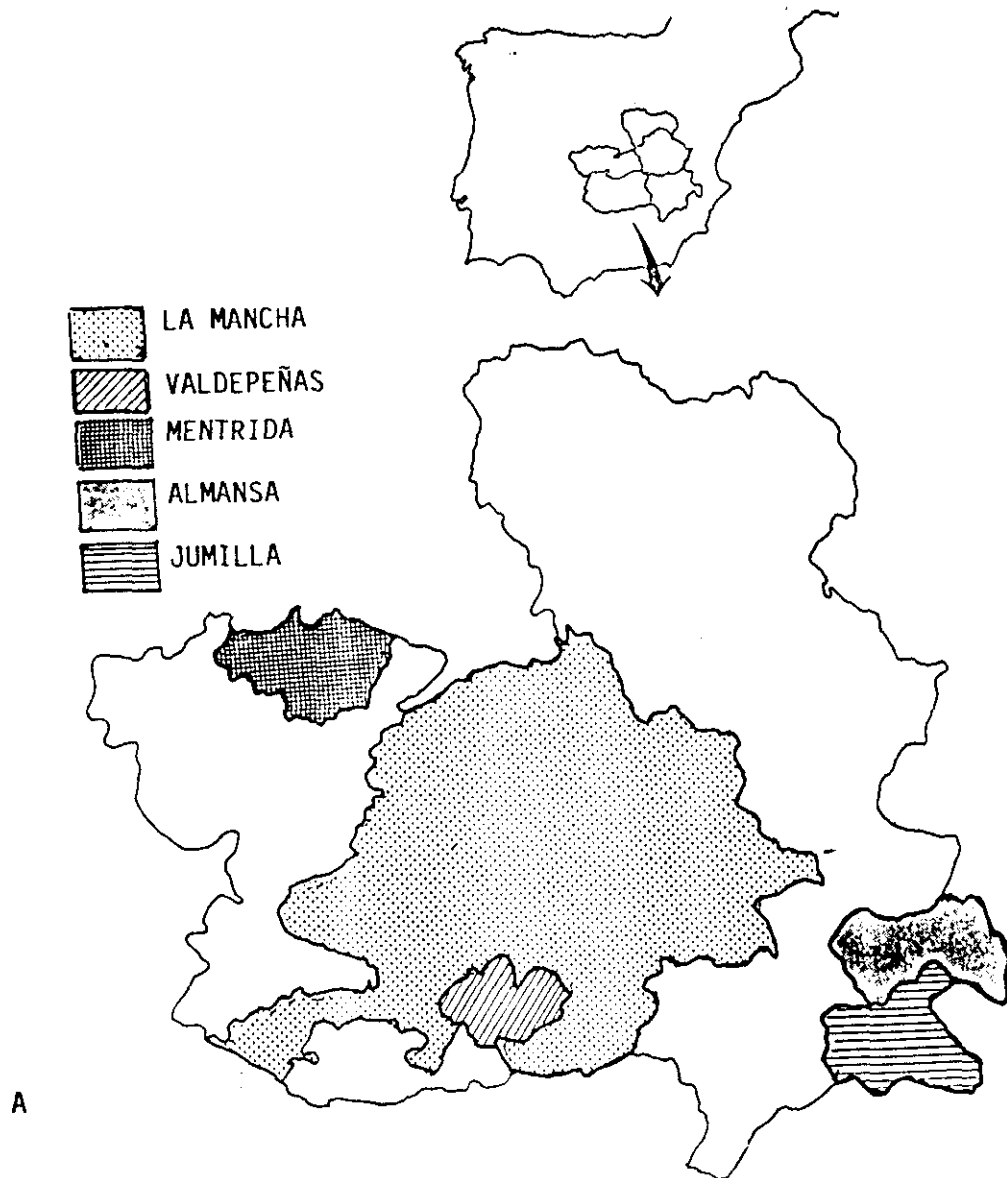


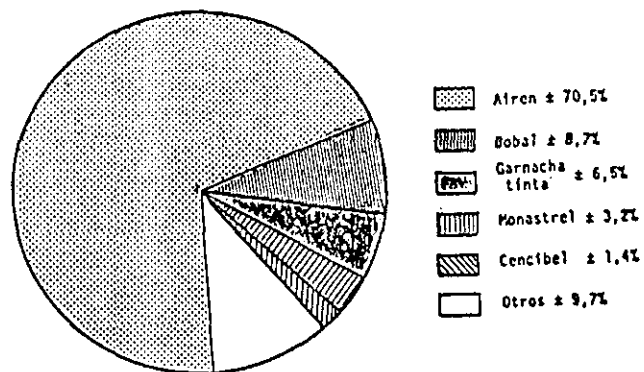
Fig.12.- Tipos de suelos de La Mancha, según el mapa de la FAO-UNESCO (1985).

superficial poseen como tipo principal los Cambisoles (suelos pardos), dísticos y eútricos, en la región occidental (sobre sustratos graníticos y neísicos en el primer caso y pizarrosos en el segundo) y cálcicos en la oriental (sobre calizas y otros materiales carbonatados). Como en otras áreas con predominancia de los ambientes mediterráneos semiáridos (caracterizados por recibir menos de 400 mm de precipitación anual), los principales riesgos de estos suelos son los de erosión y los de salinización, tras su puesta en regadío, si no se toman las medidas preventivas oportunas. Por último cabe destacar los problemas que, en este tipo de ambientes, tiene la pérdida de materia orgánica del suelo, por acción de las prácticas agrícolas. Si ésto ocurre, se inicia un proceso de degradación de la estructura del suelo, se pierde gran parte de la capacidad de almacenamiento de agua y se favorecen los procesos erosivos. En otras palabras se aridifica el ambiente edáfico con los consiguientes problemas de desertización en unos ecosistemas mediterráneos semiáridos de por sí muy frágiles.

La extensión del viñedo en esta región representa la mayor concentración mundial de dicho cultivo, el 8% de la superficie vitícola mundial, el 11,4% de la europea, el 9,7% de la superficie geográfica total de la región, el 18,3% de sus tierras cultivadas y el 73,3% de las dedicadas a cultivos leñosos y en torno al 50% (47,4% en regadío y 48,5% en seco) de la superficie nacional dedicada a viñedo. Su distribución de acuerdo con el **"Mapa de Cultivos y Aprovechamiento del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación"** (1986) se indica en la Fig. 13. Se recomienda preferentemente que según Real Decreto 115/1985 de 5 de Junio para el cultivo en esta zona, 14 variedades distintas y otras seis están autorizadas pero la variedad más extendida es la Airen, seguida de Garnacha, Bobel, Monastrel y Cencibel entre otras.



A



B

Fig. 13.- A. Distribución del viñedo según denominaciones de origen. B. Porcentaje de las distintas variedades cultivadas (de acuerdo con el mapa de cultivos y aprovechamiento del MAPA)

Respecto a la producción, según el Anuario Estadístico de la Producción Agraria de 1988, representa el 50,98% de la producción nacional de uva, correspondiendo casi el 70% a la variedad Airen.

Desde el punto de vista demográfico existen en La Mancha 511 ha de vid por cada 1000 habitantes, lo que representa 1334 ha/1000 habitantes de población activa y 4528 h/1000 habitantes de población económicamente activa, por lo que actúa como factor de riqueza y fijación de población.

Las zonas vitícolas se asientan en una gran llanura de escasas ondulaciones, con una altitud media que oscila entre los 600-900 m, con clima continental extremado muy adecuado al cultivo de la vid, pero de escasa fertilidad y pluviometría (menos de 400 mm año), que le hacen poco rentable para otros cultivos, si no se introduce el riego. Debido a ello el viñedo constituye en La Mancha el aprovechamiento idóneo de los terrenos más desfavorables - pobres, secos, semiáridos y arenosos de poco fondo.

II.2.2. FINCAS EXPERIMENTALES. - Para la realización de estudios puntuales se han elegido dos fincas que por sus características resultan idóneas a nuestros fines y que a continuación se describen.

II.2.2.1 Finca experimental "La Higuera" (Fig. 14). - La Finca Experimental "La Higuera" se encuentra situada entre los términos municipales de Santa Olalla y Maqueda, a 80 km de Madrid, tiene una extensión de 90 ha distribuidas en 7 parcelas (Fig.14), de acuerdo con las características y topografía de la finca. Casi en su totalidad se dedica a cultivos de secano y actualmente existen 4 ha de viñedo, ya que en 1983, siguiendo las directrices del Ministerio de Agricultura se levantaron 6,5 ha de viña vieja.

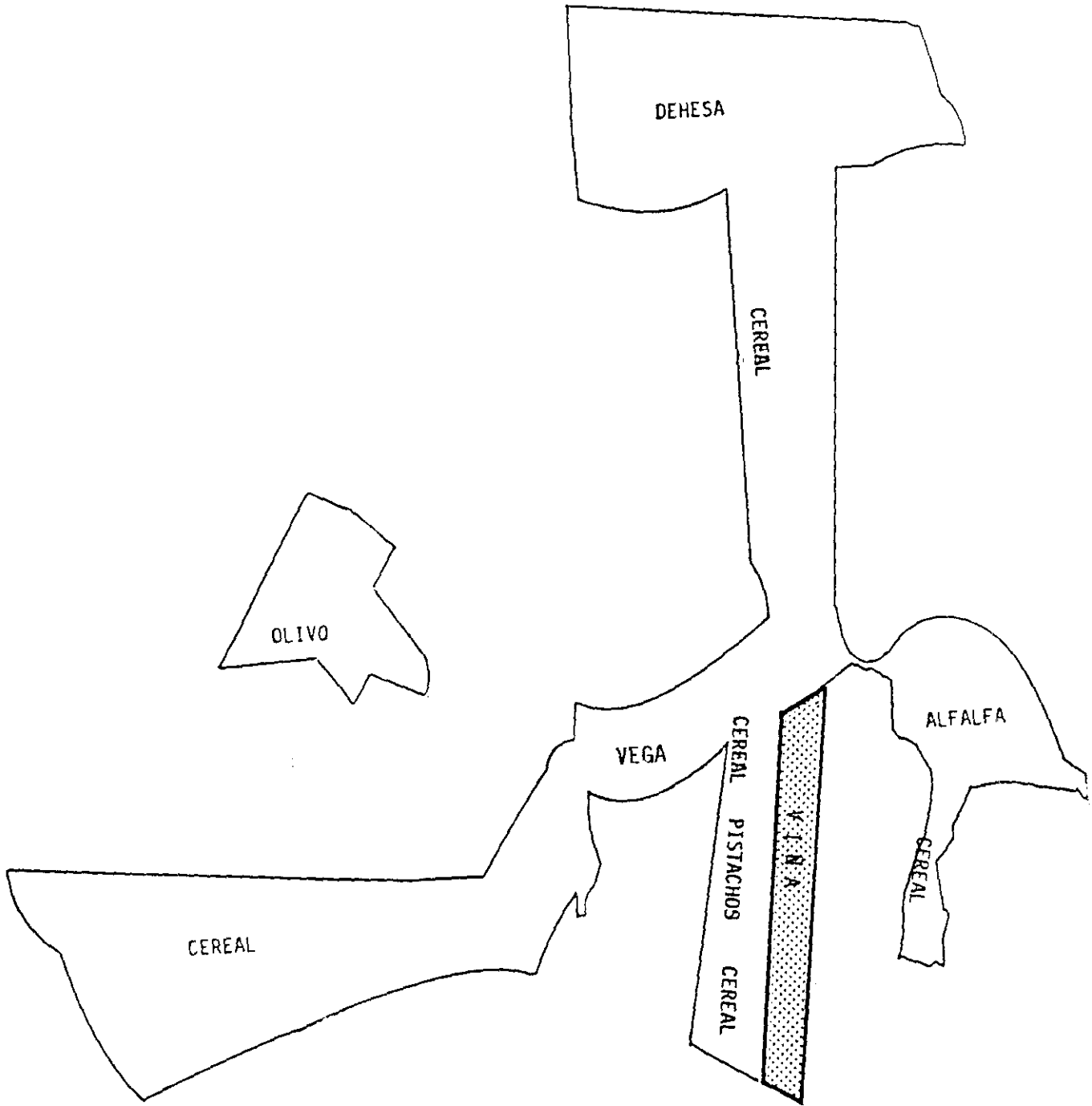


Fig. 14 .- Finca Experimental "La Higuera". C.S.I.C.

Los suelos de la finca se incluyen en los suelos desarrollados sobre sedimentos detríticos arcósicos que se definen como "Facies Madrid". El viñedo se encuentra sobre un luvisol con horizonte A franco arenoso, un Bt variable entre arcilloso, franco-arcilloso y franco-arcilloso-arenoso, la presencia de carbonato cálcico en profundidad es desordenada y arbitraria, generalmente en forma de vetas blancas en los sedimentos detríticos. La variedad de vid cultivada es la Garnacha típica de la denominación de origen Métrida sobre pie Ritcher. La producción media es de 3.000 kg/ha, lo que supone 3 kg/cepa. El clima, de acuerdo con OLIVER *et al.* (1985), se encuadra en el **clima continental semiárido**, con inviernos frescos y elevadas temperaturas estivales.

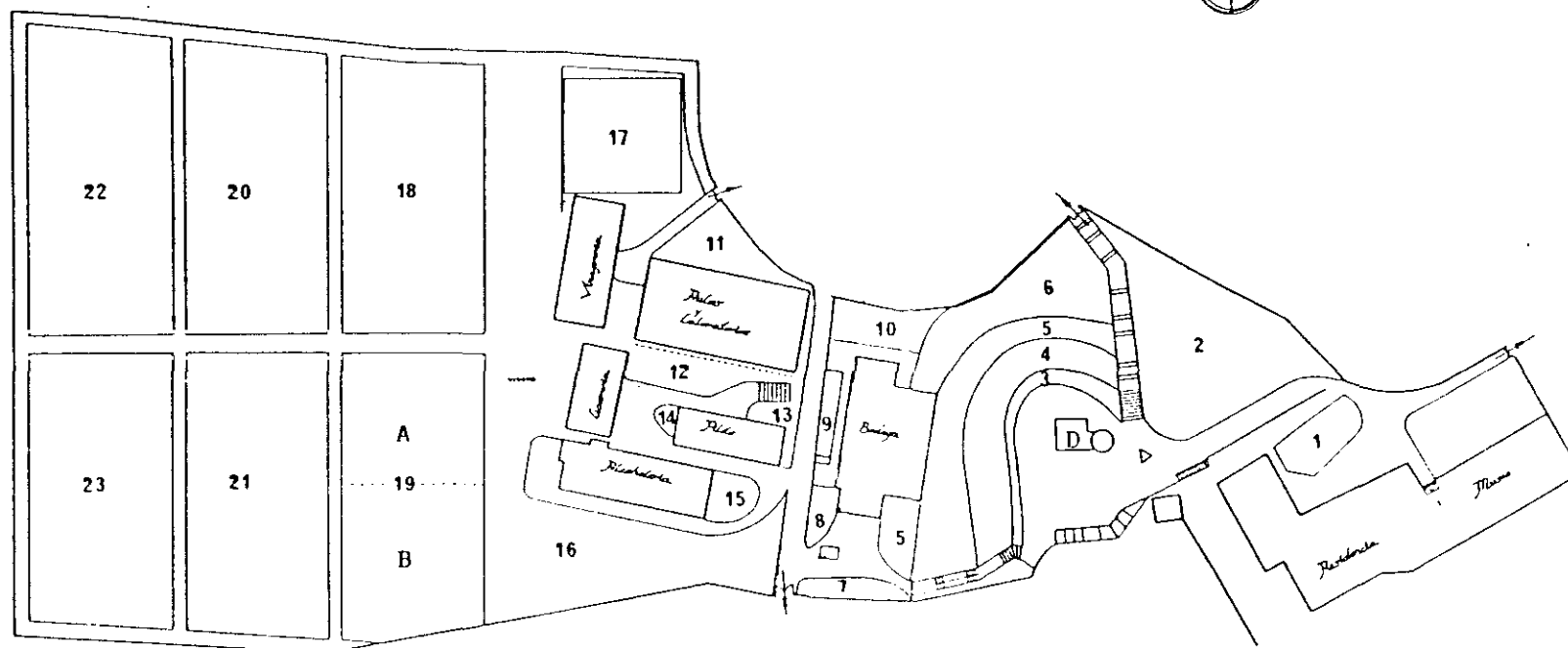
II.2.2.2. Finca de la Escuela Museo de la vid y el vino de Madrid .- Situada dentro del recinto de la Casa de Campo (Avda.de Portugal), tiene una superficie de unos 15.000 m<sup>2</sup> cultivados de vid, unas 5.400 cepas de las variedades Garnacha, Tinto Fino, Airén, Ohanes y Cavernet Sauvignon principalmente, y dos subparcelas con distintos portainjertos (Fig. 15). Conociéndose la procedencia y evolución de todas las variedades.

### II.3. MUESTREOS REALIZADOS.

Los datos existentes en la bibliografía sobre GFLV en España, indicaban la existencia del virus en aproximadamente el 80% de los viñedos, ante tales planteamientos bastaría diseñar un muestreo en La Mancha, en el que para un error menor del 0,025% sería necesario tomar 1.000 muestras para confirmar tales hipótesis. Todas las estimas de frecuencias que vienen acompañadas de un intervalo de confianza al nivel estadístico del 95 % como los tamaños de las muestras son relativamente grandes. Utilizamos para calcular los intervalos la aproximación normal:

$$Z_{0.5} \sqrt{9(1-9)/N} = 1.96 \sqrt{9(1-9)/N}$$

Fig. 15.- ESCUELA MUSEO DE LA VID Y DEL VINO DE MADRID



Leyenda

Nº Referencia

1	GARNACHA EN VASO	11	T FINO EN VASO	19 A	CHARDONNAY
2	TINTO FINO EN VASO	12	SEMTEMPARRADO	19 B	SAUVIGNON
3	AIREN EN VASO	13	CORDON BAJO	20	T FINO EN VASO
4	TINTO FINO EN VASO	14	ALTO	21	CAVARNET SAUVIGNON EN GUYOT
5	AIREN EN VASO	15	T FINO CORDON ALTO	22	TINTO FINO EN VASO
6	AIREN EN VASO	16	VASO	23	VINIFERAS ESPAÑOLAS (VASO)
7	TINTO FINO EN VASO	17	PIES MADRES. PORTAINJERTOS AMERICANOS	8	BASCULA
8	AIREN EN CORDON DOBLE (ALTO)	18	VARIETADES UVAS DE MESA	0	DIRECCION
9	AIREN EN CORDON DOBLE (BAJO)				
10	OMANES (PARRAL)				

donde N es el tamaño de la muestra. Sin embargo, se consideró necesario realizar un muestreo previo al estudio epidemiológico en zonas vitícolas con distintas condiciones medioambientales, a fin de comprobar si la magnitud del problema presentaba diferencias en unas y otras condiciones.

II.3.1. MUESTREOS PREVIOS.- En las zonas vitivinícolas elegidas se realizaron muestreos entre Junio y Noviembre de 1989, dirigidos, en general, a aquellas zonas donde previamente se había detectado sintomatología o algún otro problema, teniendo en cuenta los distintos tipos de suelos y el mayor número de variables posible.

En cada muestreo se inventarió la sintomatología observada, en el viñedo en general y en la cepa muestreada y se tomaron muestras tanto de suelo como de material vegetal (hojas, sarmientos y raíces), a fin de estudiar la presencia de virus y/o nematodos vectores, así como la de otros factores bióticos y abióticos que pudieran ser causa de las alteraciones observadas. Las muestras, en este caso, se tomaron siempre de suelo y material vegetal en la cepa más deprimida o con sintomatología más clara y, además, se tomó material vegetal de otras dos cepas próximas, una de las cuales se eligió en todos los casos con buen porte.

En la Tabla I se da la relación por orden cronológico de recogida de las muestras de suelo tomadas en las tres zonas vitícolas elegidas, indicando el número de orden, fecha de recogida, número de laboratorio, localidad y coordenada UTM a que pertenece, variedad, cuando se conoce, y sintomatología observada ambas codificadas y número de muestras de material vegetal tomadas en cada punto. En las muestras recolectadas en Noviembre de 1989, la sintomatología considerada fué únicamente deformación de madera, al no existir ya hoja por lo avanzado de la época.

Paralelamente se ha estudiado e incluido el material amablemente cedido por los compañeros del Centro de Diagnóstico de Aldearrubia (Salamanca) quienes realizaron *prospecciones, en colaboración con técnicos y agricultores de la Autonomía de Castilla-León, en las zonas de denominación de origen de Toro, Cebreros, Cigales, El Bierzo, Ribera de Duero y Rueda. Las muestras de material vegetal fueron recogidas en las zonas de dichas denominaciones que venían planteando problemas y mostraban una clara sintomatología, posteriormente se tomaron muestras de suelo en aquellas zonas en que se había detectado presencia de virus. En la Tabla II se recoge el total de muestras estudiadas, con indicación del número de parcelas estudiadas y muestras recogidas en cada una, en los distintos municipios, ordenadas según la denominación de origen y señalando su coordenada UTM.*

**II.3.2. MUESTREO EN LA REGION DE LA MANCHA.**- Tras los análisis de los resultados de los muestreos previos se centró el estudio en los viñedos de La Mancha debido, como ya se ha indicado, a la gran extensión del cultivo en la zona, su homogeneidad y peculiares características edafoclimáticas.

Por lo tanto, durante los meses de Noviembre (1989), Mayo y Junio (1990) se realizaron en la zona una serie de muestreos en los que únicamente se recogió material vegetal (sarmientos y brotes jóvenes respectivamente) a fin de realizar en el laboratorio el seguimiento de la presencia y titulación del virus a lo largo del año, tanto en material reciente como en el procedente de su estaquillado en invernadero. Para ello se tomaron dos muestras en cada punto, al azar en las recolectadas a lo largo de Noviembre de 1989 y tomando una al azar y eligiendo para la segunda aquella que mostraba mayor

deformación de madera en el muestreo de Mayo-Junio de 1990. En la Tabla III se relacionan los puntos de muestreo, con indicación de fechas de recogida, localidad y coordenada UTM correspondiente a ambos muestreos.

En Diciembre de 1990 se llevó a cabo un nuevo muestreo de madera deformada para estaquillar en invernadero y seguir su evolución, a la par se tomó al azar una muestra de suelo por cada 5 de madera, la relación de todas ellas se refleja en la Tabla IV, en la que se indica, fecha, localidad, coordenada, UTM y punto en que se tomó suelo.

Posteriormente, a lo largo de 1991, se realizaron muestreos periódicos de suelo y planta en aquellos puntos donde se habían obtenido resultados positivos en muestreos anteriores, a fin de comprobar la correlación virus-nematodo, estudiar la biología del nematodo, obtener material para la realización de pruebas de transmisión en laboratorio y estudiar en estos puntos en qué parte de la planta y época del año se conseguían lecturas mayores por ELISA.

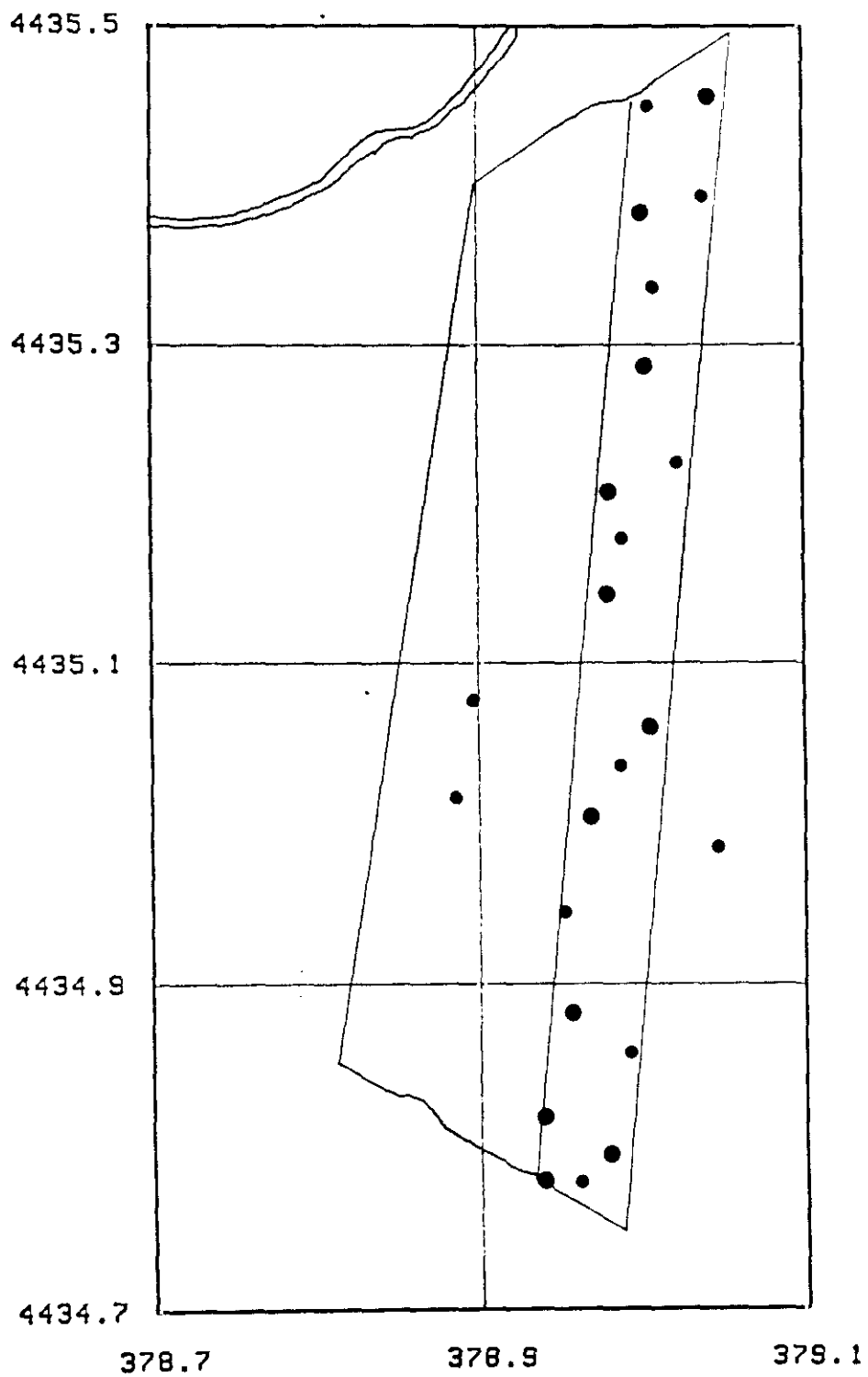
**II.3.3. MUESTREOS EN FINCAS EXPERIMENTALES.**- Debido a que en la parcela dedicada a viña en la finca de "**La Higuera**" se venían observando clorosis, desde hacía algunos años, y tras comprobar su correspondencia con la presencia de virus se diseñó en dicha parcela un muestreo al azar por ordenador (Fig.16) a fin de comprobar el grado de infección existente, de acuerdo con el diseño se tomaron 30 muestras de material vegetal y 10 de suelo.

A la vista de los resultados se realizó un seguimiento de las cepas infectadas, a fin de comprobar la presencia del virus en las distintas partes de la planta, todo a lo largo del año y comprobar los posibles efectos de la termoterapia en los meses más cálidos, dadas las altas temperaturas que se alcanzan en la zona en los meses estivales. Para ello se tomaba material vegetal de 15 cepas, cada semana durante los meses de primavera, verano y otoño de 1990 y mensualmente a lo largo del invierno hasta tomar los primeros brotes en la primavera de 1991, cerrándose así el ciclo vegetativo. Se tomaron también muestras de tierra a distintas profundidades para comprobar la presencia o ausencia del vector.

En Agosto de 1990, cuando la sintomatología era más patente, se diseñó un nuevo muestreo, en que tomando como centro alguna de las cepas positivas en que se venía realizando el seguimiento, se hacía una toma de las cepas colindantes de forma radial, con ello se pretendía discernir si la infección se venía propagando a través del vector o era debida al patrón ó material de injerto; de este modo se recogió una media de 25 muestras de material vegetal por cada punto lo que supone un total de 294 muestras.

A fin de establecer la correlación entre la sintomatología observada y la presencia de virus se realizaron tres observaciones visuales en toda la finca, con sus correspondientes muestreos, cepa a cepa a lo largo del mes de Agosto, representando un total de 3832 muestras.

Para comprobar la incidencia de la enfermedad en la producción, en la época de recolección se estimó la producción de 100 cepas positivas de virosis frente a 100 sanas, pesándose el total de uva procedente de cada cepa.



- Muestra material vegetal
- " " " y suelo

Fig. 16.- Muestreo en la Finca "La Higuera"

La existencia en la **Escuela Museo de la Vid y del Vino de Madrid** de variedades de vid bien tipificadas brindaba la oportunidad de comprobar la relación síntoma-variedad-virosis. A tal fin se realizó, igualmente por ordenador, un diseño (Fig. 17) que implicó la toma en Junio de 1990, de 126 muestras pertenecientes a 6 variedades distintas: Airén, Cavernet-Souvignon, Chadornnay, Garnacha, Ohanes y Tinto Fino.

Posteriormente se realizaron dos muestreos sucesivos, siempre de material vegetal, el primero de 11 muestras de las variedades de vid más ampliamente cultivadas en Castilla-La Mancha, Airén y Tinto Fino, que presentaban fuertes síntomas de deformación de madera. El otro consistió en la toma de 49 muestras de las mismas variedades en dos filas de cepas contiguas, lo que igualmente nos permitirá establecer la relación sintomatología-virosis y el "pattern" de transmisión por vector o injerto/patrón. El total de muestras tomadas en este caso fué de 178.

En la colección de variedades de la **Finca del Departamento de Viticultura y Enología del Centro de Investigaciones Agrarias de la Consejería de Agricultura y Alimentación de La Rioja** se tomaron muestras de las siguientes: Viura, Malvasía, Garnacha blanca, Garnacha tinta, Tempranillo, Mazuelo y Graciano. De estas mismas variedades se estudió, en distintas partes de la planta y en diferentes épocas del año, material estaquillado en invernadero, enviado en repetidas ocasiones desde esta finca.

En la tercera repetición del campo de variedades de la **Finca de Investigación y Experimentación Vitivinícola de Tomelloso. (Consejería de Agricultura de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha)** se tomaron muestras de las siguientes: cepa 12 de la variedad Merlot, la 16 de la Cencibel, la 16 de la Pedro Ximenez, la 14 de la Cavernet franc, la 13 de Airén, la 15 de Albillo, la 12 de Garnacha, la 10 de Chadornnay, la 8 de



Fig. 17.- Diseño por ordenador de toma de muestras al azar en Escuela Museo de la Vid y del Vino de Madrid

Cavernet-Sauvignon, la 6 de Macabeo, la 15 de Tinto Velasco, la 4 de Malvar, la 3 de Ugni-blanc, la 4 de Moscatel grano menudo, la 6 de Monastrel, la 9 de Pinot Noir, la 10 de Messeguera, la 12 de Tintorera, la 14 de Sauvignon, la 15 de Coloraillo, la 16 de Riesling y la 17 de Torrontés; y cinco muestras de la colección de variedades de portainjertos y viníferas. Las 22 muestras del campo de variedades habían sido tratadas con DD.

#### II.4. RECOGIDA Y PREPARACION DE MUESTRAS.

---

La recogida y preparación de muestras puede tener gran influencia en los resultados que se obtengan, por lo que debe hacerse de acuerdo con los fines perseguidos. En el caso de los nematodos fitoparásitos hay que tener en cuenta que al depender del hospedador tienen una distribución espacial en agregados o contagiosa, una distribución vertical o temporal, dependiendo de su biología y medio ambiente. En el caso de los virus, también pueden existir variaciones en su concentración en las distintas partes de la planta y en las diferentes épocas del año. Por tanto, se describe a continuación con detalle el procedimiento seguido para la toma de muestras de suelo y material vegetal.

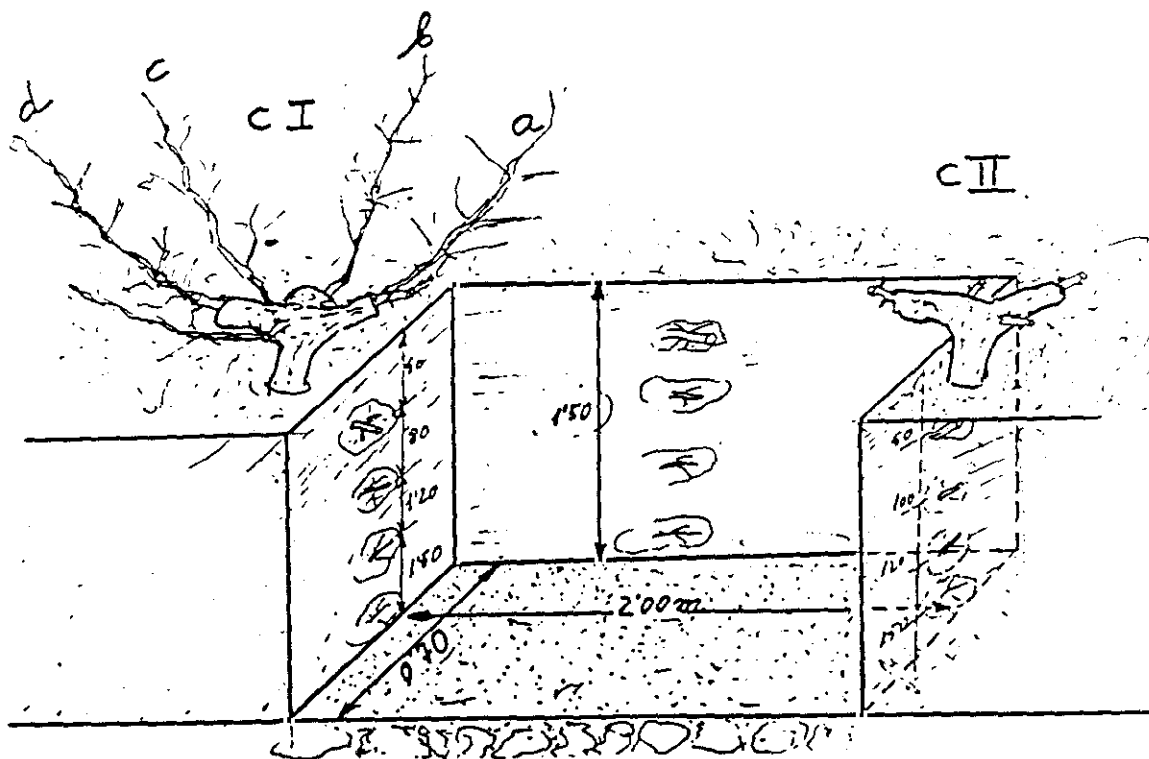
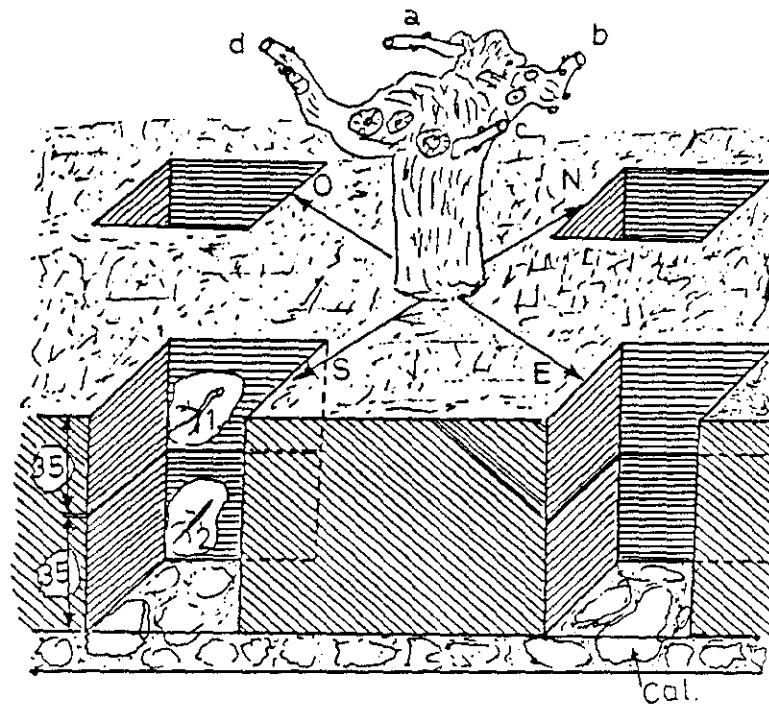
**II.4.1. MUESTRAS DE SUELO.**- Para la toma ordinaria de una muestra de suelo se utilizan como instrumentos una azadilla y en ocasiones una sonda o un pico, dependiendo del tipo de suelo. Con la azadilla se eliminan los primeros centímetros de la capa superficial del suelo y a partir de este punto se cava, en la orientación conveniente, hasta encontrar las raicillas secundarias de la planta, en cuya proximidad se toma una porción de tierra y raíces de unos 500 g aproximadamente, en el mismo punto se vuelve a cavar hasta encontrar un horizonte distinto de donde se toma una segunda muestra de características similares. Las muestras se introducen en sendas bolsas de plástico y

se cierran, para evitar la pérdida de humedad y se etiquetan debidamente con un número correspondiente al cuaderno de campo, de este modo se transporta al laboratorio. Paralelamente se anotan en el cuaderno de campo todos los datos de interés sobre localidad, coordenada UTM, sintomatología observada y cualquier otro dato de interés para el estudio del material recogido.

Para el estudio de las poblaciones de nematodos en los distintos horizontes de un punto concreto con fuerte infección de virus en "La Higuera" y Socuéllamos, se diseñaron una serie de muestreos en invierno, primavera, verano y otoño, en zonas de coincidencia de puntos positivos de virus y de *Xiphinema* que además eran focos claramente viróticos. Las zonas elegidas fueron: Socuéllamos, una zona de mosaico amarillo; Ossa de Montiel, también zona de mosaico amarillo; Valdepeñas, en los parajes "Los Córdoba" y "La Encomienda". Viñedos con fuertes síntomas de virus y, por último, entre Valdepeñas y Daimiel se tomó un punto con mosaico amarillo, que siempre da positivo de virus, aunque no se ha encontrado el vector.

La toma de muestras se hizo en las cuatro orientaciones de la cepa y a distintas profundidades (Fig. 18). Simultáneamente se tomaron muestras de material vegetal en las distintas orientaciones de la cepa (N.S.E.O.) y de raíces de distintas tomas y a diferentes profundidades, para analizar por ELISA.

En la Finca Experimental "La Higuera" se hace un corte entre las cepas I y II de 2,50 x 0,70 x 1,50 m de profundidad y se toman muestras de raíz y de tierra en el talud junto a CI y CII y en el lateral entre ambas cepas a 1,25, 0,40, 0,80, 1,20 y 1,50 m de profundidad (Fig. 19).



Figs. 18 y 19:—Esquemas de la metodología seguida en la toma de mues en distintas orientaciones y profundidades, en Socuéllamos (fig.18) y La Higuera (Fig.19)

**II.4.2. MUESTRAS DE MATERIAL VEGETAL.** - En los muestreos previos de las zonas vitícolas y fincas experimentales se tomaron muestras de cepas aparentemente viróticas. Las muestras se tomaron en los brotes terminales de diferentes partes de la planta, así como de hojas y tallos más viejos, próximos a la base de la cepa, así como de raíz.

De acuerdo con los resultados obtenidos, en los siguientes muestreos se buscaba cuidadosamente la planta que presentaba una sintomatología más acusada, tomando igualmente tallo, raíz y hoja, y en la misma viña se tomaron de igual modo otras tres muestras de distintas cepas una de ellas con porte normal o ausencia de síntomas. Las muestras se introducen en bolsas convenientemente etiquetadas y se trasladan en nevera al laboratorio. En las muestras de otoño se tomaron 5 varetas de unas cinco yemas de cepas elegidas al azar.

#### **II.5. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN Y ESTUDIO DE NEMATODOS DEL SUELO**

Existe un gran número de técnicas de extracción de nematodos, muy variadas en su complejidad y eficacia, desde el sencillo método de Cobb por tamizado, que sólo requiere dos cubos y dos cedazos de distinta malla, hasta el complejo elutriador diseñado por SEINHORST (1956 y 1962).

De todos ellos, el de centrifugación en azúcar (NOMBELA y BELLO, 1983) puede considerarse como el método de extracción más general, mediante el cual se obtiene la mayor parte de los nematodos contenidos en una muestra basándose en su flotabilidad, siendo de especial aplicación para nematodos de baja movilidad y huevos. Sin embargo, para el estudio de los grandes Longidóridos, entre los que se encuentran los

transmisores de virus es mucho más eficaz el método de FLEGG (1967), basado en su movilidad y velocidad de sedimentación, que es una modificación de la técnica de decantación-fijación de COBB y que es el que básicamente se ha utilizado en este estudio, junto al de centrifugación, antes citado, que se utilizó en el muestreo previo y que permitió la extracción de los jóvenes de primer estadio de menor tamaño.

En este tipo de extracciones pueden distinguirse una serie de pasos previos a la preparación de muestras y el proceso de extracción propiamente dicho, que es diferente si se parte de una muestra de suelo, raíz o fracción peri-radicular.

II.5.1. PREPARACION DE MUESTRAS DE SUELO.- En el laboratorio la muestra se etiqueta y se registra con el número correspondiente en el cuaderno de laboratorio, donde se anotan todos los datos recogidos en campo. Para su conservación se mantiene en cámara a 5° C hasta el momento de su extracción, para evitar en lo posible, la variación de poblaciones de nematodos desde el momento de la recolección.

La preparación de la muestra para la extracción de nematodos comienza vertiendo el contenido de la bolsa sobre un papel de filtro, procediendo a separar cuidadosamente las raíces del suelo. Después de homogeneizado el suelo se pasa por un tamiz de 2 mm de malla, con objeto de eliminar la grava, y se anotan en una hoja de características sus rasgos más destacables: textura, humedad, compactación, presencia de raíces de malas hierbas. Otra fracción se utiliza para la extracción de nematodos.

En estudios nematológicos el aislar los nematodos contenidos en las muestras de suelo y raíz, con objeto de proceder a su posterior recuento, determinación y estudio consitituye uno de los aspectos fundamentales. El método empleado para ello será tanto más eficaz cuanto mayor número de nematodos consiga extraer, después de eliminar, a ser posible, los demás componentes del suelo (arcilla, arena, limo, materia orgánica, etc.) y su elección depende del tipo de nematodo que se investigue.

II.5.2. METODO DE SEDIMENTACION - DECANTACION (Fig. 20 A).- Se ponen 250 cc de agua en un vaso graduado y se le añade suelo cribado y homogeneizado como se indica arriba, suficiente hasta enrasar a 450 cc con lo que dará una media de 200 cc de suelo independiente de los espacios ocupados por el aire. La suspensión resultante se vierte en un vaso de plástico de un litro que se enrasa con agua.

Para los suelos arenosos es suficiente que se remoje durante media hora, pero para las muestras arcillosas se precisa una hora. Durante el periodo que permanece en agua la suspensión se agita dos o tres veces con una placa circular de diámetro poco menor que el del vaso y taladrada con numerosos agujeros cónicos, removiendo rápidamente hacia arriba. Una vez pasado el periodo de remojo necesario de la muestra, tras enrasarlo con agua, se mueve profundamente a mano para suspender las partículas. Después de 25 segundos de sedimentación, el fluido sobrenadante se decanta a través de una batería de 3 cedazos de 150  $\mu\text{m}$  de apertura de malla.

El residuo de los cedazos se lava de un modo suave y se recoge en un vaso. El residuo de la filtración se enrasa con agua, se remueve de nuevo profundamente y, tras 15 segundos de sedimentación, se decanta a través de la misma batería de cedazos. El residuo de los cedazos se lava cuidadosamente y se recoge juntamente con el anterior.

Los filtrados así recogidos se agitan suavemente para suspender todas las partículas antes de verterlo sobre el cedazo de nylon de 90  $\mu\text{m}$  de apertura de malla, montado sobre un anillo de polietileno, que después se coloca en un embudo Baerman con agua suficiente para que el filtro y los residuos queden sumergidos. Pasadas 20 horas se pueden recoger en el extremo del embudo en una copa de unos 25 cc de agua que contendrá los nematodos de la muestra.

**H.5.3. METODO DE CENTRIFUGACION.** (Fig. 20 B).- Como en el caso anterior, del suelo tamizado se toman 100 cc, que se depositan en una cápsula de porcelana, junto con una etiqueta de plástico en la que figure el número de muestra; se cubre de agua y se deja durante un cuarto de hora como mínimo, antes de proceder a la extracción propiamente dicha. En el caso de que la muestra esté húmeda y no se pueda tamizar, se eliminan con la mano las piedras y fibras y se ponen directamente los 100 cc. El bocal se completa con agua, si es necesario, para que quede lleno hasta el borde, dejándolo reposar 2 horas como mínimo o mejor toda una noche, para que sedimente el limo y suban a la superficie los restos vegetales, los cuales se eliminan a presión sobre la superficie del bocal.

Si se sospecha la presencia de Heterodera, es necesario colocar una banda de papel de filtro de una anchura de unos 10 cm alrededor del bocal antes de llenarlo, para que los quistes se adhieran a ella. En este caso, la banda se retirará cuidadosamente para observarla bajo el microscopio estereoscópico a 20 aumentos, antes de proceder a la eliminación de las fibras vegetales.

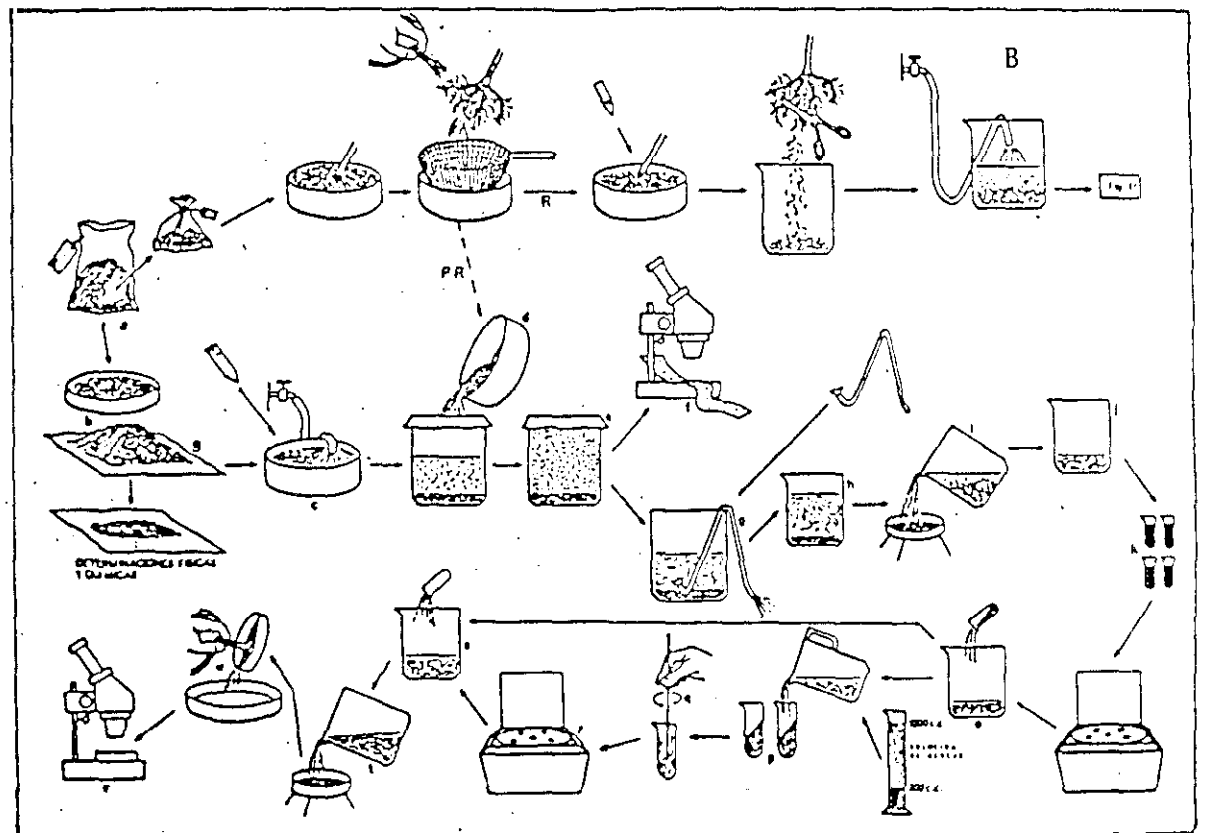
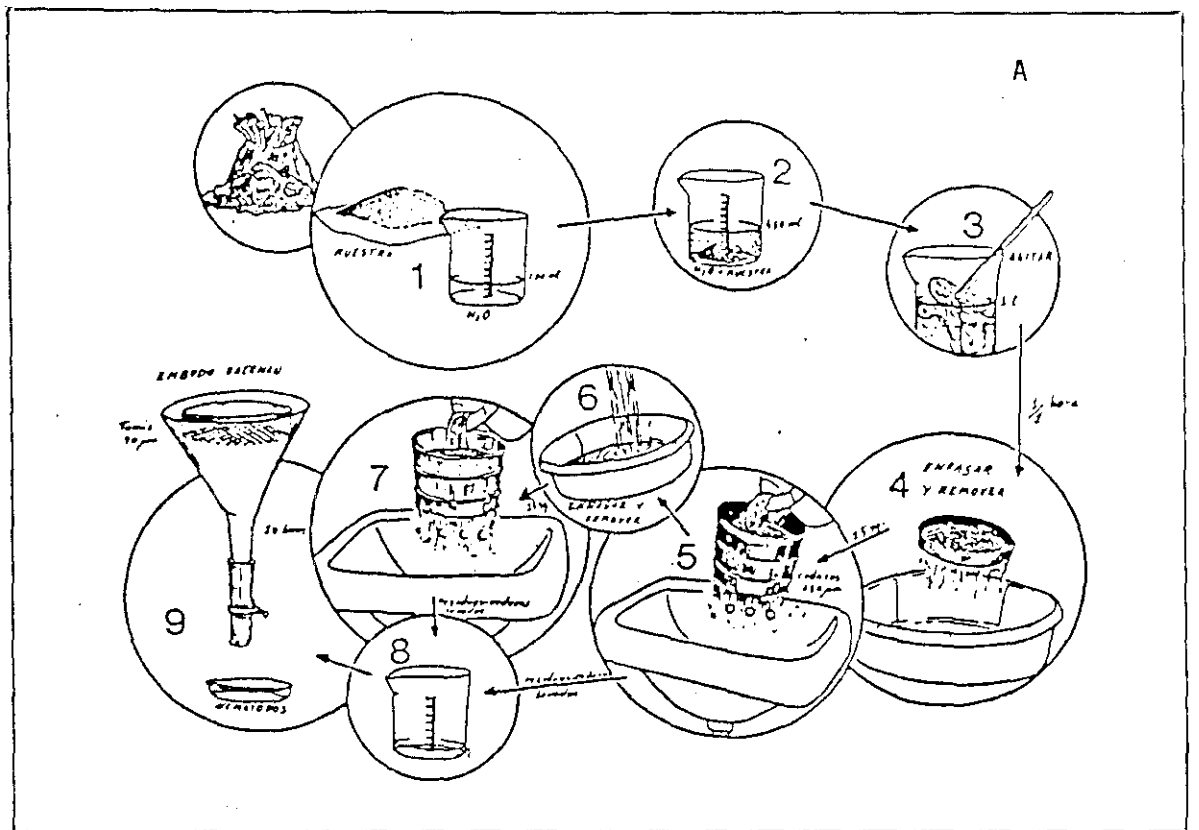


Fig. 20

A.-Esquema del método de extracción por sedimentación filtración.

B.- Idem. del método por centrifugación en azúcar.

Para eliminar parte de la arcilla que está en suspensión se utilizan unos sifones de filtración con un tamiz de 28  $\mu\text{m}$ , mediante los cuales el contenido del bocal se reduce, y se trasvasa a un recipiente graduado de un volumen aproximado de 1000 cc, dejándolo reposar alrededor de una hora; este recipiente contiene fundamentalmente los nematodos y el limo.

Tras la sedimentación se filtra por un tamiz de 28  $\mu\text{m}$  reduciendo el volumen a unos 300 cc, los cuales se distribuyen uniformemente entre cuatro tubos de centrifuga, procurando que su contenido no llegue al borde, y se somete a unas 1800 revoluciones durante 3 minutos. El líquido sobrenadante de los tubos se recoge en un recipiente y se añade a los tubos de centrifuga una solución de azúcar al 30% homogeneizando el contenido perfectamente con una espátula antes de volver a introducirlos en la centrifuga, esta vez sólo durante 30 segundos. El líquido sobrenadante se recoge en un recipiente que contiene la suspensión procedente de la primera centrifugación y se filtra todo a continuación por un tamiz de 20  $\mu\text{m}$ , al mismo tiempo que se lava intensamente con agua para eliminar el azúcar. El tamiz se inclina y se lava cuidadosamente haciendo escurrir el agua hacia la parte inferior para recoger todo su contenido en una sola porción de dicho tamiz, pasando a continuación a una placa de Petri; así queda lista la muestra para su conservación y recuento bajo el microscopio estereoscópico, después de haberla dejado reposar unos minutos.

**II.5.4. MÉTODOS DE ESTUDIO CUANTITATIVO Y CUALITATIVO DE LOS NEMATODOS** .- En este apartado se describen los métodos empleados para la cuantificación de los nematodos extraídos, así como los métodos y caracteres morfológicos utilizados en la determinación de las especies.

II.5.4.1. Recuento, aislamiento, fijación y montaje.- El recuento de los nematodos se realiza en placas de Petri de fondo plano, bajo microscopio estereoscópico a 30 aumentos; si el número de nematodos es pequeño se recuentan directamente, pero si se observa una gran cantidad de ellos, se divide la placa en cuadrantes con un lápiz grasoso. Los resultados se anotan en una hoja de recuento en la que constan los géneros más frecuentes estudiados. La cantidad de nematodos presentes en 1.000 cc. de suelo se obtienen multiplicando por 5 el número obtenido en el recuento, ya que éste está referido a 200 cc.

El aislamiento de los nematodos se realiza inmediatamente después de la extracción para evitar el crecimiento de micelios de hongos en la placa. Los nematodos se aíslan con un pincel y se colocan sobre un portaobjetos, donde previamente se ha colocado una gota de agua destilada. El número de nematodos por preparación no sobrepasará a 10, poniéndose en un pocillo con agua destilada el resto de los nematodos, cuyo estudio se considere de interés, para su posterior montaje y fijación.

La muerte de los nematodos aislados en el portaobjetos se realiza calentando ligeramente éste con la llama de un mechero de alcohol para que se evapore al mismo tiempo la mayor parte de la gota de agua, procurando que no llegue a evaporarse en su totalidad, a fin de que los nematodos no se contraigan. A continuación se añade una pequeña gota de azul-lactofenol y se desliza suavemente sobre ella un cubreobjetos. Por último la preparación se bordea con "glyceel", primero en cuatro puntos y, una vez estos secos, en su totalidad.

La muerte y fijación de los individuos considerados de interés, previamente aislados en el pocillo, se realiza en el mismo día para evitar así que crezcan los micelios de hongos sobre ellos. Con una pipeta se procede a retirar la mayor parte de agua del pocillo y a continuación se añade fijador I, previamente calentado a 75-80° C, al baño María y se tapa el pocillo. Transcurridos unos días se destapa el pocillo y se introduce en un recipiente de cierre hermético con alcohol de 96° y éste, a su vez, se coloca en una estufa durante 12 horas a 39° C; transcurrido este tiempo el pocillo se saca de la atmósfera de alcohol y se deja evaporar lentamente en la estufa.

Una vez evaporado el fijador I, se añade fijador II y se vuelve a introducir en la estufa hasta que éste se evapore; por último se añade fijador III, introduciéndose de nuevo en la estufa, en la que debe permanecer hasta una semana. Posteriormente se extrae el pocillo de la estufa y se lleva a un desecador que contiene cloruro cálcico o "silicagel", donde permanecerá en glicerina hasta el momento de su montaje.

La composición de los fijadores utilizados siguiendo el método de DE GRISSE (1969) es la siguiente:

**Fijador I:**

Agua destilada .....	89 cc
Formol 40% .....	10 cc
Glicerina .....	1 cc

**Fijador II:**

Etanol 96% .....	95 cc
Glicerina .....	5 cc

**Fijador III:**

Etanol 96% .....	50 cc
Glicerina .....	50 cc

**II.5.4.2. Conservacion del extracto de la muestra.**- Realizado el aislamiento de los nematodos para su montaje, el contenido de la placa de Petri con los nematodos restantes se pasa a una copa graduada, dejándose sedimentar como mínimo durante dos horas. Una vez sedimentado se reduce el agua con un frasco lavador, pasándose el contenido a un frasquito de 15 cc de volumen, para su posterior conservación. A continuación, la copa graduada se lava con fijador I, previamente calentado a 75-80° C al baño María, y éste se vierte en el frasco de conservación, con lo que los nematodos quedan fijados. Posteriormente el frasco se tapa con un tapón de corcho, quedando dispuesto para ser etiquetado. En la etiqueta se indica el número de la muestra, así como la planta, localidad y fecha en que se prepara el frasco para su conservación.

**II.5.4.3. Observaciones microscopicas.**- Las observaciones se han realizado de 400 a 1.200 aumentos, utilizando un microscopio "ZEISS" con contraste de fases y cámara clara incorporados.

Mediante inmersión y contraste de fases se han estudiado las características morfológicas de los nematodos, permitiendo su determinación a nivel de género; y por medio del estudio morfo-métrico de los ejemplares, complementados con dibujos a cámara clara, se ha llegado a su determinación a nivel de especie, utilizando principalmente los índices somatométricos de De Man.

Indices de DE MAN (Fig. 21):

$L =$  Longitud total en mm

$$a = \frac{\text{Longitud total}}{\text{anchura máxima}}$$

$$b = \frac{\text{Longitud total}}{\text{Longitud del extremo anterior hasta el final del esofago}}$$

$$c = \frac{\text{Longitud total}}{\text{Longitud de la cola}}$$

$$V = \frac{\text{Distancia del extremo anterior de la vulva} \times 100}{\text{Longitud total}}$$

SOUTHEY (1970) introduce la longitud en  $\mu\text{m}$  del odontostilo y el siguiente índice:

$$c' = \frac{\text{Distancia del ano al extremo posterior}}{\text{Diámetro anal}}$$

HOOPER y SOUTHEY (1973) añaden las longitudes del odontostilo (od) y odontoforo (odp) en  $\mu\text{m}$  y el índice: oa-gr= Distancia en  $\mu\text{m}$  del anillo guía del estilete al extremo anterior.

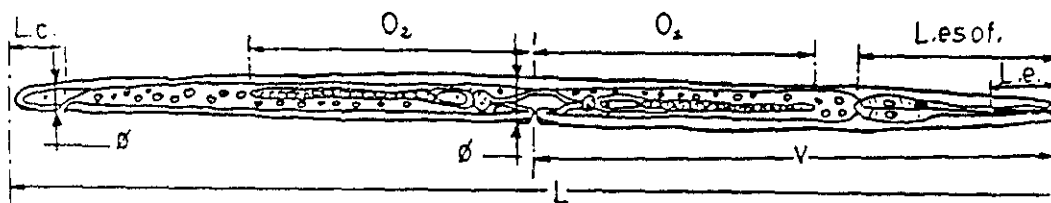


Fig. 21.- Índices de DE MAN:  $L$  = longitud total;  $v$  = distancia región anterior - vulva;  $L_{esof.}$  = longitud del esófago;  $O_1$  y  $O_2$  = longitud ramas ováricas;  $L_c$  = longitud de la región caudal

## II.6. TÉCNICAS PARA EL ESTUDIO DEL MATERIAL VEGETAL

Ya en el laboratorio tanto el material verde como los sarmientos se preparan y procesan inmediatamente de acuerdo con los fines y métodos elegidos en cada momento. En algunos casos, debido a la cantidad de muestras recogidas, se ha conservado alguna mediante congelación a 20°C.

Por otro lado, los sarmientos se estaquillaron en mesa caliente (24° C) en invernadero para su brotación rápida. Para ello se cortan varetas de tres yemas, enterrando dos de ellas en arena y parafinando el extremo libre del sarmiento, periódicamente se hacen riegos con solución nutritiva. Parte de la madera también se conserva en frigorífico a 4° C para su posterior estudio.

## II.7. TECNICAS PARA LA DETECCION DEL VIRUS

Las técnicas que se han utilizado para la detección del virus son: 1) transmisión mecánica a planta herbácea; 2) tinción negativa; 3) inmunoelectromicroscopía (IEM); 4) secciones ultrafinas; 5) métodos serológicos (ELISA - DAS, Biotina - streptavidina); 6) hibridaciones de ácidos nucleicos, que a continuación se describen.

II.7.1. TRANSMISION MECANICA A PLANTA HERBACEA.- Para el estudio del virus en planta herbácea, se transmite a plantas susceptibles en las que produce síntomas claros en periodos cortos de tiempo según las condiciones de invernadero. Se ha utilizado, a tal fin, *Chenopodium quinoa* Willd, *Gomphrena globosa* L. y *Petunia hybrida* L. Para ello se inoculan plántulas de 2 a 4 hojas del modo siguiente:

Para preparar el inóculo se homegeiniza el material vegetal infectado en un tampón fosfato pH 6,5 y molaridad 0,05, con 2,5% de nicotina si el material infectado procede de vid. Se espolvorean las hojas de la plántula a infectar con un abrasivo (carborundo 600 mesh) para provocar heridas en la superficie foliar, a continuación se frota suavemente el inóculo sobre las hojas utilizando guantes o sirviéndose de un bastoncillo de algodón.

Se dejan dos tipos de planta testigo, unas inoculadas con tampón en las mismas condiciones que las anteriores y otro lote sin inocular para apreciar el efecto de las heridas realizadas al hacer la transmisión.

II.7.2. TINCION NEGATIVA (Microscopía Electrónica).- El Microscopio Electrónico nos permite, gracias a la sencilla técnica de las tinciones negativas, conocer la forma y el tamaño de las partículas virales presentes en una disolución de savia, medio de extracción, purificado, etc.

Esta información morfológica es de gran interés en diagnóstico o en investigación pues permite conocer frecuentemente al menos el grupo a que pertenece el virus en estudio. Para su realización es conveniente seleccionar la parte de la planta que presente mayor concentración de virus. Suelen preferirse las zonas con más síntomas o las próximas a ellas.

Son varios los agentes de tinción utilizados: PTA (ácido fosfotúngstico), acetato de uranilo, formiato de uranilo, molibdato amónico, etc. Todos ellos tienen en común el ser sales de metales pesados que se unen en la superficie de la partícula haciendo electrodensos los contornos de ésta, mientras que el interior de la partícula sí puede ser atravesado por los electrones.

No es posible utilizar un sólo colorante de forma universal, ya que cada virus necesita una concentración, tampón y pH determinados, para GFLV se utilizó PTA a pH 6,5 y a una concentración del 2%. La técnica se ha desarrollado de dos maneras diferentes:

**A.** - Triturar la muestra con unas gotas de PTA sobre un porta con unas pinzas o varilla de vidrio redondeada.

- Poner una gota de la muestra triturada (que no esté muy verde, preferiblemente de color amarillo verde pálido) sobre una rejilla del Microscopio Electrónico.

- Dejar dos minutos a temperatura ambiente.

- Retirar el líquido en exceso con una pipeta Pasteur y secar con un papel de filtro tocando suavemente la rejilla. Dejar secar a temperatura ambiente y observar al Microscopio Electrónico.

**B.**- Triturar la muestra en un mortero con un tampón adecuado en una proporción 1/10.

- Centrifugar 10 minutos a 10.000 RP; en una microfuga.

- Llevar una gota del sobrenadante a un porta y mezclar con otra gota de PTA. Dejar 2 minutos a temperatura ambiente.

- Retirar el líquido en exceso con una pipeta Pasteur y secar con un papel de filtro tocando suavemente la rejilla. Dejar secar a temperatura ambiente y observar al Microscopio Electrónico.

**II.7.3. INMUNOELECTROMICROSCOPIA (I.E.M.)**- La técnica I.E.M. combina la gran sensibilidad de la serología con el alto poder de resolución de la microscopia electrónica. Permite observar directamente la interacción virus-anticuerpo y cuando esta se produce, deducir la relación entre antígeno y anticuerpo con valor de diagnóstico. En realidad es un ELISA efectuado sobre una rejilla del microscopio electrónico donde no utilizamos

un conjugado ni un revelador con sustrato. Se tapiza la rejilla con anticuerpos, a continuación se pone el antígeno, y según el método se añade un segundo anticuerpo. Esta asociación anticuerpo-antígeno o anticuerpo-antígeno-anticuerpo puede ser observada al microscopio. Se ha utilizado para la detección del virus tanto en tejidos vegetales como en los vectores.

Se han utilizado tres técnicas de IEM: ISEM "inmunosorbent electromicroscopy", que consiste en tapizar una rejilla con antisuero, añadir el antígeno y posteriormente teñir; AVM "antiserum virus mixture" que, como su nombre indica, es una mezcla de virus y antisueros que se coloca conjuntamente en la rejilla y **Decoración**, que es básicamente como ISEM, pero añadiendo después del antígeno o anticuerpos que recubren la partícula, decorándola.

II.7.3.1. ISEM (Inmunosorbent Electromicroscopy).- El proceso a seguir para su realización, es el siguiente:

- Triturar la muestra en el tampón apropiado en una proporción 1/10.
- Centrifugar en microfuga a 10.000 RPM durante 10 minutos.
- Preparar un porta parafinado con divisiones en cada rejilla y ponerlo en una Placa de Petri con 3 papeles Watmann humedecidos.
- Sobre este porta poner pequeñas gotas de 10  $\mu$ l) de antisuero diluido 1/500 en tampón Sörensens 66 mM pH 6,5. Sobre estas gotas colocar las rejillas. Incubar 1 hora a 37° C. Lavar las rejillas durante 10 minutos en el mismo tampón y a temperatura ambiente. Situar las rejillas de tal manera que la parte que haya estado en contacto con el antisuero esté hacia el tampón.

- Poner en otro porta parafinado con las adecuadas divisiones gotas de 10 ml de la muestra. Colocar todo en una placa de Petri con papel humedecido como en 1). Poner las rejillas nadando sobre la muestra con el tapizado hacia el antígeno e incubar 2 horas a 37° C. Lavar dejando caer 10 gotas de agua destilada suavemente sobre la rejilla. Teñir con PTA dejando caer 1 ó 2 gotas del colorante y procurando que éste esté en contacto con la rejilla sólo unos segundos. Retirar cuidadosamente el PTA sobrante tocando la rejilla tangencialmente con trozos de papel de filtro, dejar secar y observar al microscopio electrónico.

#### II.7.3.2. AVM (Antiserum Virus Mixture):

- Se tritura en el tampón apropiado y en la proporción 1:10. Centrifugar en microfuga durante 10 minutos.

- Preparar un porta parafinado con divisiones para cada rejilla y ponerlo en una placa de Petri con 3 papeles Whatmann humedecidos, poner sobre él pequeñas gotas (de 10 µl) de antisuero diluido 1/500 en tampón Sörensens 66 mM pH 6,5 junto con 10 µl de muestra y mezclar con la misma micropipeta. Sobre estas gotas colocar las rejillas.

- Incubar 1 hora a 37° C.

- Lavar las rejillas durante 10 minutos en el mismo tampón y a temperatura ambiente. Situar las rejillas de tal manera que la parte que haya estado en contacto con el antisuero esté hacia el tampón.

- Poner en otro porta parafinado con las adecuadas divisiones gotas de 10 µl de la muestra. Colocar todo en una placa de Petri con papel humedecido como en 1).

- Poner las rejillas nadando sobre la muestra con el tapizado hacia el antígeno e incubar 2 horas a 37° C.

- Lavar dejando caer 10 gotas de agua destilada suavemente sobre la rejilla.

- Teñir con PTA dejando caer 1 ó 2 gotas del colorante y procurando que esté en contacto con la rejilla sólo unos segundos.
- Retirar cuidadosamente el PTA sobrante tocando la rejilla tangencialmente con trozos de papel de filtro.
- Dejar secar y observar al microscopio electrónico.

#### II.7.3.3. Decoracion:

- Triturar la muestra en el tampón apropiado y en la proporción 1:10. Centrifugar en microfuga a 10.000 RPM durante 10 minutos.
- Preparar un porta parafinado con divisiones para cada rejilla y ponerlo en placa de Petri con 3 papeles Whatmann humedecidos, sobre este porta poner pequeñas gotas (de 10  $\mu$ l) de antisuero diluido 1/500 en tampón Sörensens 66 mM pH 6,5. Sobre estas gotas colocar las rejillas.
- Incubar 1 hora a 37° C.
- Lavar la rejilla durante 10 minutos en el mismo tampón y a temperatura ambiente. Situar las rejillas de tal manera que la parte que haya estado en contacto con el antisuero está hacia el tampón.
- Poner en otro porta parafinado, con las adecuadas divisiones, gotas de 10 ml de la muestra.
- Colocar todo en una placa de Petri con papel humedecido como en 1).
- Poner las rejillas nadando sobre la muestra con el tapizado hacia en antígeno.
- Incubar 2 horas a 37° C.
- Lavar dejando caer 10 gotas de agua destilada suavemente sobre la rejilla. Sobre este porta poner pequeñas gotas (de 10  $\mu$ l) de antisuero diluido 1/500 en tampón Sörensens 66 mM pH 6,5. Sobre estas gotas colocar las rejillas.
- Incubar una hora a 37 ° C.

- Lavar dejando caer 10 gotas de agua destilada suavemente en la rejilla.
- Teñir con PTA, dejando caer 1 ó 2 gotas del colorante, procurando que éste esté en contacto con la rejilla sólo unos segundos.
- Retirar cuidadosamente el PTA tocando la rejilla tangencialmente con trozos de papel de filtro.
- Dejar secar y observar al microscopio electrónico.

**NOTA:** Siempre que se utilice acetato de uranilo en cualquiera de estos tres métodos, es imprescindible lavar la rejilla con agua destilada para arrastrar el tampón fosfato, que es incompatible con el acetato de uranilo y produce fuertes precipitados sobre la rejilla.

#### II.7.3.4 Tampones y colorantes necesarios:

- Tampón Fosfato Sörensens (Preparar previamente las soluciones madre A y B):
  - A) 1/15 M  $KPO_4 \cdot H_2O$ . Pesar 9,06 g y llevarlo hasta 1 litro de agua destilada.
  - B) 1/15 M  $Na_2PO_4H \cdot 2 H_2O$ . Pesar 11,8 g y llevar hasta 1 litro con agua destilada.

Para un pH 6,6: 73,2 ml de A y añadir 26,8 ml de B

Para un pH 7: 39,2 ml de A + 60,8 ml de B

- Colorante PTA
  - 2 g de ácido fosfotúngstico
  - disolver en 80 ml de agua destilada
  - ajustar el pH a 6,9 con NaOH o KOH 1 N
  - completar a 100 ml con agua destilada

II.7.4. SECCIONES ULTRAFINAS.- Para el estudio de las variaciones ultraestructurales provocadas tanto en células de plantas indicadoras como de vid infectadas con GFLV, se han examinado secciones ultrafinas de estos tejidos por microscopía electrónica de transmisión, así como de controles sanos para su comparación.

**- Fijación:**

Para evitar la destrucción de la arquitectura celular al separar los tejidos de la planta y por procesos químicos y físicos por los que tienen que pasar las muestras al ser procesadas y examinadas por microscopía electrónica, es necesario "fijar" esta estructura. Hemos utilizado glutaraldehído al 5% en tampón "palade", a una temperatura de 5° C y durante 45 minutos, introduciendo en este fijador trozos pequeños de tejido de unos 1 mm cúbicos (como una cabeza de alfiler) para que se produzca una fijación rápida y uniforme.

Después de un lavado en el mismo tampón palade se efectúa una segunda fijación con tetróxido de osmio al 2% en agua bidestilada, durante 2 horas y a 5 ° C.

**- Deshidratación:**

Por estar el microscopio electrónico en condiciones de alto vacío, es necesario deshidratar las muestras para evitar una evaporación rápida que destruiría el material biológico además de contaminar el microscopio. Para ello se hacen pasos sucesivos por concretaciones crecientes de acetona desde el 30% al 100% introduciendo sales de metales pesados como el acetato de uranilo y el sulfato de Cu en la acetona de 70% y 100% respectivamente, para aumentar el contraste de la muestra.

**- Inclusión:**

El material fijado y deshidratado se pasa dos veces por óxido de propileno para extraer la acetona y posteriormente se introduce la resina ARALDITA en la que se ha de mantener e "incluir" las piezas para ser cortadas después de una polimerización adecuada en estufa 24 horas a 50° C y 48 horas a 70° C.

**- Secciones:**

En ultramicrotomo LKB III, se procede con cuchilla de vidrio o de diamante a cortar este material en secciones de aproximadamente 400 A y montados en rejillas de 200 mesh.

**- Tinción:**

Una vez cortados y montados los cortes sobre rejilla se tienen con citrato de plomo o uranil acetato, dejando flotar las rejillas sobre gota de este colorante unos 10 minutos y posteriormente bañados con agua destilada dejando unas gotas con pipeta Pasteur. Una vez secas las rejillas a temperatura ambiente o en vacío son examinadas en el microscopio electrónico.

II.7.5. METODOS SEROLOGICOS.- Recientemente se han desarrollado técnicas serológicas de inmunoensayo como la ELISA ("Enzyme-linked immunosorbent assay") que son de gran utilidad en diagnósticos virológicos, son sensibles, específicas y fácilmente aplicables a un gran número de muestras. Por estas características, la técnica ELISA se ha utilizado en nuestros trabajos de detección de virus de forma general, tanto en planta como en vector.

De los diversos tipos de test ELISA existentes, los tres más utilizados son: - **ELISA-DAS** (double antibody sandwich). (CLARK y ADAMS, 1977); - **ELISA indirecto** - **ELISA indirecto sandwich** o **TAS** (triple antibody sandwich) (KOENING et al. 1982, CHU et al. 1989). En este caso se ha elegido **ELISA-DAS** por su gran especificidad y sensibilidad (Fig.22).

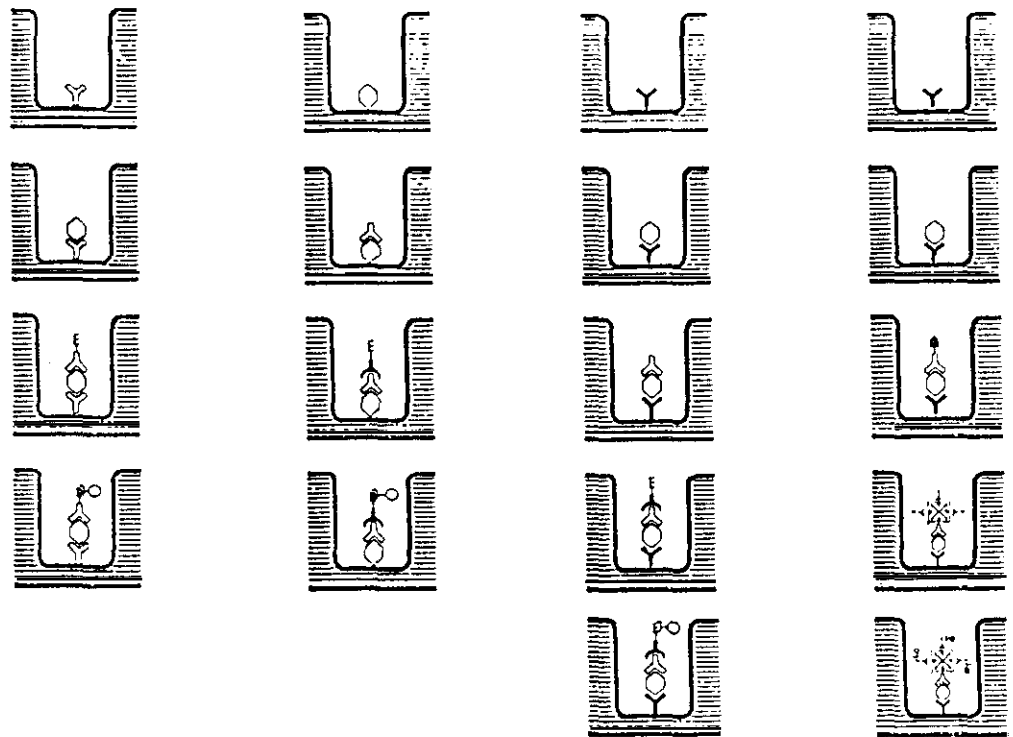
II.7.5.1. ELISA-DAS.- Previamente al desarrollo de esta técnica se hizo una placa de condiciones para determinar las concentraciones ideales de antígeno, antisuero y conjugado, así como un estudio de diluciones del antisuero.

**- Desarrollo de la técnica:**

- Marcar en la placa de ELISA, los pocillos que se vayan a rellenar, según un esquema previo.
- Diluir las gamma-globulinas (IgG) del virus correspondiente con tampón carbonato en la proporción más adecuada, haciendo un estudio previo de diluciones.
- Añadir 200 µl de IgG diluida a cada pocillo.
- Tapar la placa con un plástico para evitar evaporaciones.
- Incubar a 37° C durante 4 horas.

**- Preparación de muestras:**

Para extraer el jugo vegetal de las muestras se pueden utilizar diferentes métodos: morteros y manos, un politrón, introducir el material vegetal en bolsas de plástico resistentes y homogeneizar con un rodillo, procesador automático de muestras. Utilizar el tampón de extracción más adecuado, según sea el material vegetal (generalmente PBS-Tween) en la concentración más adecuada.



- E Sustrato de la Enzima
- E Anticuerpo antiimmunoglobulinas del animal en el que se obtuvo el suero 2
- ⊗ Avidina - Streptavidina
- ⊕ Anticuerpo marcado con biotina
- E Anticuerpo conjugado con una enzima
- ⬡ Antígeno viral
- Y Anticuerpo específico del virus obtenido en un animal (2)
- Y Anticuerpo específico del virus obtenido en un animal (1)

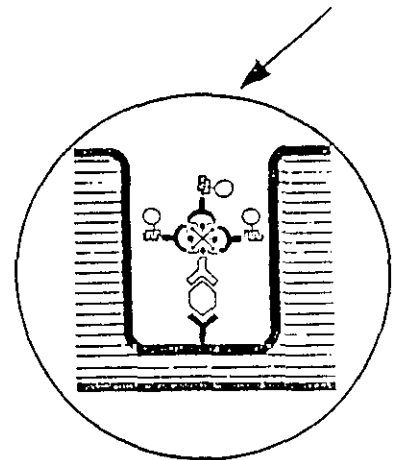


Fig.22 .- Cuatro modificaciones de las técnicas ELISA más empleadas en virología vegetal: 1 = ELISA DAS (Doble anticuerpo sandwich); 2 = ELISA indirecto; 3 = ELISA triple anticuerpo sandwich; 4 = ELISA amplificado.

Lavar la placa e incubar durante cuatro horas. Transcurridas las cuatro horas de la incubación, se lava de nuevo con PBS Tween, con cuidado de no sobrepasar los pocillos. Repetir la operación 3 veces dejando cada vez el tampón al menos 3 minutos.

Vaciar la placa. Añadir 200  $\mu$ l de cada muestra al pocillo correspondiente. Anotar en un croquis la posición de cada una de las muestras. Tapar la placa con plástico.

Incubar a 4° C de 12 a 20 horas (se suelen dejar toda la noche). Lavar la placa con PBS Tween tres veces como en el lavado anterior.

**- Conjugado:**

- Diluir el conjugado correspondiente con tampón conjugado en la proporción más adecuada.

- Añadir 200  $\mu$ l del conjugado diluido a cada pocillo.

- Tapar la placa con plástico.

- Incubar a 37° C durante 4 horas.

- Lavar la placa con PBS Tween 3 veces del modo descrito.

**- Sustrato:**

- Preparar el sustrato con tampón sustrato en la proporción 1 mg/ml. Después de tres lavados, añadir a cada pocillo 200  $\mu$ l de solución sustrato, rellenando también los pocillos de la primera columna de la placa que nos servirán de testigo al medir posteriormente en el lector automático. Mantener a temperatura ambiente en oscuridad y esperar a que aparezca color. Medir las absorbancias absolutas y relativas a tiempos fijos (por ejemplo a la media hora, a la hora, a las 3 horas y al día siguiente después de dejar la placa toda la noche a 4° C).

II.7.5.2. Sistemas de amplificación de ELISA. - Para amplificar la sensibilidad del ELISA se vienen utilizando fundamentalmente dos métodos diferentes, basados el primero (Biotin-streptavidina)) en introducir más moléculas de enzima por cada molécula de anticuerpo y el segundo (Ampak) que utilizan enzimas unidos a la molécula de anticuerpo activando un ciclo de oxidación-reducción del sustrato, para este trabajo se ha elegido el primero que, a continuación se describe en detalle:

- Método **Biotin-Streptavidina:**

Para detectar virus en un número pequeño de nematodos vectores se ha utilizado una técnica ELISA modificada para incrementar su sensibilidad. La modificación consiste en marcar unos anticuerpos con **biotina** y otros anticuerpos conjugados con fosfatasa alcalina a la que se han unido además la Streptavidina, que forma puente con la biotina dando como resultado la posibilidad de unión de más moléculas de E por anticuerpo sobre las que reaccionarán más moléculas de sustrato dando mayor coloración (Fig.23).

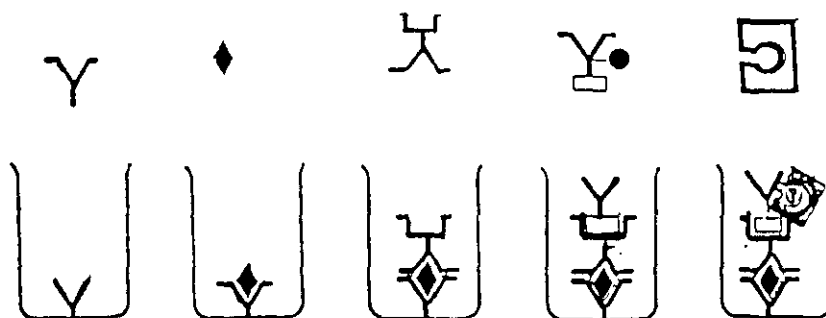


Fig.23 .- Método ELISA amplificado con biotina-streptavidina.

#### II.7.6.- HIBRIDACIONES DE ACIDOS NUCLEICOS, SONDAS RADIATIVAS Y

COLORIMETRICAS.- En estos últimos años se han desarrollado técnicas de diagnóstico en virología vegetal, que utilizan la hibridación del ácido nucléico del virus con sondas complementarias del mismo, bien marcadas radiactivamente (normalmente con P32) o bien con sondas, no radiactivas, colorimétricas (biotina). Estas hibridaciones inicialmente se hicieron en soluciones (SOUTHERN, 1975) y hoy se realizan sobre membranas de nitrocelulosa o de nylon, por su capacidad de fijar ácidos nucléicos. Estas hibridaciones sobre membranas (HULL, 1984) suponen una gran ventaja frente al ELISA por su mayor sensibilidad, unas 100 veces mayor para virus purificado (CHU et al., 1989). Otra gran ventaja es el que es capaz de detectar el genoma o una parte del mismo según la longitud y de la naturaleza de la sonda que se utilice, mientras que el ELISA solamente detecta la proteína de la cápsida, que está tan solo determinada por un 10% del genoma del virus, quedando, por tanto, oculta gran parte de la información genética con el método ELISA.

Con ambas técnicas se pueden procesar gran número de muestras de una manera rápida, sensible y específica. No obstante, las hibridaciones presentan algunas desventajas frente al método ELISA, como son: mayor complejidad en las instalaciones, al manejar material radiactivo, y necesidad de mayor especialización en el personal de laboratorio. Parte de estos inconvenientes se soslayan con la aparición de sondas no radiactivas (DONOVAN et al. 1987).

## II.8. METODOLOGIA PARA EL ESTUDIO DE LOS VIRUS EN EL INTERIOR DE LOS NEMATODOS VECTORES.

Debido al pequeño tamaño de los nematodos y, por lo tanto, a la escasa concentración de virus en ellos fué necesario diseñar una técnica de preparación de los vectores tanto para su estudio por microscopía electrónica en secciones ultrafinas e IEM, como para la aplicación en ellos de las técnicas serológicas. Los distintos procedimientos se describen a continuación:

### II.8.1. METODOLOGIA PARA LA DETECCION DEL VIRUS EN EL NEMATODO POR

MICROSCOPIA ELECTRONICA. - Se hace una extracción de nematodos del suelo donde existe una planta presuntamente infectada de virus por los métodos antes indicados. La suspensión resultante se lleva al estereomicroscopio donde se seleccionan los nematodos que se desea testar, cuidando de elegirlos vivos, que muestren actividad y que presenten el cuerpo oscuro, lo que indica que están alimentados.

- Poner en 2 ó 3 pocillos una gota de agua y sobre ella 10 nematodos.
- Fijar con glutaraldehído al 2% en tampón fosfato 0,1 M a pH 7,4.

Siempre con la ayuda del estereomicroscopio, se secciona la región labial del nematodo, con un bisturí de oculista o una cuchilla enmangada, a fin de que penetre el fijador en el interior, lo que se nota por el cambio de color que se advierte. Mantener 30 minutos a temperatura ambiente y lavar con fosfato 0,1 M, a pH 7,4, tres veces, dos seguidas y, la tercera, a los 15 minutos.

Para retirar el glutaraldehído y realizar los correspondientes lavados sin arrastrar los nematodos se utiliza una pipeta Pasteur, estirada al fuego para conseguir una punta muy fina y ligeramente curva.

- Tras el tercer lavado, procurando retirar todo el líquido, se añaden 5 gotas de tampón y 5 de tetróxido de osmio al 2% (con lo que queda al 1%).
- Dejar una hora a temperatura ambiente y retirar el osmio, bajo campana con aspirador.
- Lavar con el tampón una vez y dejarlo de nuevo en tampón durante una hora.

A continuación se procede a la deshidratación. Para ello, se ponen de nuevo en tampón durante una hora, se deja enfriar un poco y se agrega al pocillo tras haber quitado el tampón.

Se deja enfriar de nuevo y con una aguja enmangada fina se levantan los nematodos del fondo del pocillo a fin de que permanezcan en el centro del agar, con un espesor de 2-3 mm. Una vez frío el agar, bajo el estereomicroscopio se procede a cortarlo en bloques, los nematodos largos (Longidoridos) se cortan por la mitad antes de incluirlos en agar.

- Poner los bloques en tubos y añadir etanol al 70% durante 5 minutos, al cabo de los cuales se pasa a alcohol de 90% y, a los 5 minutos al de 100% que contenga una sustancia higroscópica para absorber toda el agua ("Molecular Steve" = silicato aluminico potásico cristalizado). Con este alcohol de 100% se repite el lavado tres veces, manteniendo los bloques en el líquido 5 minutos cada vez. A continuación se lava 2 veces con óxido de propileno, con un intervalo de 5 minutos, también bajo campana con aspirador.

- La inclusión se realiza en una resina comercial, "Exin Resin Kit", para ello se retira el óxido de propileno con las debidas precauciones, se agrega la resina y se mantiene la muestra girando mecánicamente durante dos horas a 37° C. Al cabo de los cuales se llena un bloque de silicona con la resina. Volcar sobre un Kleenex y separar los bloques que se distinguen por aparecer blancos. Colocarlos en el extremo del recipiente de silicona y orientar bajo el estereomicroscopio el nematodo para proceder a su corte. Dejar en estufa a 70° C toda la noche. Al día siguiente proceder a cortarlos. Para cortarlos primeramente se tallan los bloques en forma de pirámide con la ayuda de un bisturí, procurando que la sección sea pequeña. Colocar en el ultramicrotomo y cortar.

**- Tinción de los cortes:**

- Colocar en papel parafinado una gota de acetato de uranilo y dejar sobre él la rejilla flotando, durante 2 minutos.
- Lavar con agua destilada a chorro con el frasco lavador.
- Secar cuidadosamente.
- Teñir de nuevo con 2-3 gotas de citrato de plomo durante 7 minutos.
- Secar cuidadosamente y llevar directamente al microscopio electrónico para su observación.

**II.8.2. PREPARACION DE NEMATODOS PARA LA DETECCION DE VIRUS EN SU**

**INTERIOR POR ELISA e ISEM.**- Mediante estas técnicas es posible detectar el virus en 1, 5, 10, 15 o 20 nematodos, para ello es imprescindible homogeneizarlos y triturarlos perfectamente para lo que se han utilizado tres procedimientos:

a) En pocillo con 500  $\mu$ l de tampón de extracción PBS - T - PVP, se trituran con la ayuda de una varilla de vidrio con uno de sus extremos redondeado al fuego. Su inconveniente es que al precisar mucho volumen de tampón por nematodo, se alcanza gran dilución del virus, lo que lleva a la disminución de la sensibilidad, máxime para pequeño número de nematodos (1-5).

b) En este procedimiento se utiliza para homogeneizar el nematodo un minitaladro, como el torno de un dentista con un mondadientes partido a la mitad. Para ello en tubo eppendorf se ponen 25  $\mu$ l de tampón PBS - T - PVP, los nematodos a homogeneizar y una pequeña porción de carborundo; se hace girar la máquina durante 30 segundos, al cabo de los cuales se añaden 25  $\mu$ l de tampón y se homogeiniza hasta que el contenido esté perfectamente líquido, lo que ocurre en unos 30 segundos. Se golpea suavemente el tubo con los dedos a fin de arrastrar las gotitas que quedan en las paredes. Toda la operación se realiza dentro de hielo, para evitar el calentamiento del tubo.

- Centrifugar 10 minutos en microfuga a 10.000 rpm y depositar los los tubos en nevera a 4° C, mientras se carga la placa ELISA o se preparan las rejillas del microscopio electrónico.

Con este procedimiento, en ocasiones, quedan nematodos por triturar o en fragmentos bastante grandes, lo que también causa problemas de sensibilidad cuando se trabaja con pocos nematodos.

c) A fin de soslayar estos problemas se ha diseñado un "micromortero", adecuado al tamaño de los nematodos, que consiste en introducir un microémbolo de diámetro adecuado en un tubo de pipeta (Fig.24); este procedimiento permite trabajar con volúmenes de 10  $\mu$ l y un solo nematodo y seguir el proceso bajo microscopio y

comprobar la completa trituración del nematodo. Para introducir el tampón en el tubo y retirar el homogeneizado, se utiliza una geringa Hamilton de 10  $\mu$ l, o también pipetas Pasteur estiradas al fuego hasta conseguir un extremo capilar.

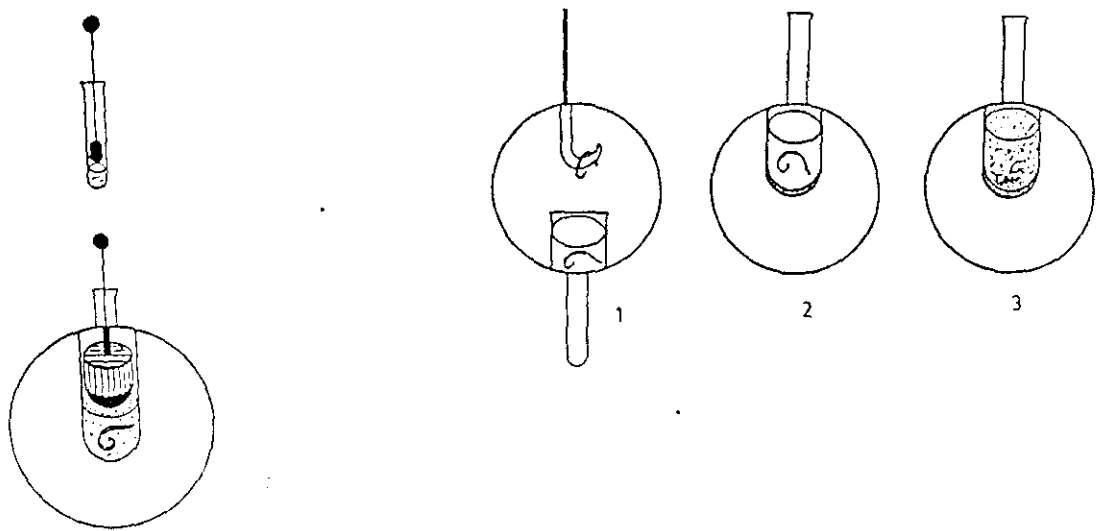


Fig. 24.- Micromortero empleado para la adecuada trituración de nematodos

### II.8.3. METODOLOGIA PARA DETECTAR EL VIRUS EN EL NEMATODO POR LA REACCION EN CADENA DE LA POLIMERASA ("POLIMERASA CHAIN REACTION") (PCR).

REACTION") (PCR). - En la actualidad se están empleando técnicas de gran sensibilidad en el diagnóstico de virus. Así para CLRV, BORJA y PONS, 1991, *comparando tres técnicas (ELISA, Dot-blot y PCR) encuentran que Dot-Blot es 100 veces más sensible que ELISA y PCR es 10<sup>7</sup> veces más sensible que Dot-Blot*, en tabaco. Por esta técnica se amplifica el número de copias de un fragmento del DNA o cDNA del virus (CHU et al., 1989) elevándola hasta niveles detectables, empleando una enzima, la DNA polimerasa, estable a altas temperaturas. Este método es conocido como reacción de la polimerasa en cadena "Polimerase Chain Reaction" o PCR (SAIKI et al., 1985 y 1988). Hasta ahora era necesario partir de virus purificado, pero recientemente se ha publicado su aplicación a extractos de savia bruta (BORJA et al., 1991). Para aplicar esta técnica a virus RNA es necesario hacer previamente una reacción de transcripción inversa para obtener los cDNA. Este método es de gran sensibilidad y especificidad debido a su capacidad de hacer copias de secuencias de forma fiable y eficaz (WEIER y GRAY, 1988), fácilmente automatizable e ideal para aplicarla a la detección de virus en solo nematodo vector o en aquellos casos en que la titulación del virus es muy baja o se presenta de forma irregular en una planta.

### II.9. METODOLOGIA PARA EL ESTUDIO DE LA TRANSMISION POR VECTORES.

Para la determinación inequívoca de transmisión de virus vegetales por el nematodo vector, TRUDGILL et al. (1983) establecieron los siguientes criterios:

- 1.- Tanto el virus como el nematodo deben estar perfectamente identificados y caracterizados.

2.- La infección por el virus a estudiar en las plantas cebo debe comprobarse mediante test adecuados (ELISA e ISEM).

3.- Los nematodos utilizados en el test deben ser los únicos posibles vectores de virus en el experimento.

De acuerdo con estos criterios establecidos, dichos autores diseñaron una metodología a seguir para la correcta determinación de la transmisión que es la que se ha seguido en este estudio (Fig.25).

**- Método de transmisión (Fig.26):**

- Se extraen nematodos de tierra procedente de rodales con vides infestadas con GFLV. Elegir plantas de Ch. quinoa con 3-4 hojas y ponerlas en macetas de 25 cc con arena esterilizada y de un tamaño  $< 150 \mu\text{m}>$  de  $250 \mu\text{m}$ , llenando de forma inclinada en la maceta. Humedecer ligeramente el fondo y poner la planta de Ch. quinoa lavando previamente, cuidadosamente su sistema radicular.

Poner los nematodos en 10 cc de agua y añadirlos al fondo del tiesto. Completar con arena del mismo tamaño que la del principio. Colocar las macetas en invernadero en batea sobre arena humedecida. Añadir agua con frasco lavador a las macetas y humedecer la arena de la batea para crear una cámara húmeda.

Al cabo de 3-4 semanas observar la sintomatología y comprobar la presencia de virus por ELISA o ISEM.

Para completar el ciclo de transmisión se inocularán plantas de Ch. quinoa con GFLV procedente de las mismas plantas de las que se tomó tierra para la extracción de nematodos.

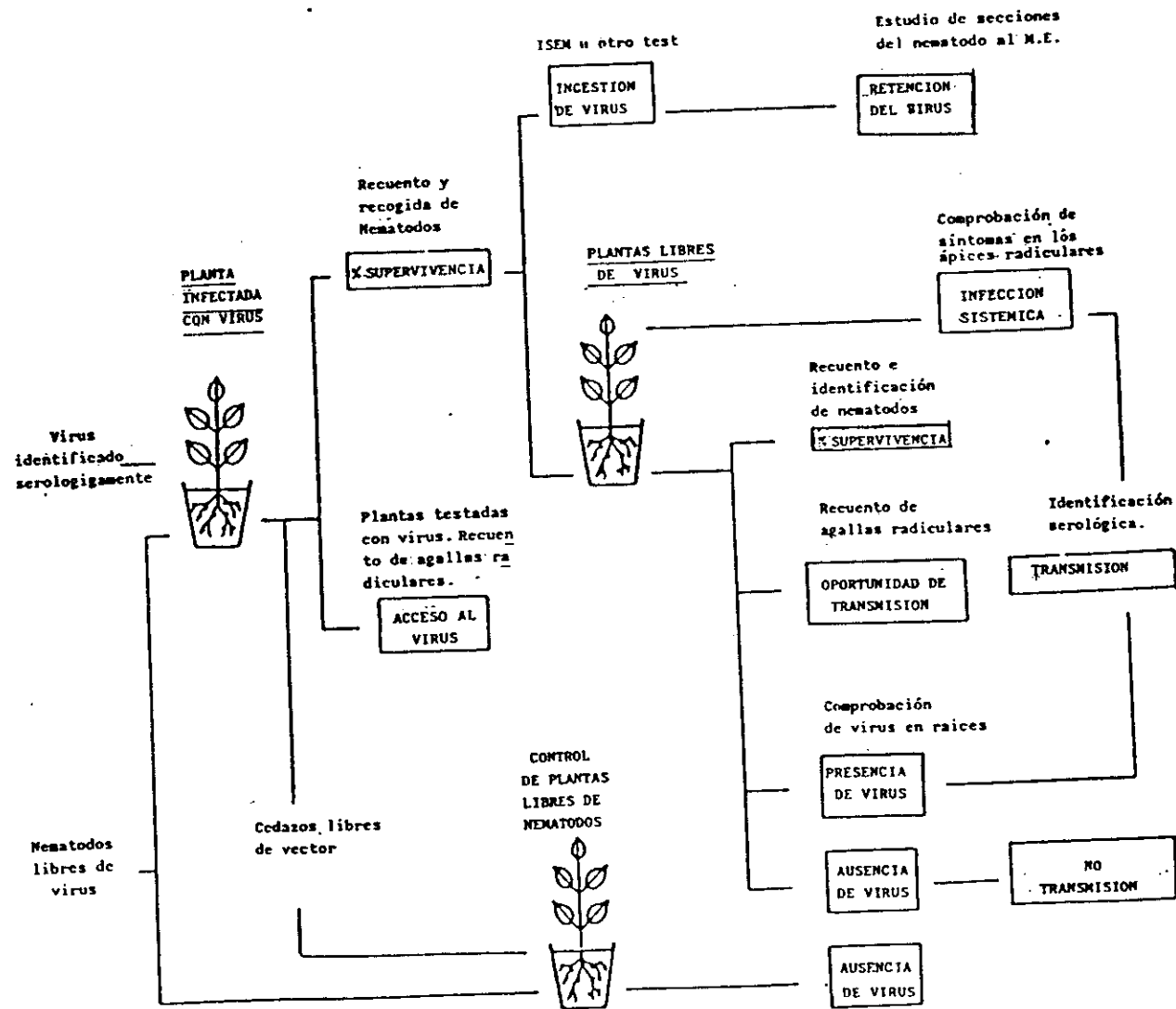


Fig. 25.- Metodología seguida para el estudio de la transmisión por vectores (según Trudgill et al., 1983)

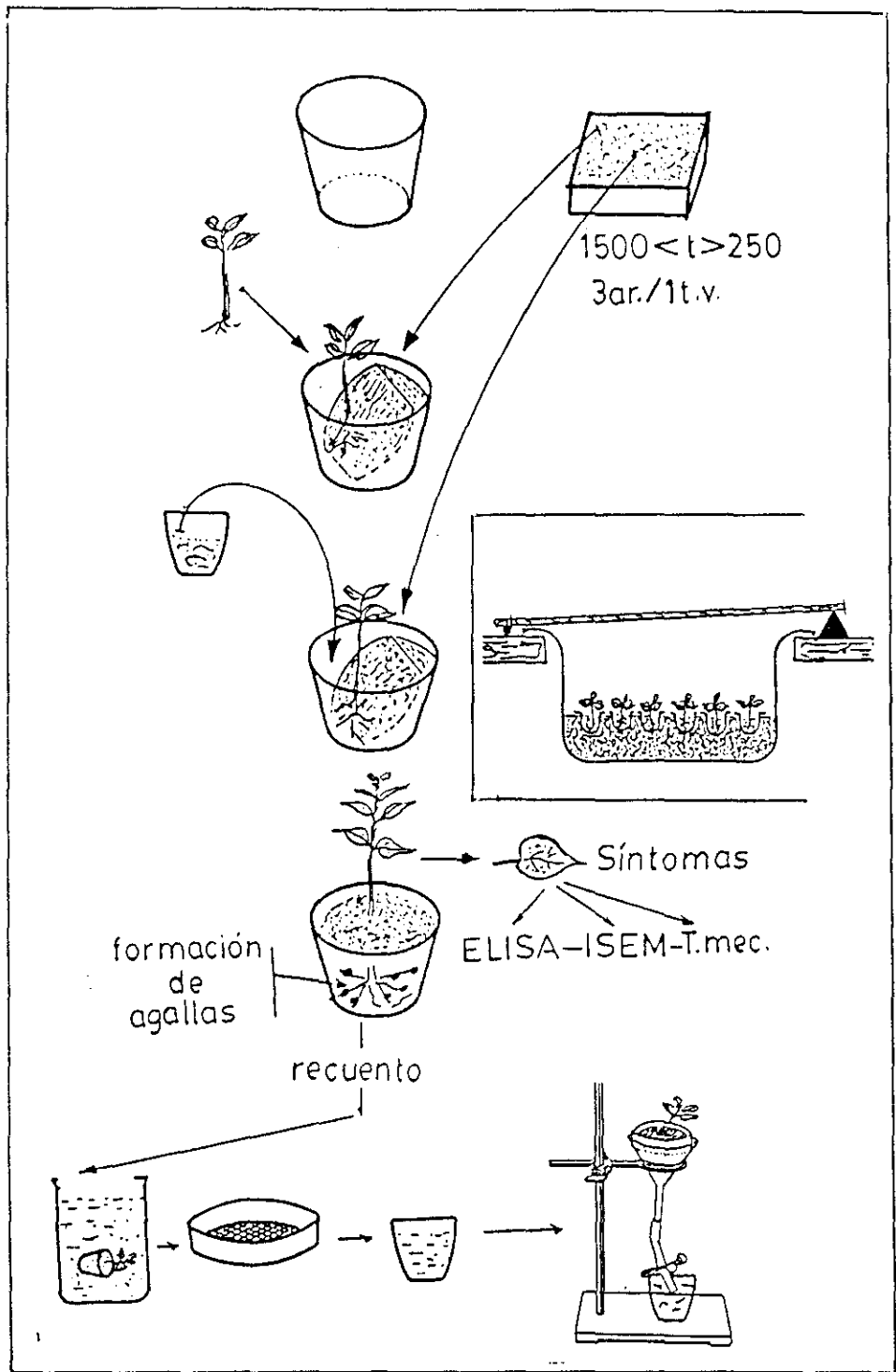


Fig. 26.- Metodología seguida para transmisión

Cuando estas plantas de Ch. quinoa tienen síntomas y testadas con ELISA , son positivas se hace un proceso de transmisión *inverso*, así:

a) En macetas, como en el proceso anterior, con Ch. quinoa infestados con GFLV se introducen nematodos que han sido mantenidos en batea con higuera y se ha comprobado que están libres de virus.

b) Se les tienen alimentándose en esta planta enferma alrededor de una semana y se comprueba mediante test que han adquirido el virus.

c) Se extraen los nematodos y se ponen en macetas de la misma manera con Ch. quinoa sana y se sigue el proceso como se describe anteriormente.

#### 11.10. MÉTODOS PARA EL ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS EDÁFICAS

En la determinación de las texturas y contenido de carbonatos del suelo se han utilizado los métodos usuales del Instituto de Edafología y Biología Vegetal, el de Boyoucos para las texturas, ligeramente modificado por GARCIA LOZANO y GONZALEZ BERNALDEZ (1963) y el de ALLISON y MOODIE (1969) para los carbonatos.

La determinación del pH se ha realizado en suspensión de agua, tras pesar 10 g de muestra, se añaden 20 cc de agua destilada y se remueve, se espera 15 minutos y después se vuelve a remover, *midiéndose a continuación con el pHmetro.*

## II.11. MÉTODOS ESTADÍSTICOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO Y CARTOGRAFIADO AUTOMÁTICO.

Para la planificación de los muestreos en fincas experimentales y el cartografiado de los datos se ha utilizado el programa "EXPAN-1" elaborado por Rey (REY et al., 1983) que resuelve el problema de las zonas de compensación que plantea el sistema UTM en la Península Ibérica, basándose en el método de CAMARGO DE PARADA (1973) para la transformación de una coordenada UTM a coordenada geodésica de su propia zona y, a partir de ésta calcular la coordenada UTM de la zona adyacente. Este tipo de cartografiado automático facilita la elección correcta de las áreas de estudio y puntos de muestreo.

La cartografía de los datos edáficos y climáticos se ha llevado a cabo con programas del mismo autor según las técnicas descritas por REY (1988) y LAZARO y REY (1990), mediante los que se han elaborado mapas de suelos basados en las de FAO-UNESCO (1985) de temperaturas medias así como del índice hidrico anual (OLIVER MOSCARDO y GIL CRIADO, 1985). Para su realización se ha utilizado un microordenador HP 9020 A.

Los datos del muestreo previo se sometieron a un análisis de correspondencias múltiples, los niveles de significación de los distintos muestreos se sometieron a la prueba del  $X^2$ .

### **III. RESULTADOS**

En este capítulo se recoge, en primer lugar, los resultados obtenidos en el muestreo previo llevado a cabo en diferentes zonas vitícolas, cuyos datos se sometieron a un análisis factorial de correspondencias múltiples. A continuación se dan los resultados de los ensayos efectuados para comprobar el grado de fiabilidad de la técnica ELISA, utilizada para la detección del virus, en la que se comprueban los tampones de extracción idóneos a tal fin, las partes de la planta más adecuadas para la realización del test, la sensibilidad del método a distintas concentraciones de muestra, la variación de la concentración del virus en los diferentes tejidos vegetales a lo largo del año, así como la correlación entre la sintomatología observada y la presencia de virus.

Posteriormente, se dan los resultados acerca de la incidencia de GFLV en La Mancha y la de virus-nematodos vectores, para finalizar con la detección del virus en la planta y en los nematodos y con la realización del test de transmisión.

### III.1. MUESTREO PREVIO.

Los resultados obtenidos del muestreo previo en las zonas vitícolas elegidas (La Mancha, Galicia y Murcia) se encuentran reflejados en la Tabla V, en ella se indica el número de muestra, número de nematodos encontrados por cada uno de los métodos de extracción utilizados (Flegg y centrifugación), excepto para los endoparásitos en que sólo se estudió la presencia-ausencia de nematodos formadores de nódulos del género Meloidogyne. Los ectoparásitos transmisores de virus se relacionan a nivel especie, los restantes ectoparásitos a nivel de género, y los libres, a nivel de grupo trófico. Asimismo aparecen en la tabla los datos de presencia - ausencia del virus GFLV en cada

muestra, así como los datos resultantes de los análisis del suelo (pH, porcentajes de arena, limo, arcilla y carbonatos). Hay que tener en cuenta que solamente se relacionan en dicha tabla aquellas muestras en que además de material vegetal se recogió y estudió muestra de suelo, ya que por cada una de ellas se tomaba una media de 2 a 4 plantas, lo que supone un total de 540 muestras de material vegetal testadas serológicamente en este muestreo previo y 260 de suelo. Los resultados de los análisis serológicos (Tabla VI) indican que solamente 64 muestras revelaron la presencia de GFLV lo que representa un 11,8% de cepas infectadas, mientras que la presencia de nematodos transmisores de virus está en aproximadamente un 30% de las muestras de suelo estudiadas, (X.index en 31 y X.italiae en 60 muestras).

Se observa que la Nematofauna en estas muestras es pobre, con poca variabilidad de formas y poblaciones, en general, pequeñas, sobre todo para las especies fitoparásitas, con la única excepción de los Hoploláimidos, presentes en el 82% de las muestras y con poblaciones superiores a los 2000 individuos /1000 cc de suelo (hasta 2200 en Murcia, 8000 en Galicia y 1850 en La Mancha). De los restantes grupos tróficos, los más frecuentes son los omnívoros (Doriláimidos), seguidos de los micófagos (Rabbitidos) y en último lugar los depredadores (Monónquidos), si bien las poblaciones no fueron muy numerosas no superando la cifra de 500 individuos / 1000 cc.

De las especies del género Xiphinema, la mas frecuente, una vez más resultó ser X.pachtaicum, especie no comprobada como vectora de virus pero frecuentemente asociada a la presencia de virosis, que apareció en el 83,3% de las muestras de suelo estudiadas y en 52 de las 64 positivas de GFLV (81,3%), en 14 de ellas (17,4%) asociada a X.index, en 7 (11%) a X.index y X.italiae y en 5 (7,8%) a X.italiae.

X.italiae, especie comprobada como transmisora de GFLV al viñedo pero considerada poco efectiva como vector en el campo, apareció en el 23,8% de las muestras, 13 de ellas positivas de virus en 7 de las cuales se hallaba en asociación con X.index y X.pachtaicum.

X.index, la especie más importante como vector de GFLV en viñedo, se encontró en el 14% de las muestras (32), 18 de ellas positivas para el virus, lo que representa un 29,6% de incidencia, en ocho ocasiones apareció asociado a X.italiae y en siete de ellas también a X.pachtaicum.

Por último en el 4% de las muestras se hallaron otras especies de Xiphinema (X.rivesi, X.turcicum y X.vuittenezi), L.vineacola, especie también frecuente en viñedos, se encontró en el 2% (6 muestras) y Trichodorus spp. en el 1,5%.

Por otro lado, se han encontrado 25 focos con fuertes infestaciones de Meloidogyne causando serios problemas en viñedo, así como la presencia de nematodos "anillados"(Criconemátidos) en más de 50 puntos, que bien pudieran ser causa de aparición de clorosis. En cuanto a los factores abióticos del suelo destaca la presencia de carbonatos y, en consecuencia, elevado pH, en unos 200 puntos de suelo, lo que también dá lugar a amarilleos en las plantas, sobre todo en zonas de poco suelo, como pequeñas lomas en los viñedos, por otro lado, fáciles de diferenciar de las clorosis amarillas producidas por GFLV.

Respecto a la utilización de uno u otro método de extracción, hemos encontrado que X.pachtaicum apareció en un 54,2% de las veces que se extraía por ambos métodos, con poblaciones variables en uno y otro, dependiendo que se tratara de adultos y juveniles de los últimos estadios, que aparecieron en mayor número por el método de Flegg, o de los primeros estados larvarios, más numerosos cuando se extraían por centrifugación. En un 24,6% se encontró al aplicar el método de Flegg y, en el 19,4%, por centrifugación. X.index apareció en el 100 % de los casos por el método de Flegg y en el 28% por centrifugación. X.italiae, en el 90% por el método de Flegg, en el 29% por el de centrifugación. L.vineicola solamente apareció por el método de Flegg, por el contrario los Hoploláimidos aparecen en el 89% de los casos por el método de centrifugación y, en general, por este método se obtienen las poblaciones más numerosas, aunque por Flegg se extrajeron en el 64,6% de las muestras. Con respecto a los restantes grupos tróficos, Doriláimidos y Monónquidos se extraen por ambos métodos pero mejor por Flegg, dado su tamaño y movilidad, sobre todo en los adultos y últimos estados juveniles, y, por el contrario, Rabdítidos y Tilénquidos se extraen mejor por centrifugación.

En cuanto a la incidencia de virus y sus nematodos vectores en las distintas zonas estudiadas, encontramos que en La Mancha de 473 muestras de material vegetal estudiadas, 56 fueron positivas para GFLV, el 11,9%, X.index apareció en el 28,6% de las muestras de suelo estudiadas, X.italiae en el 12,5% y ambas en el 5,4% de las muestras de GFLV positivas. En Galicia, apareció GFLV en menos del 6% de las 143 muestras de material vegetal testadas y los nematodos transmisores de virus en el 20% de los casos, X.index en el 9% y X.italiae en el 13,6%. Por último, en Murcia apareció X.italiae en 15 muestras de las 21 de suelo estudiadas (71%) y en 10 puntos positivos de GFLV (50%), no habiéndose encontrado X.index.

Fig. 27 a

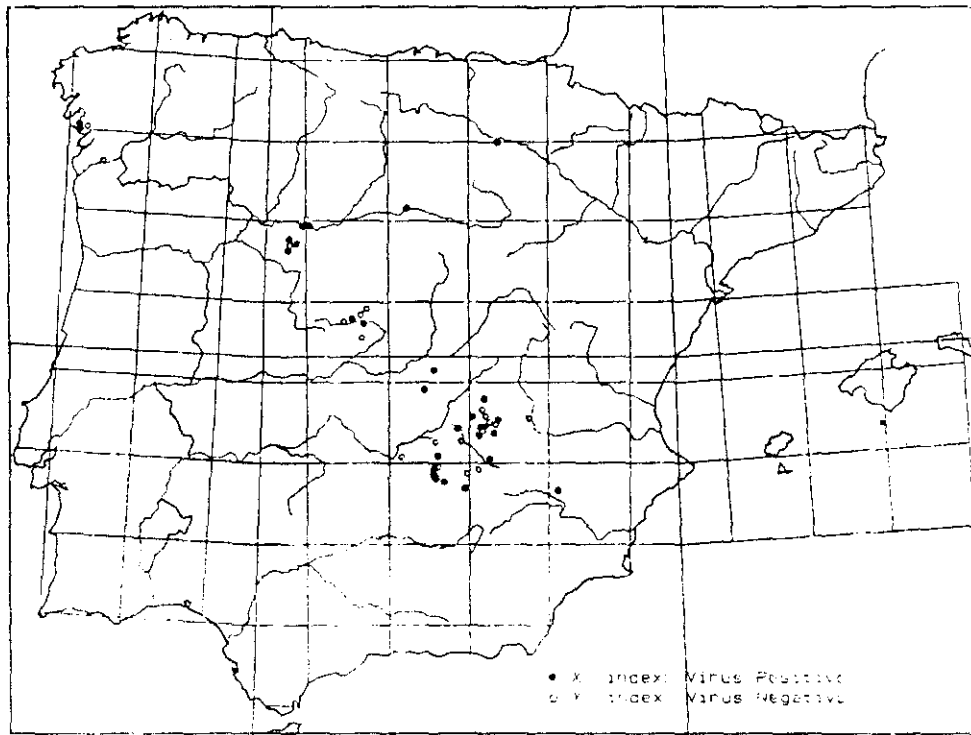


Fig. 27 b

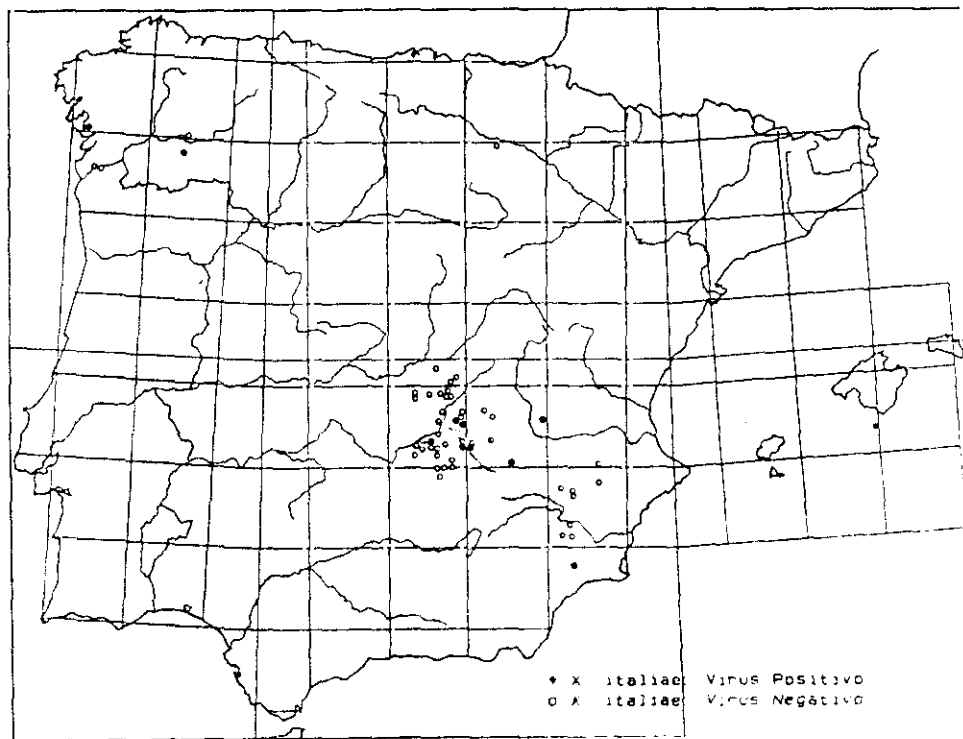


Fig. 27.- Distribución del virus del entrenado corto y su relación con *X. index* (A) y *X. italiae* (B)

Respecto a la distribución (Fig.27) a pesar de la relativamente baja frecuencia de incidencia del virus, este se encuentra disperso en todas las zonas muestreadas, sin que parezcan influir en su presencia los factores ambientales ni las variedades cultivadas en cada zona. En cuanto a los nematodos vectores, X.italiae está igualmente distribuido en todas las zonas excepto Castilla-León, donde solamente se encontró X.index y, por el contrario en la Región Murciana solo X.italiae. En Galicia y Castilla-La Mancha se encuentran las dos especies, siendo mucho más frecuente X.index en esta última.

En Castilla-La Mancha, donde el número de muestras permitió estudiar su distribución respecto a los factores ambientales, tipos de suelo y clima (Figs. 31, 32, 33 y 34 del apéndice), encontramos que X.index aparece distribuido en cambisoles (cálcicos y gleícos) y en un punto de luvisol cromo cálcico, está igualmente disperso en los climas (E) árido y (D) semiárido de Thornthwaite (gradiente de -40 a -20 y -20 a 0 ) del **Índice Hídrico Anual (IM)** y en las zonas con temperaturas medias comprendidas entre 13°C y 16°C. X.italiae, se localizó únicamente en suelos de cambisol, en clima (E) árido, no apreciándose diferencias de su distribución respecto a las temperaturas medias ni los tipos de suelos de esta Región. Se aprecian focos de mayor intensidad de infección vírica en las zonas de Socuéllamos, Ossa de Montiel y Valdepeñas, donde existen las mayores poblaciones de nematodos transmisores de virus de la zona.

En la Tabla VII se dan los resultados del muestreo realizado en Castilla-León, ordenados de acuerdo con las denominaciones de origen e indicando el número de parcelas muestreadas, número de muestras testadas por ELISA, número de muestras positivas de GFLV, porcentaje y número de muestras positivas de X.index, el único nematodo transmisor de virus que apareció en esta Región. Teniendo en cuenta que las muestras de suelo para el análisis nematológico se tomaron, tras comprobar la presencia

de virus, solamente en cepas que resultaron positivas para GFLV, que el número de plantas testadas fué de 1703 y que resultaron positivas 204, el porcentaje de incidencia del GFLV es del 11,9% ( $\pm 0,015$ ), prácticamente el mismo obtenido en el muestreo previo. Se observan grandes diferencias de los resultados entre las distintas denominaciones de origen, así por ejemplo, en Rueda, de 382 muestras estudiadas fueron positivas 74 lo que supone aproximadamente un 19% ( $\pm 0.039$ ) de muestras positivas, en Ribera del Duero de 187 muestras, resultaron 35 viróticas (el 18 %  $\pm 0.055$ ), en Toro de 183, 32 (17%  $\pm 0.054$ ), en Cebreros 22 de 125 (17%  $\pm 0.066$ ), en Cigales 28 de 327 (8.8  $\pm 0.031$ ) y, por último, en El Bierzo 13 de 500 (2.5%  $\pm 0.014$ ), quizás debido a que este muestreo se realizó en función de los viñedos en que los técnicos de SEA y viticultores de las distintas zonas habían comprobado la presencia de problemas. En cuanto a la presencia de nematodos transmisores en las muestras en que se realizó el estudio nematológico, solamente 24 fueron positivas para Xindex, aproximadamente un 30% de las viróticas.

Los datos de 251 muestras de la prospección previa (Tabla VIII), tras eliminar aquellas que contenían datos incompletos o no representativos, se sometieron a un análisis factorial de **correspondencias** con diferentes estados (clases) de las variables, a fin de conocer las direcciones principales de la variabilidad, definidas por las variables indicadoras.

Se estudiaron dos niveles de análisis, el primero incluyendo todas las variedades de vid procedentes de las diferentes zonas vitícolas, aunque el peso mayor, con gran diferencia, estaba en la variedad Airén. Por ello, en el segundo análisis se trataron solamente los datos correspondientes a dicha variedad (196 muestras).

En ambos análisis se han obtenido resultados muy similares, descubriéndose dos direcciones de variabilidad o tendencias, definidas, una por los componentes edáficos (porcentajes de arena, limo y arcilla) y la sintomatología observada, y, la otra, por la presencia de virus y las poblaciones de los nematodos vectores.

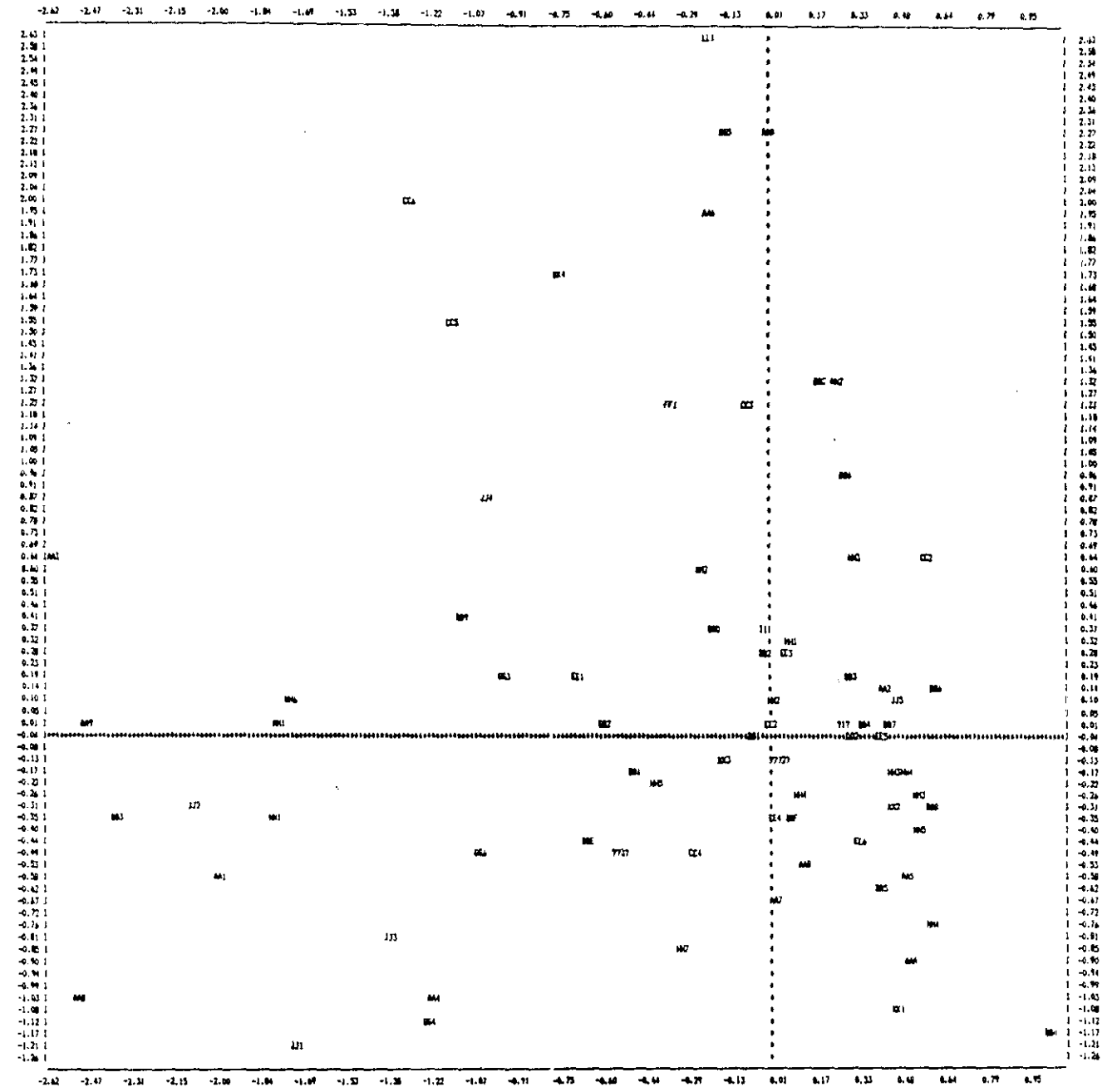
En el primer análisis (251 muestras) (Tabla IX, Fig.28 y 29), el eje I aparece definido por las variedades de vid, "no conocida" (contribución C= 13,4), Airén (C= 3,2) y Albariño (C= 2,0) y el pH (Contribución total CT= 19,7); encontrándose una asociación clara entre los valores más altos de pH con la variedad Airén, mayoritaria en La Mancha, y los más bajos con la Albariño. El eje II está definido por los componentes edáficos, porcentaje de arena (CT= 20,2), de limo (CT= 16,0), carbonatos (CT= 10,1) y arcilla (CT= 8,6). El eje III está en relación con las sintomatologías de fasciación (C= 3,4), madera deformada (C= 3,2), síntomas generales de virosis (C= 3,1) y mosaico amarillo (C= 2).

Dicho eje se relaciona asimismo con la presencia (C= 10,6) y ausencia de virus (C= 3,6) y con los nematodos transmisores, poblaciones de 25 a 50 individuos/1000 cc de suelo de X.index (C= 7,6), de 5 a 25 indiv/1000 cc de dicha especie y de X.italiae ambas con la misma contribución (C= 1,6).

Como ya se ha indicado, el análisis efectuado considerando solamente las muestras tomadas en la variedad Airén (Tabla X, Fig.30 y 31), confirma la existencia de las direcciones de variabilidad del primer análisis relativas a los componentes edáficos (eje I), sintomatología y presencia de virus (eje II). En cuanto al eje III, parece estar relacionado con los nematodos, cuya presencia se encuentra condicionada por los valores de pH, y contenido de carbonatos. Del análisis se deduce, en particular, que las

AXE HORIZONTALE : 1 AXE VERTICALE : 2  
 PROJECTION DES POINTS DES VARIABLES

Fig. 29.- Resultados del Análisis de Correspondencias considerando todas las muestras (Ejes 1 y 2)



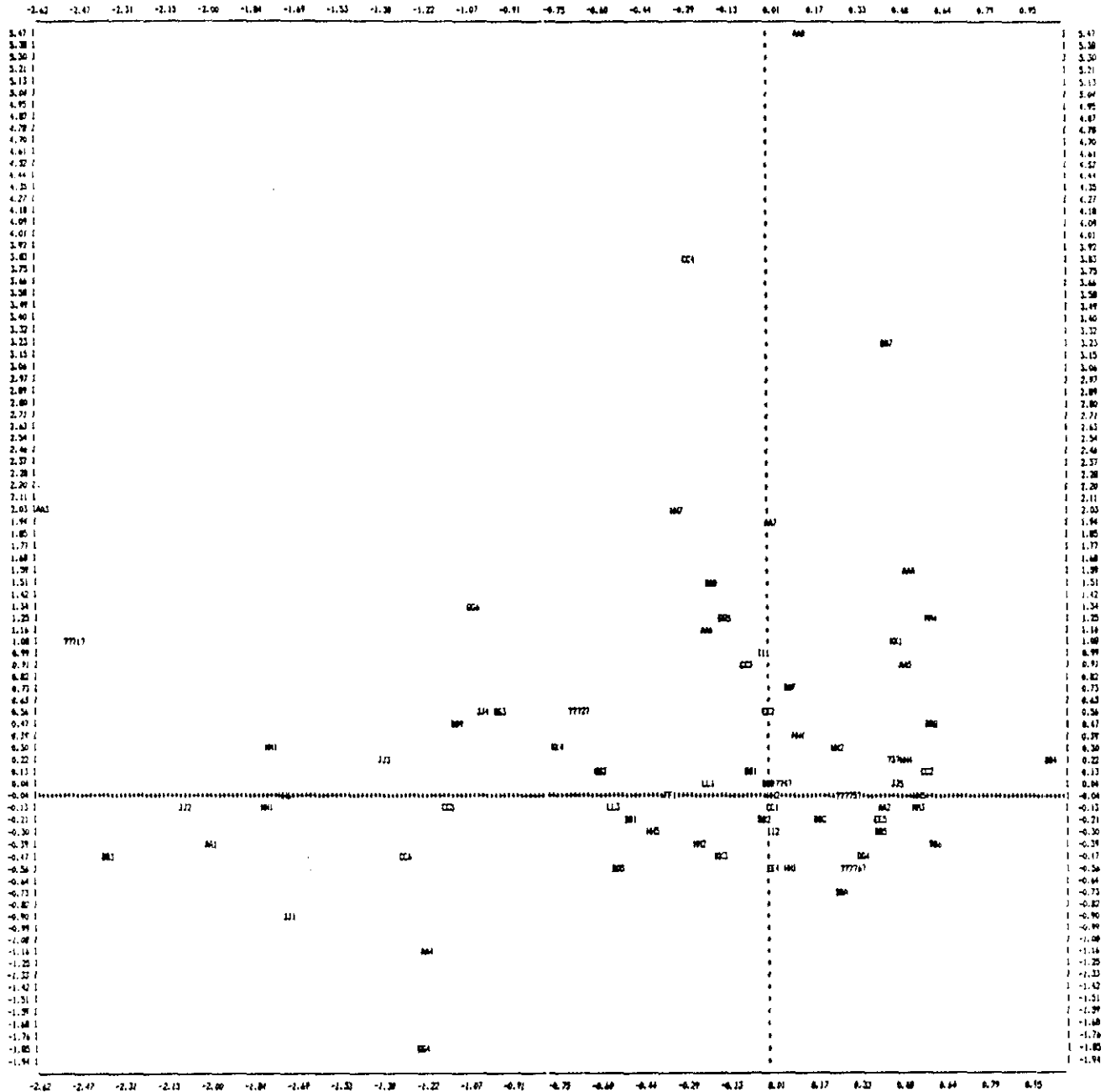
POINTS CACHES

POINTS VUS	POINTS CACHES	ABSCISSE	ORDONNEE
?1	BB1	.2529182	1.688628E-02
?1	GG1	.2478679	.0231179
?2	CC1	6.483189E-03	-1.1265011
?2	II2	8.221285E-03	-1.287944
?2	FF2	3.913179E-02	-1.1362039
?2	LL2	4.324051E-02	-1.1378344
?3	LL3	-.3723698	-.4722767
?3	DD5	-.561232	-.4811249

Fig 29

EJE HORIZONTAL : 1  
 EJE VERTICAL : 3  
 PROYECCION DE LOS PUNTOS DE LAS VARIABLES

Fig. 30.- Resultados del Análisis de Correspondencias considerando todas las muestras (Ejes 1 y 3)

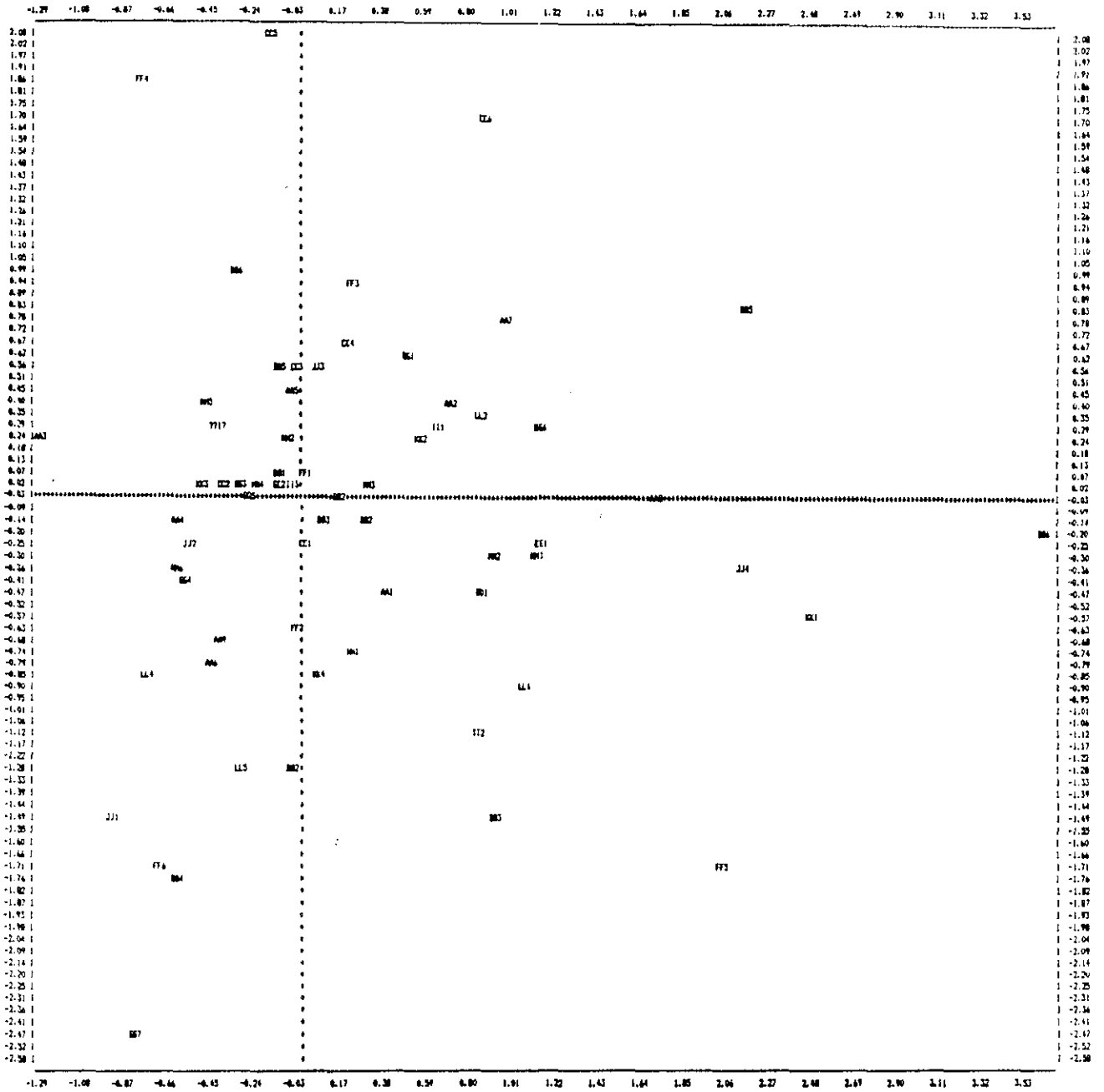


POINTS CACHES

POINTS VLS	POINTS CACHES	ABSCISSE	ORDONNEE
71	AA8	-2,530678	1,03889
71	AA9	-2,495662	1,112445
72	EE1	-.7078946	.5899035
72	BB2	-.6846204	.5827061
73	BB3	.4398937	.1994359
73	BB2	.4459051	.2186926
74	FF2	3,913179E-02	3,084517E-03
74	LL2	4,324051E-02	4,022114E-03
74	EE3	5,718821E-02	5,790164E-02
75	BB1	.2498679	-2,091086E-02
75	BB2	.2861559	-3,358653E-02
75	BB3	.3054355	-7,075726E-02
76	BB4	.2765215	-.5640962
76	BB3	.2938344	-.5792348
76	EE6	.3190816	-.5563397

GRAPPE 1 2  
 ABE HORIZONTAL 1 2 ABE VERTICAL 1 2  
 PROJECTION DES MOBILITES DES VARIABLES

Fig. 31.- Resultados del Análisis de Correspondencias considerando las muestras de la variedad Airen (Ejes 1 y 2)

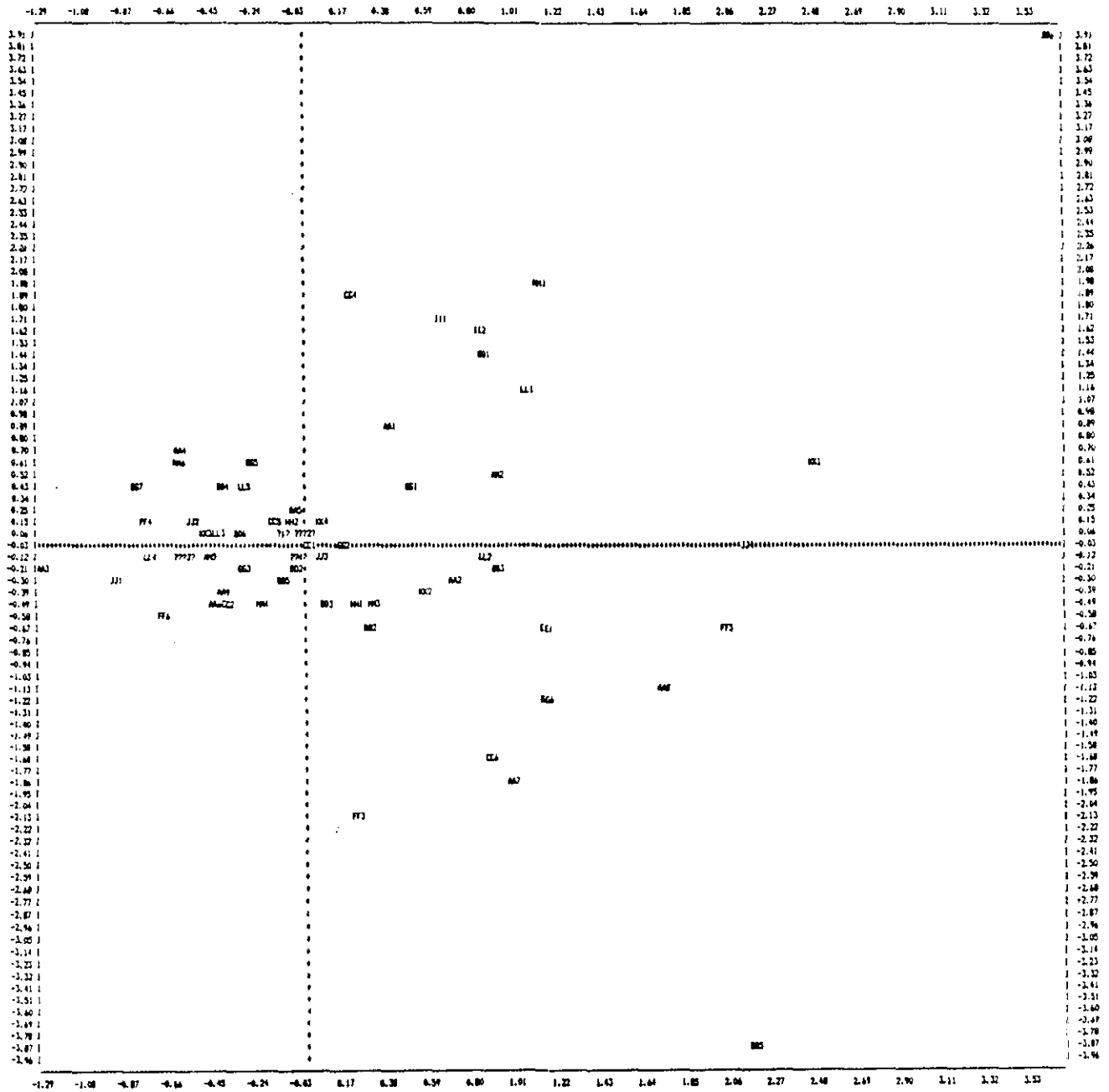


POINTS CACHES

POINTS VUS	POINTS CACHES	ABSCISSE	ORDONNEE
?1	LL3	-.4234796	.2797175
?1	DD4	-.402511	.3080901

MAPA 1 3  
 ABE HORIZONTAL 1 ABE VERTICAL 3  
 PROYECCION DE NORIALES DE LAS VARIABLES

Fig. 32.- Resultados del Análisis de Correspondencias considerando las muestras de la variedad Airen (Ejes 1 y 3)



POINTS CACHES

POINTS VUS	POINTS CACHES	ARCSISSE	ORDONNEE
21	BB1	-1.179679	7.879154E-02
21	EE2	-1.1245633	7.269651E-02
22	CC3	-0.329311	4.188031E-02
22	FF1	1.500945E-03	9.857199E-02
73	BB4	-0.6140986	-0.1138032
73	BB4	-0.5761821	-0.1333543
74	II3	-4.655047E-02	-9.820835E-02
74	FF2	-3.833477E-02	-0.1177503

poblaciones más altas de X.index aparecen asociadas en general a suelos con contenidos de arena entre 50-70%, por otro lado, dichas poblaciones disminuyen al aumentar el contenido de carbonatos. Por el contrario, las poblaciones de X.italiae se muestran relacionadas con suelos de contenidos medios de carbonatos y arena. X.pachtaicum y los nematodos "anillados", Criconemoides s.l., parecen estar asociados a suelos con mayor contenido de arcilla, mientras que se confirma que la presencia de Meloidogyne está condicionada por altos contenidos de arena (alrededor del 70%). Las sintomatologías "falta de vigor", "cepas improductivas" y "clorosis" aparecen ligadas a concentraciones altas de carbonatos, mientras que las restantes clases de sintomatología observada, no muestran una relación clara con los demás parámetros considerados.

### III.2.DETECCION DEL VIRUS DE LA DEGENERACION INFECCIOSA.

Dado que en el muestreo previo, el porcentaje de vides infectadas por GFLV resultó muy inferior al estimado en los trabajos precedentes y el que empíricamente se deducía de la sintomatología existente en los viñedos, se pensó que estas diferencias podían deberse a alguna de las causas siguientes:

- Algún fallo en las técnicas de diagnóstico que se venían utilizando.
- Posibles efectos de termoterapia en zonas muestreadas con temperaturas extremas (Castilla-La Mancha o Murcia), sobre todo las tomadas en verano o diferencias de la concentración del virus en las distintas partes de la planta y en las diferentes épocas del año y del estado vegetativo de la planta.
- Dificultad en discernir entre los síntomas propios de la infección del virus y las características fisiológicas o varietales, así como la influencia de otros patógenos y las debidas a alteraciones climáticas o factores edáficos.

III.2.1. COMPROBACION DE LA FIABILIDAD DEL METODO .- A fin de comprobar la bondad del método se aplicó el test a material procedente de las cepas I y II de La Higuera, que habían resultado positivas en repetidas ocasiones y que se mantienen estaquilladas en invernadero desde 1988, así como en Ch. quinoa inoculado previamente con virus de estas cepas. Se tomaron como controles positivos V. rupestris de Lot y negativo vides tratadas por termoterapia y Ch. quinoa de semillero.

Se utilizaron tampones generales para todas las etapas del ELISA y se ensayaron simultáneamente distintas partes de la planta (raíz, tallo y hoja) a tres concentraciones diferentes (1/10, 1/20 y 1/40) así como homogeneizados por tres métodos distintos (N líquido, mortero o macerado a temperatura ambiente de laboratorio durante 4 horas). Se realizaron 6 repeticiones con 6 plantas distintas todas ellas procedentes de la cepa I de La Higuera (Toledo I = ToI). Los resultados obtenidos aparecen en el Cuadro IIa donde se observa que existe claramente mayor sensibilidad a concentraciones de extracto de planta de 1/10 que a 1/20 ó 1/40 para cualquier planta, cualquier parte de la misma y con cualquiera de los métodos de extracción utilizado, y que, en las condiciones de experimentación seguidas, la parte de la planta que mejores resultado dió fué hoja, en cinco de los casos frente a uno, en que con pequeñas diferencias dió mejor resultado en tallo. En todo momento, para este ensayo se utilizó hoja joven. El mejor método de extracción resultó ser el de triturar directamente en mortero con tampón, frente a los de N líquido o macerado. Por el contrario, cuando se utiliza hoja adulta (mes de septiembre), aún empleando ELISA amplificado con biotina-streptavidina, apreciamos lecturas similares en hoja y tallo y menores en raíz (Cuadro IIb); repitiendo el test con hoja más vieja de la misma planta se aprecian lecturas considerablemente menores en hoja que en tallo (Cuadro IIc).

CUADRO II a .- COMPARACION DE D.O. DE TRES PARTES DE LA PLANTA (HOJA, TALLO, RAIZ) A TRES CONCENTRACIONES DIFERENTES 1/10, 1/20, 1/40 Y POR TRES METODOS DE EXTRACCION DISTINTOS (MACERADO, MORTERO Y CON NITROGENO LIQUIDO) EN SEIS PLANTAS PROCEDENTES DE LA VID To I

	I (1)					I (2)					I (3)					I (4)					I (5)					I (6)					
	1/10	1/20	1/40	-	+	1/10	1/20	1/40	-	+	1/10	1/20	1/40	-	+	1/10	1/20	1/40	-	+	1/10	1/20	1/40	-	+	1/10	1/20	1/40	-	+	
N. Liquido	H	0,125	0,125	0,107			0,304	0,316	0,225			0,180	0,171	0,150			0,185	0,160	0,156			0,182	0,160	0,151			0,193	0,163	0,136		
	T	> 2	> 2	1,260			0,422	0,355	0,276			0,234	0,215	0,190			0,268	0,226	0,180			0,300	0,229	0,169			0,215	0,195	0,175		
	R	0,751	0,602	0,403			0,910	0,721	0,491			0,241	0,220	0,149			0,626	0,307	0,216			0,400	0,294	0,265			0,700	0,415	0,386		
Mortero	H	2	0,649	0,572			> 2	0,220	0,200			> 2	0,300	0,250			> 2	0,442	0,225			> 2	1,727	1,215			0,750	0,602	0,569		
	T	1,734	1,500	1,126	0,130	1,216	0,318	0,260	0,200	0,153	0,812	0,354	0,303	0,229	0,150	> 2	0,529	0,442	0,300			1,245	0,400	0,300	0,120	> 2	> 2	0,720	0,490	0,147	> 2
	R	0,864	0,652	0,629			0,580	0,329	0,295			0,237	0,214	0,195			1,800	0,524	0,426			1,700	0,800	0,515	0,120	> 2	1,570	0,490	0,380	0,147	> 2
Macerado	H	0,680	0,571	0,340			0,310	0,192	0,173			0,192	0,180	0,160			0,219	0,157	0,168			0,510	0,335	0,315			0,305	0,300	0,185		
	T	0,975	0,495	0,291			0,209	0,185	0,174			0,219	0,193	0,175			0,170	0,172	0,161			0,210	0,170	0,150			0,231	0,191	0,190		
	R	0,495	0,361	0,287			0,354	0,280	0,225			0,183	0,178	0,171			0,256	0,204	0,210			0,196	0,188	0,190			0,293	0,200	0,196		

CUADRO II b

	Hoja			Tallo			Raíz			Fondo Vid (-)
	1/10	1/20	1/40	1/10	1/20	1/40	1/10	1/20	1/40	
1 hora	0,519	0,359	0,262	0,500	0,382	0,272	0,356	0,323	0,228	0,087
3 horas	0,857	0,586	0,401	0,831	0,637	0,450	0,568	0,516	0,352	0,096
0/N	> 2	1,736	1,188	> 2	1,930	1,307	1,641	1,515	1,026	0,116

CUADRO IIc

	Cepa I (1)			Cepa I (2)			Vid Italia			Vid (+)	Vid (-)	Tampón
	Hoja √	Tallo	Raíz	Hoja √	Tallo	Raíz	Hoja vieja	Tallo	Raíz	Hoja jóven	Hoja jóven	
1 hora	0,241	0,771	0,519	0,160	0,918	0,756	0,155	0,845	0,571	1,012	0,135	0,115
3 horas	0,536	1,838	1,280	0,240	> 2	1,760	0,266	1,942	1,073	> 2	0,208	0,175

III.2.2. COMPARACION DE TAMPONES DE EXTRACCION .- En este segundo ensayo comparamos el comportamiento de la cepa ToI del experimento anterior, tomando tres partes de la misma (raíz, tallo y hoja) y utilizando como tampón de extracción PBS-Tween y PBS-Tween + PVP (polivinil pirrolidona) al 2,5% y ovoalbúmina al 0,2%, utilizando dos métodos de extracción (mortero y macerado durante 6 h a temperatura ambiente). Los resultados obtenidos se indican en el Cuadro III, donde se observa que PBS-Tween no dió lectura en ninguna parte de la planta y a ninguna concentración, mientras que PBS-Tween + PVP lo detectó a concentración 1/10 en cualquiera de las partes de la planta, utilizando el mortero como método de extracción y siendo la lectura mayor en hoja, que en tallo o en raíz. Por último, por el procedimiento de macerado sólo se detectó GFLV en hoja, dando mayor lectura a la concentración de 1/10 que a la de 1/20.

El experimento se repitió con las cepas To4 y To6 y con vides con clara sintomatología de virus, procedentes de dos consultas, testándose del mismo modo raíz, tallo y hoja en las vides To4 y To6 y tallo y fruto (uva entera) y semilla en una de las consultas. Los resultados se recogen en el Cuadro IV en la que se observa lecturas similares en todos los casos, detectándose además el virus tanto en uva entera como en semilla.

Para comprobar la fiabilidad del suero que se venía utilizando, se comparó con otro procedente de un lote nuevo de la misma firma comercial, que dieron lecturas idénticas (Cuadro V).

La obtención frecuente de resultados dudosos o negativos al aplicar el test ELISA a hojas de plantas estaquilladas de la cepa ToI y observar que los resultados eran irreproducibles según las hojas envejecían, mientras que los resultados eran más ó

**CUADRO III.- RESULTADOS DE ELISA COMPARANDO TRES PARTES DE LA PLANTA (HOJA, TALLO, RAIZ) A DOS CONCENTRACIONES DIFERENTES (1/10, 1/20). DOS TAMPONES DE EXTRACCION (PBS-T y PBS-T +PVP) Y POR DOS METODOS DISTINTOS DE EXTRACCION, MORTERO Y MACERADO**

	PBS-T MORTERO		PBS-T + PVP		PBS-T + PVP MACERADO		Controles	
	1/10	1/20	1/10	1/20	1/10	1/20	1/10	1/20
Hoja	0,037	0,012	0,238	0,185	0,282	0,210	CFV (-) 0,632	
Tallo	0,042	0,047	0,583	0,400	0,303	0,090	CFV (+) 1,207	
Raiz	0,045	0,042	0,148	0,055	0,035	0,028	Tampón 0,000	

**CUADRO IV.- VALORES DE ELISA EN FRUTO (UYA ENTERA Y EN PEPITA) COMPARANDO DOS PARTES DIFERENTES DE LA PLANTA Y A CONCENTRACIONES DISTINTAS DE LA VID To 4 y To 6 Y DE DOS MUESTRAS DE CONSULTA CON SINTOMATOLOGIA DE VIROSIS**

	Vid I (4)		Vid I (6)		Vid (3-X-88)		Vid (16-X-88)		Controles
	1/10	1/20	1/20	1/20	1/10	1/20	1/10	1/20	
	Fruto								
Hoja joven	> 2	1,116	1,500	0,635	0,575	0,430	0,650	0,340	CFV (+) 1,2
	Tallo								
Tallo	1,766	1,250	1,253	1,100	0,734	0,356	0,400	0,157	Tampón 0,000
	Pepita								
Raiz	> 2	1,523	1,100	0,908	0,407	0,350	0,452	0,265	CFV (-) 0,056

**CUADRO V: - COMPARACION DE LECTURAS OBTENIDAS UTILIZANDO DOS LOTES DIFERENTES DE SUERO, ANTIGUO Y NUEVO, A TRES CONCENTRACIONES DIFERENTES DE MUESTRA (1/10, 1/20, 1/40)**

Concentración muestra	Suero a		Tampón	Suero b	
	+	-		+	-
1/10	1,407	0,028	0,00	1,417	0,022
1/20	0,725	0,028	0,00	0,805	0,022
1/40	0,610	0,028	0,00	0,578	0,022

menos constante en otras partes de la planta (tallo y raíz), unido al rápido oscurecimiento del extracto de hojas de vid, mientras que permanecían verdes los de Ch. quinoa y los de hojas jóvenes de vid nos llevó a consultar la bibliografía y contactar con otros centros que venían aplicando esta técnica de diagnóstico, concluyéndose que aparecían variaciones dependientes de la naturaleza del tampón de extracción.

De acuerdo con todo ello se planteó un experimento en que manteniendo constantes los tampones de tapizado, conjugado y sustrato, se ensayaron para hojas de las mismas cepas de los experimentos anteriores los siguientes tampones de extracción:

a) PBS-T + PVP 2%; b) PVS-T + PVP + 2,5 % de nicotina; c) AFT (agua fisiológica tamponada) + 2% de PVP + 0,2 de DIECA; d) AFT + 2% de PVP + 2,5 % de Nicotina y e) Tris-HCl 0,5 molar, pH 8.2 + 2% de PVP + 0,05 % de Tween 20 + 1 % de PEG (Polietilen glicol) 6000 + 0,8 % de CLNa + 0,02 % de  $\text{NaN}_3$ . Los resultados obtenidos se reflejan en el Cuadro VI donde se observa que el tampón a) no fué capaz de detectar ninguna de las cuatro muestras positivas, el c) no detectó la número 1 y las 3 y 5 con niveles muy bajos, mientras que los tampones b), d) y e) leyeron todos los positivos con niveles parecidos y en todos los casos altos, cualquiera de los tampones detectaron el virus cuando se trataba de Ch. quinoa. Las diferencias entre estos tampones consisten en que mientras b) y d) contienen Nicotina, que produce síntomas de toxicidad en los usuarios, el e) no contiene Nicotina y dá niveles de lectura similares a los anteriores, lo que representa una ventaja.

El ensayo se repitió con 8 plantas procedentes igualmente del estaquillado de la cepa Tol, frente a los mismos cinco tampones y con diez hojas de la propia cepa Tol tomadas desde la base al brote final, procesadas con los tampones a), c) y e) (Cuadro VII). Los resultados son similares a los del experimento anterior, con el tampón a) no se

**CUADRO VI.- COMPARACION DE TAMPONES DE EXTRACCION FRENTE A MUESTRAS VID To I (PLANTAS 1, 3 y 5), N<sup>os</sup> 36 y 77 DE LA MANCHA Y LOS CORRESPONDIENTES CONTROLES (Ch. quinoa (+), VID (-), TAMPON y Ch. quinoa DE SEMILLERO**

Muestra	Tampones				
	a	b	c	d	e
I (1)	0,050	1,920	0,043	1,422	1,810
I (3)	0,030	> 2	0,710	1,940	1,910
I (5)	0,020	> 2	0,830	1,708	1,925
36	0,035	>2	>2	>2	>2
77	0,010	0,005	0,000	0,013	0,014
Ch. quinoa (+)	1,110	0,900	0,671	0,650	0,812
Vid (-)	0,010	0,011	0,020	0,080	0,010
Tampón	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Ch. quinoa Semillero	0,050	0,012	0,010	0,011	0,012

**CUADRO VII.- REPETICION DE ENSAYO DE TAMPONES DE EXTRACCION EN OCHO PLANTAS DE To I (1 a 8) Y EN DIEZ HOJAS DE UN SARMIENTO DE LA VID To I NUMERADAS DE 1 EN LA BASE A 10 EN EL BROTE TERMINAL. CONTROLES VID TERMOTERAPIA, Ch. quinoa (+ y +) Y DE SEMILLERO**

Muestra Tampón	I (1)	I (2)	I (3)	I (4)	I (5)	I (6)	I (7)	I (8)	Ch. quinoa (+)	Ch. quinoa (-)	Vid (-)	Tampón
a	0,012	0,088	0,594	0,012	0,666	0,090	0,002	0,073	0,910	0,011	0,020	0,000
b	1,011	0,947	0,514	0,893	0,513	0,629	0,637	0,521	0,940	0,017	0,013	0,000
c	0,311	0,016	0,680	0,452	0,518	0,554	0,001	0,002	0,663	0,019	0,020	0,000
d	0,783	0,854	0,750	0,942	0,711	0,774	0,731	0,472	0,872	0,012	0,013	0,000
e	0,828	0,857	0,622	0,918	0,948	0,676	0,450	0,751	0,791	0,019	0,003	0,000

	Vid I								hoja		1-10		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Vid (-)	Tampón	
a	0,709	0,239	0,611	0,422	0,382	0,283	0,275	0,228	0,180	0,422	0,020	0,000	
b	0,576	0,348	0,379	0,578	0,349	0,117	0,010	0,011	0,019	0,232	0,013	0,000	
c	0,771	0,719	0,700	0,634	0,653	0,552	0,210	0,321	0,396	0,380	0,020	0,000	

detectaron virus en cuatro de los ocho casos planteados y con el c) no se leyó en tres de los ocho, y dieron lecturas bajas. Con los tampones b), d) y e) los resultados fueron siempre positivos, de lecturas similares y elevadas, en cualquier caso con los cinco tampones se pudo detectar el virus en Ch.quinoa de modo similar al experimento anterior. En cuanto a los resultados en hoja se pudo leer con los tampones a) y e) en cualquiera de las 10 hojas, con lecturas más bajas en a) que en c). Con el tampón c) dieron negativos cuatro de los diez casos. Hay que señalar que el test de hoja se hizo con material joven, hojas tomadas a los dos meses de haber brotado en invernadero.

De todo lo anterior cabe destacar que es imprescindible utilizar como tampón de extracción para vid Tris-HCl ó cualquiera de los descritos con Nicotina, con los que cualquier hoja de la base al ápice y cualquier parte de la planta (hoja, tallo, raíz) dan resultados positivos. Cualquiera de los tampones ensayados es adecuado para detectar virus en Ch.quinoa.

III.2.3. VARIACION DEL pH EN FUNCION DEL TAMPON UTILIZADO .Debido al fuerte cambio de coloración observado en los extractos de hoja y el fallo de alguno de los tampones de extracción en el test ELISA se prepararon muestras de hoja de la misma planta Tol, en los mismos tampones y a las mismas concentraciones de los ensayos anteriores. Se realizaron de este modo dos experimentos el primero encaminado a comprobar la variación del pH de una misma muestra en los diferentes tampones, comparándola con dicha variación en el propio tampón y en el segundo en hoja tallo y raíz de vid y hoja de Ch.quinoa comparándolas igualmente con las variaciones de pH en los tampones (Cuadros VIII y IX).

CUADRO VIII.- VARIACION DEL pH EN EXTRACTOS DE HOJA DE VID To I EN DIFERENTES MEDIOS DE EXTRACCION.  
COMPARACION DE CADA EXTRACTO CON SU TAMPON A DIFERENTES TIEMPOS

Tampón		Tiempo				
		1 h	2 h	3 h	8 h	0/N
PBS-Tw	Muestra	4,00	3,92	3,91	3,82	3,98
+ PVP 2 % (a)	Tampón	7,20	7,27	7,25	7,25	7,40
(a) +	Muestra	8,70	8,60	8,62	8,38	8,67
2,5 % Nicotina (b)	Tampón	9,60	9,60	9,56	9,52	9,62
AFT + PVP 2%	Muestra	4,40	4,36	4,34	4,33	4,53
+ DIECA 0,2% (c)	Tampón	8,60	8,60	8,60	8,60	8,50
(c) +	Muestra	8,40	8,37	8,37	8,30	8,42
2,5 % Nicotina (d)	Tampón	9,60	9,60	9,58	9,55	9,61
Tris-HCl 0,5 M-pH 8,2	Muestra	8,20	7,90	7,91	7,68	7,94
2% PVP, 1% PEG 0,8% ClNa 0,05% Tw. 20 0,02% NaN <sub>3</sub> (e)	Tampón	8,50	8,00	8,00	7,83	8,06

**CUADRO IX.-COMPARACION DE LA VARIACION DE pH ENTRE DIFERENTES EXTRACTOS  
Y SUS TAMPONES DE PARTES DISTINTAS DE VID (HOJA, TALLO, RAIZ)  
INFECTADAS Y SANAS, Y EN PLANTAS HERBACEAS**

Tampón	Planta	Parte planta	Tiempo		
			12 h	13 h	0/N
A	Ch. quinoa	Hoja	6,97	7,02	6,84
	Vid	Hoja	3,99	4,02	4,06
	Infect.	Raíz	7,06	7,09	6,91
	Vid	Hoja	4,08	4,16	3,92
	Sana	Tallo	6,77	6,69	6,62
	Tampón		7,15	7,16	7,15
B	Ch. quinoa	Hoja	9,38	9,32	9,01
	Vid	Hoja	8,79	8,75	8,54
	(+)	Raíz	9,40	9,38	9,23
	Vid	Hoja	8,87	8,83	8,73
	(-)	Tallo	9,50	9,50	9,37
	Tampón		9,60	9,60	9,58
C	Ch. quinoa	Hoja	7,24	7,38	7,47
	Vid	Hoja	5,84	6,03	6,38
	(+)	Raíz	7,67	7,80	7,86
	Vid	Hoja	6,63	6,28	6,54
	(-)	Tallo	7,32	7,33	7,36
	Tampón		9,06	8,97	8,90
D	Ch. quinoa	Hoja	9,22	9,13	8,82
	Vid	Hoja	8,75	8,70	8,47
	(+)	Raíz	9,32	9,27	9,16
	Vid	Hoja	8,72	8,67	8,56
	(-)	Tallo	9,15	9,15	8,96
	Tampón		9,40	9,51	9,37
E	Ch. quinoa	Hoja	7,96	7,91	7,83
	Vid	Hoja	7,95	7,89	7,70
	(+)	Raíz	8,00	7,93	7,90
	Vid	Hoja	7,86	7,75	7,85
	(-)	Tallo	8,04	7,95	7,94
	Tampón		8,00	7,97	7,97

Las muestras de vid preparadas en los tampones a) y c), que presentaban mayores dificultades en la detección de virus mostraron, variaciones de 3 a 4 unidades de pH respecto al tampón, por el contrario las de Ch. quinoa no mostraron variación del pH respecto a dichos tampones. Estos valores de pH en los distintos extractos se mantuvieron constantes a lo largo de varias horas incluso pasada una noche. Las variaciones de pH en extractos de tallo y raíz de vid fueron mínimas con cualquiera de los tampones utilizados. De todo ello se deduce que aquellos extractos que sufrieron variaciones mínimas de pH tuvieron siempre un resultado positivo en el test ELISA, por el contrario aquellos que sufrieron fuertes variaciones en el pH dieron resultados bajos, negativos o con fallos ocasionales, sin duda debido a que los grandes descensos del pH dan lugar a una *desnaturalización proteica* en los extractos de hoja de vid, ocasionada posiblemente por polifenoles de la planta que son contrarrestados por la acción de la Nicotina y del Tris-HCl.

**Test de concentraciones.** Para calcular la concentración ideal en nuestras condiciones de ensayo, tanto de los anticuerpos del tapizado como de los antígenos (muestra problema) y del conjugado se realizó la siguiente placa de condiciones (Cuadro X). En el Cuadro puede observarse que las concentraciones de anticuerpos de tapizado 1/2000, de antígeno 1/20 y de conjugado 1/4000 dieron lecturas aceptables después de 12 h, pero para tiempos menores, evitar problemas de fondo y, en casos dudosos, en muestras con títulos de virus muy bajos, es conveniente utilizar concentraciones de 1/10 para antígeno y 1/1000 para anticuerpo y conjugado que serán utilizadas de forma standard en los ensayos posteriores.

CUADRO X.- ENSAYO DE DILUCIONES OPTIMAS DE ANTISUERO, CONJUGADO Y DE MUESTRA . LAS LECTURAS DE LAS D.O. ESTAN TOMADAS A 30 MINUTOS Y O/N

Tiempo	anticuerpo									Muestra/Concentración	
	1/800			1/1000			1/2000				
30'	0,63	0,30	0,45	0,67	0,46	0,28	0,36	0,23	0,24	Vid infectada	1/10
O/N	> 2	> 2	> 2	> 2	> 2	1,61	> 2	1,93	1,95		
30'	0,39	0,33	0,30	0,36	0,32	0,28	0,28	0,23	0,24	Vid infectada	1/20
O/N	> 2	> 2	> 2	> 2	> 2	> 2	> 2	1,84	1,90		
30'	0,23	0,18	0,21	0,30	0,22	0,19	0,17	0,15	0,10	Vid infectada	1/40
O/N	1,55	1,38	1,47	> 2	1,64	1,41	1,20	0,91	0,57		
30'	0,09	0,09	0,10	0,09	0,08	0,09	0,09	0,08	0,09	Vid sana	1/10
O/N	0,13	0,12	0,12	0,13	0,10	0,09	0,11	0,10	0,12		
30'	0,05	0,08	0,08	0,07	0,08	0,08	0,09	0,08	0,09	Vid sana	1/20
O/N	0,05	0,10	0,10	0,10	0,09	0,09	0,10	0,09	0,09		
30'	0,08	0,08	0,09	0,09	0,09	0,09	0,08	0,09	0,09	Tampón	
O/N	0,12	0,10	0,10	0,12	0,10	0,10	0,09	0,09	0,10		
				1/1000	1/2000	1/4000					
				conjugado							

### III.2.4. ENSAYOS DE COMPROBACION ENTRE DISTINTAS PARTES Y ESTADOS

DE LA PLANTA FRENTE A DIFERENTES TAMPONES .- Con la planta 8 de la vid ToI se ensaya material fresco y congelado a -20º durante 72 h, de hoja, tallo y raíz procesadas todas ellas de la misma manera en los cinco tampones anteriormente ensayados (Cuadro XI). En los resultados se observan grandes diferencias entre las lecturas de hoja de vid fresca y del material congelado, en cualquiera de los tampones b), d) y e), apareciendo nuevamente resultados negativos con tampón de extracción a) y c) tanto de material fresco como congelado. Estos resultados muestran de nuevo la menor repercusión de la naturaleza de los tampones en algunas partes de la planta de vid, tallo y raíz, así como en Ch.quinoa donde las lecturas son similares con cualquier tampón que se utilice para la extracción.

Para comprobarlo con material procedente directamente del campo se realizó un segundo experimento con tres muestras procedentes de la finca de La Higuera (Toledo) de las cepas 5'(To5'), 22 (To22), 27(To27) y 29 (To29), positivas, así como otras negativas, 1 (To1), 2 (To2), etc., haciendo dos bloques de cada una de las partes de las plantas (hoja y tallo), uno de los cuales se congela durante 48 h a -20ºC y el otro se mantiene a 4ºC, en frigorífico, posteriormente se procesaron ambos lotes de muestras en el tampón de extracción e) (Cuadro XII). Los resultados indican que en las muestras To22, To27 y To29 varían las lecturas de > 2 en hoja fresca a 0,3-0,4 en hoja congelada, siendo buenas las lecturas, > 2 también en tallo. De todo ello podemos concluir que la hoja presenta dificultades si se utiliza congelada en el test ELISA, tanto más cuanto más vieja sea la hoja en el momento de la congelación, a no ser que se triture directamente el material sin descongelar con lo que se consigue mejorar ligeramente los resultados. Las muestras procedentes del primer muestreo de La Mancha se procesaron en Agosto, Abril y Septiembre. En la Tabla XI se reflejan los resultados del ELISA de

**CUADRO XI.-** DETECCION DE GFLV EN DIFERENTES PARTES DE LA PLANTA, HOJA, TALLO, RAIZ, Y ESTADOS DE LA MUESTRA, FRESCO O CONGELADO, EN DISTINTOS MEDIOS DE EXTRACCION. LECTURAS TOMADAS A 1 HORA DE INCUBACION DE SUSTRATO

Muestra		Tampón	a	b	c	d	e
I (8)	Fresco	Hoja	0,050	0,912	0,025	1,080	1,250
		Tallo	0,740	0,600	0,024	0,840	0,860
		Raiz	0,888	0,873	0,028	0,757	0,950
	Congelado	Hoja	0,070	0,915	0,028	0,260	0,282
		Tallo	0,275	0,174	0,020	0,168	0,468
		Raiz	1,095	1,045	0,026	0,235	0,692
		Tampón	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		Vid (-)	0,020	0,025	0,023	0,032	0,028
		Ch. quinoa (+)	1,505	1,550	1,416	1,415	1,455

las muestras que inicialmente resultaban positivas. Por procesos de congelación y descongelación, ya que no estaban alicuotadas las muestras, los resultados fueron cada vez menos reproducibles.

CUADRO XII - COMPARACION DE LECTURAS EN LA DETECCION DE GFLV DE HOJA DE MUESTRAS POSITIVAS DE LA FINCA "LA HIGUERUELA" DE MATERIAL FRESCO Y CONGELADO EN MEDIO DE EXTRACCION (E)

Muestra	Estado	
	Fresco	Congelado
22	> 2	0,312
27	1,931	0,301
29	> 2	0,401
I	1,650	0,295
Tampón		0,000
Vid (-)		0,028

### III.2.5. SENSIBILIDAD DEL TEST ELISA PARA DISTINTAS CONCENTRACIONES

DE MUESTRA .- Una vez establecida la concentración más adecuada de anticuerpos, interesa comprobar hasta que concentración de antígeno es sensible el método, tanto en extractos de Ch.quinoa como de vid, para ello se prepararon diluciones en ambas fuentes de material de 1/5 a 1/10240 (Cuadro XIII), resultando claramente positivas en Ch.quinoa las diluciones hasta 1/2560, mientras que en vid la máxima concentración con resultado positivo fué entre 1/80 y 1/160 . El experimento se repitió con las mismas diluciones pero utilizando tapizados de placa de 200 y 100 ul, no se apreciaron diferencias significativas en los resultados, aunque se tardó mas tiempo para conseguir las mismas lecturas (Cuadro XIV), con el riesgo que supone la aparición de fondos más altos a tiempos más largos, que dificulta por lo tanto la lectura de titulaciones débiles, (Fig.32).

Debido a la aparición de fondos muy altos en los controles negativos se penso que algún tampón actuaba incorrectamente o se deterioraba con facilidad, a fin de comprobar esta hipótesis se ensayaron los tampones a), b), e) y e') de extracción, siendo el e' ) igual al e) más Nicotina frente a otros tampones conjugados y tampones sustrato procedentes de distintos Kids o los preparados en el laboratorio en momentos diferentes (Cuadro XV). Las muestras utilizadas fueron la planta 2 de la ToI, tomando hojas de la 1 a la 8 desde la base del tallo a la parte apical del mismo, y Ch.quinoa, inoculado con virus de dicha planta. Los extractos se prepararon a la concentración 1/10 en el correspondiente tampón.

CUADRO XIII y XIV .- VARIACION DE LA D.O. A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE MUESTRA DE C. quinoa Y VID. LECTURAS TOMADAS A 1 HORA DE INCUBACION DE SUSTRATO

200 µl

Concentración	Ch. quinoa (+)	Vid (+) $\Sigma_1^8$ I	Ch. quinoa (-)	Tampón
1/5	> 2	> 2	—	0,110
1/10	> 2	> 2	0,150	0,110
1/20	> 2	1,762	0,145	0,110
1/40	> 2	1,190	0,155	0,110
1/80	> 2	0,805	—	0,110
1/160	> 2	0,550	0,149	0,110
1/320	1,440	0,396	—	0,110
1/640	0,850	0,280	0,160	0,110
1/1280	0,495	0,216	—	0,110
1/2560	0,326	0,170	—	0,110
1/5120	0,230	0,159	—	0,110
1/10240	0,180	0,148	—	0,110

100 µl

Concentración	Ch. quinoa (+)	I (1) (+)	Vid (+) 100 µl muestra	Vid (-)	Tampón
1/5	> 2	> 2	—	—	0,089
1/10	> 2	1,862	1,712	0,117	0,089
1/20	> 2	1,330	1,207	0,112	0,089
1/40	2,000	1,030	0,943	—	0,089
1/80	1,500	0,860	0,725	0,123	0,089
1/160	0,970	0,605	0,476	—	0,089
1/320	0,550	0,280	0,257	0,130	0,089
1/640	0,340	0,175	0,160	—	0,089
1/1280	0,233	0,135	0,130	0,130	0,089
1/2560	0,180	0,127	0,120	—	0,089

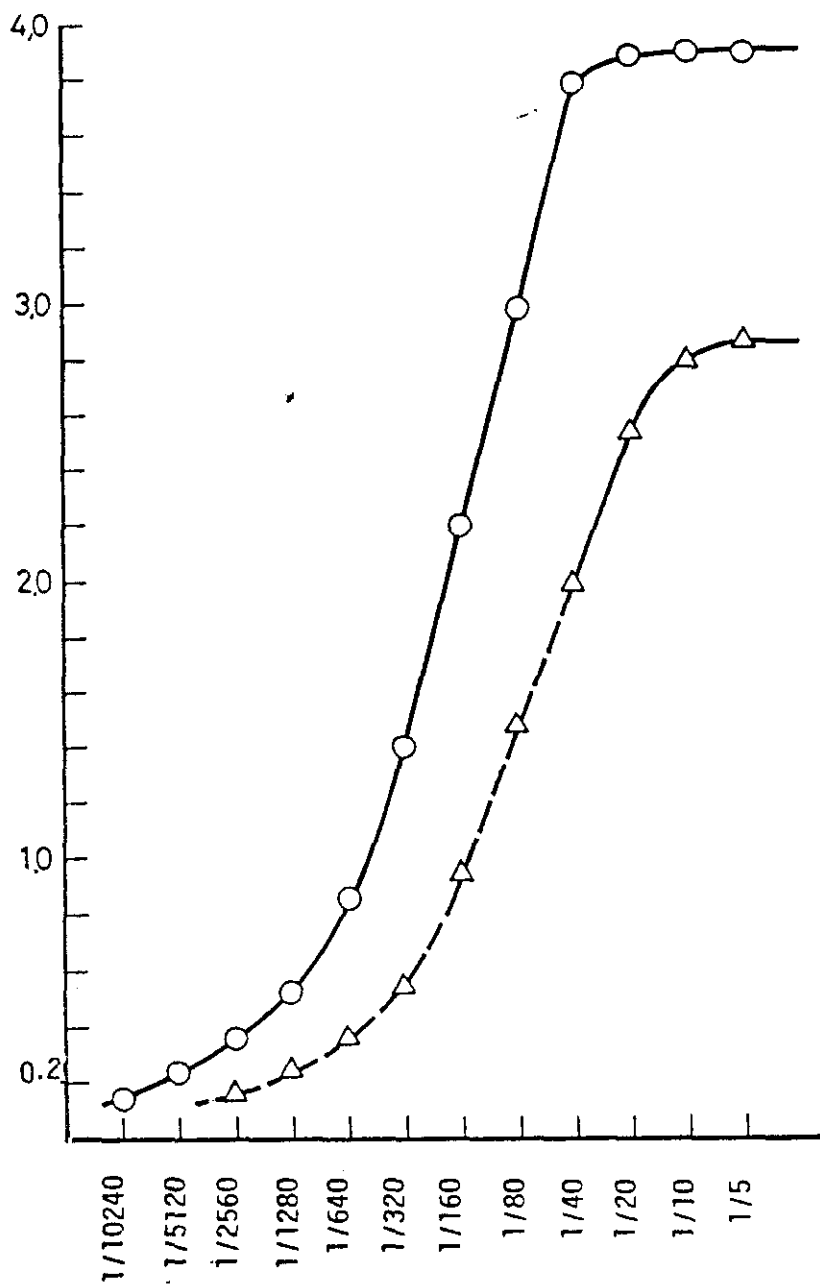


Fig. 32 - Variación de la D.O. en Ch. quinoa, —○—, y en hoja de vid, ---△---, en función de la concentración de la muestra. Lecturas tomadas a 3 horas de incubación de sustrato

CUADRO XV.-COMPARACION DE D.O. CONJUGANDO TAMPONES DE EXTRACCION, CONJUGADO Y SUSTRATO. LECTURAS TOMADAS A 3 HORAS DE INCUBACION DE SUSTRATO

Tampón sustrato Tampón conjugado	Tampón de extracción							
	a		b		e		e <sup>-</sup>	
	I	II	I	II	I	II	I	II
1	0,147	0,157	> 2	1,965	>2	>2	>2	1,861
2	0,159	0,101	> 2	> 2	>2	>2	>2	>2
3	0,127	0,142	> 2	> 2	>2	>2	>2	>2
4	0,167	0,175	> 2	> 2	>2	>2	>2	>2
5	0,151	0,124	> 2	> 2	>2	>2	>2	>2
Vid (-)	0,108	0,102	0,110	0,112	0,102	0,120	0,103	0,110
Tampón	0,091	0,095	00,93	0,089	0,085	0,098	0,090	0,093
Ch. quinoa (+)	> 2	> 2	> 2	> 2	>2	> 2	> 2	> 2

Tampón de extracción

a	PBS-T + PVP
b	" " + 2,5 % Nicotina
e	Tampón vid
e <sup>-</sup>	" " + 2,5% Nicotina

Tampón conjugado

1	PBS-T + PVP + BSA
2	" " " recién preparado
3	Tampón conjugado de Vid
4	Tampón vid
5	PBS-T + PVP sin BSA

Tampón sustrato y sustrato

I	Tampón sustrato y sustrato de Kid
II	" " y sustrato general

CUADRO XVI.- DETECCIÓN DE GFLV EN VID To I CON DOS SUEROS, LOTE ANTIGUO Y NUEVO,  
EMPLEANDO CUATRO TAMPONES DE EXTRACCIÓN (A), (B), (E) y (E').  
LECTURAS TOMADAS A 30 Y 60 MINUTOS DE INCUBACIÓN DE SUSTRATO

Muestra	Tampón	Suero antigeno			
		a	b	e	e'
I (1)		0,548	0,615	1,150	0,747
		1,419	1,567	> 2	> 2
I (4)		0,113	0,202	0,455	0,431
		0,126	0,426	1,290	1,000
I (8)		0,136	0,136	0,429	0,296
		,156	0,303	1,131	0,722
Ch. quinoa (-)		0,140	0,138	0,176	0,156
		0,181	0,108	0,275	0,206
Tampón		0,124	0,127	0,134	0,128
		0,151	0,146	0,157	0,141
Ch. quinoa (+)		1,617	1,073	1,522	1,477
		> 2	> 2	> 2	> 2

Suero nuevo			
a	b	e	e'
0,607	1,043	1,428	1,252
1,745	> 2	> 2	> 2
0,129	0,294	0,652	0,787
0,160	0,750	1,909	> 2
0,130	0,234	0,668	0,505
0,204	0,543	1,925	1,399
0,175	0,149	0,162	0,172
0,227	0,221	0,263	0,225
0,124	0,137	0,149	0,136
0,159	0,169	0,177	0,160
1,948	> 2	1,929	> 2
> 2	> 2	> 2	> 2

Lectura a 30'  
" a 60'

Muestra

I (1) Hoja joven (brote)  
I (4) " " (posición media en el tallo)  
I (8) " " vieja (próxima a la base del tallo)

Tampones

a = PBS-T + PVP  
b = " " + 2,5% Nicotina  
e = Tris ClH. pH 8,2. 0,5 M  
e' = " " + 2,5% Nicotina

Asimismo, se comprobó si el tampón Tris (tampón e) mejoraba su acción antioxidante al añadirle nicotina al 2,5%, utilizandolo en hojas que habían estado sometidas a temperaturas altas (Fig.33) en invernadero. Se midieron y comprobaron la composición y pH de todos los tampones así como el pH de los distintos extractos utilizados, obteniéndose resultados coincidentes con los de los Cuadros VIII y IX, así el pH fué de 4,2 en el tampón a), 8,7 en el b), 8,2 en el e) y 8,44 en el e'). Los Cuadros XVI muestran los resultados de los test ELISA efectuados en este material y con los citados tampones, donde se comprueba que la adición de nicotina no mejoró los resultados obtenidos con el tampón e). Las hojas jóvenes dieron lecturas muy superiores a las viejas, más próximas a la base del tallo (Cuadro XVII). Las muestras extraídas en el tampón a) dieron resultados negativos en dos de las cinco muestras testadas y, las positivas, siempre con lecturas muy inferiores (menores del 50%) a las obtenidas con los otros tampones. En el caso de Ch. quinoa los resultados fueron similares con todos los tampones. Los tampones conjugados, preparados con BSA (Seroalbúmina bovina) con anterioridad mostraron peores resultados que los recién preparados o los que no contienen BSA.

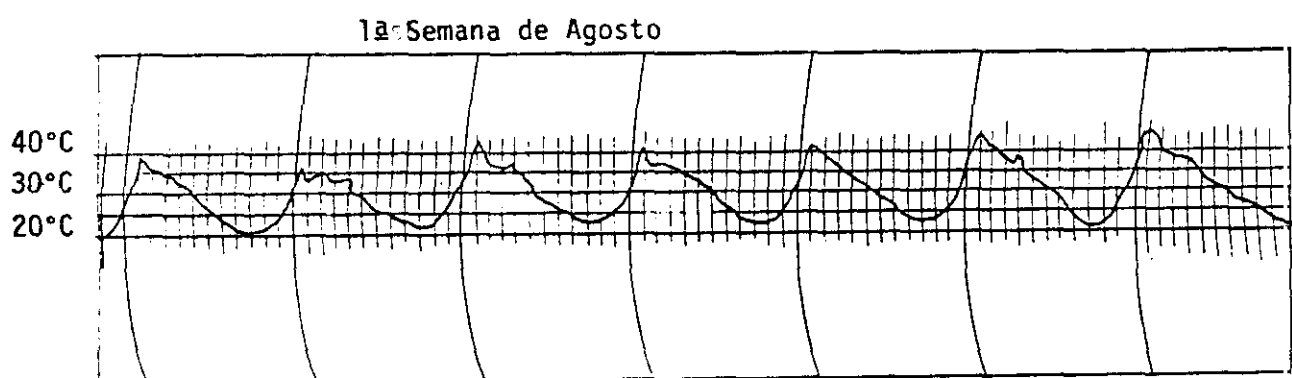


Fig. 33 .- Curva de temperaturas del termohidrógrafo durante la primera semana de Agosto y en Invernadero. Gráficas similares se han registrado de mitad de Julio a mitad de Agosto y a lo largo de cuatro años de seguimiento

CUADRO XVII .- COMPARACION DE D.D. EN HOJAS DE VID T<sub>0</sub> I EN FUNCION DE SU POSICIÓN EN EL TALLO N<sup>o</sup> 1 EN LA BASE A N<sup>o</sup> 10 EN EL BROTE FINAL

Hoja	Lectura	Vid (-)	Tampón
1	0,461		
2	0,478		
3	0,675		
4	0,803		
5	0,803		
6	1,200	0,132	0,103
7	> 2		
8	> 2		
9	> 2		
10	> 2		

En los "ependorf" con extractos preparados, introducidos en hielo, se observó un oscurecimiento progresivo desde la superficie al interior del tubo, incrementándose, esta coloración, con el tiempo y siendo mayor cuanto más vieja era la hoja testada (Fig.34). A fin de evitar el contacto con el aire de la muestra y para evitar los fenómenos de oxidación, se añadieron en los pocillos de ELISA, 50  $\mu$ l de dos tipo de sustancias no mixcibles con el extracto (vaselina y butanol saturado en agua). Los resultados obtenidos se indican en el Cuadro XVIII, manifestándose un ligero incremento de la lectura para las muestras con vaselina, sobre todo para el tampón Tris-HCl, y no se observó variación alguna en las cubiertas con butanol respecto a las testigo.

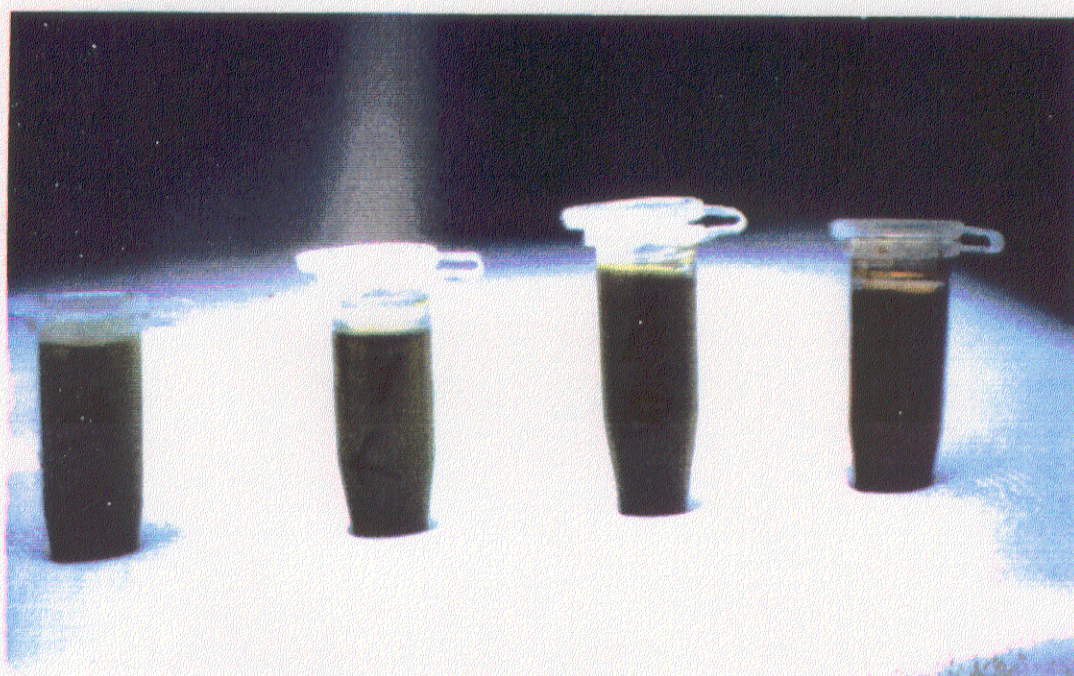


Fig. 34.- Extracto de hoja de Ch. quinoa y de hoja de vid. Ch. quinoa después de 12 horas de homogeneizado. A, B, C hoha de vid a 1, 3 y 12 horas de su extracción

CUADRO XVIII. - COMPARACION DE D.O. EN CONTROLES POSITIVOS Y NEGATIVOS, FRENTE A TAMPON DE EXTRACCION (E) CON Y SIN NICOTINA Y CUBRIENDO O SIN CUBRIR LOS POCILLOS CON 50  $\mu$ l DE BUTANOL O VASELINA

Tampón vid con nicotina		Tampón vid sin nicotina		Tampón vid con nicotina		Tampón vid sin nicotina		Ch. quíroa (+)
0,784	0,888 (V)	0,360	0,663 (V)	1,677		1,415 (V)		
0,588	0,574 (V)	0,485	0,439 (V)	1,696 (B)		2		
0,405 (B)	0,637 (B)	0,350 (B)	0,312 (B)	0,100 (B)		0,100 (B)		Tampón
1,112 (V)	0,434	0,637 (V)	0,378	0,100 (V)		0,100		
1,178 (V)	0,388	0,582 (V)	0,365	0,120 (B)		0,134		Vid (-)
1,232 (B)	0,609 (B)	0,755 (B)	0,674 (B)	0,120 (V)		0,112 (V)		

V. Pocillo cubierto con vaselina

B. Pocillo cubierto con butanol

Al cambiar de lote de sueros, es aconsejable comparar el lote antiguo con el nuevo, frente a los controles que se vengán utilizando como positivos y negativos, así como sobre las plantas herbáceas utilizadas en los ensayos de transmisión, tanto mecánica como por vectores. El Cuadro XIX muestra los resultados obtenidos al comparar dos lotes de sueros con dos tampones de extracción (e y e'), sin cubrir y cubriendo con butanol y vaselina respectivamente, donde se aprecian notables diferencias entre los resultados obtenidos con el suero antiguo y el nuevo, pequeñas diferencias en los cubiertos con vaselina frente a los testigos sin cubrir, no apareciendo diferencia alguna en los cubiertos con butanol, así como ligeras diferencias respecto a los tampones de extracción, con o sin nicotina.

**CUADRO XIX.- COMPARACION DE DOS LOTES DE SUERO, ANTIGUO Y NUEVO, FRENTE A DISTINTOS MEDIOS DE EXTRACCION Y MUESTRAS POSITIVAS To I (2,3,4), AMARILLA, To 22 Y A SUS CORRESPONDIENTES CONTROLES POSITIVOS Y NEGATIVOS. LECTURAS TOMADAS A 1 HORA DE INCUBACION DE SUSTRATO**

Muestras  Tampones de extracción	I (2)		I (3)		I (4)		Amarilla		22		Controles		Vid Tampón Ch. quinoa (+)  Vid Tampón (-)
	Suero		Suero		Suero		Suero		Suero		Suero		
	Antígeno	Nuevo	Antígeno	Nuevo	Antígeno	Nuevo	Antígeno	Nuevo	Antígeno	Nuevo	Antígeno	Nuevo	
A	0,436	1,902	0,336	1,096	0,527	> 2	0,176	0,214	0,204	0,218	> 2	> 2	
B	0,401	1,225	0,424	1,154	0,530	1,886	0,229	0,408	0,525	0,575	> 2	> 2	
C	0,356	0,519	0,449	1,118	0,393	> 2	0,268	0,406	0,247	0,422	1,605	> 2	
D	0,309	1,300	0,363	1,402	0,522	1,822	0,333	0,438	0,290	0,505	0,075	0,088	
E	0,396	> 2	0,392	1,329	0,598	> 2	0,286	0,325	0,234	0,386	0,066	0,069	
F	0,254	1,156	0,374	1,139	0,529	1,797	0,353	0,427	0,267	0,609	0,100	0,120	

**TAMPONES DE EXTRACCION**

- A. Vid con Nicotina 2% y pocillos sin cubrir
- B. Vid sin Nicotina y pocillos cubiertos con 50 µl de vaselina
- C. Vid con Nicotina 2,5 % y pocillos cubiertos con 50 µl de butanol
- D. Vid sin Nicotina y pocillos sin cubrir
- E. Vid con Nicotina al 2,5% y cubiertos con 50 µl de vaselina
- F. Vid sin Nicotina y pocillos cubiertos con 50 µl de butanol

En ocasiones al utilizar lotes nuevos de sueros frente a plantas de Ch. quinoa procedentes de semillero o de testigos negativos en experimentos de transmisión en invernadero, se han obtenido lecturas muy elevadas, incluso a nivel de positivos débiles, unas tres veces superiores al control negativo de vid (Cuadro XX), probablemente debido a que dicho suero reconoce proteínas de la planta, quizás utilizada para su obtención. Esto representa un grave problema para la detección del virus en los experimentos de transmisión a planta herbácea, ya mecánicamente o a través de vectores.

CUADRO XX .- OBSERVACIONES DE FONDOS ALTOS Y POSITIVOS EN Ch. quinoa DE SEMILLERO SIN INOCULAR. COMPARACION DE D.O. ENTRE Ch. quinoa TESTIGO, INOCULADA CON VID DE TERMOTERAPIA COMO CONTROL (-) Y TAMPON

<u>Tiempo</u> <u>Muestra</u>	1 hora	2 horas	0/N
<u>Ch. quinoa</u> de semillero	0,487	0,825	1,429
<u>Ch. quinoa</u> inoculado con GFLV de vid To I	0,872	1,450	> 2
<u>Ch. quinoa</u> inoculado con GFLV de Vid To Amarilla	0,505	0,733	1,218
Vid (-) de termoterapia	0,118	0,148	0,197
Tampón	0,900	0,102	0,118

### III.3. VARIACION DE LA CONCENTRACION DEL VIRUS.

Durante los años 1988 a 1991 se realizó un seguimiento periódico de las plantas que, en el muestreo realizado en La Higuera, según el diseño al azar antes descrito, resultaron positivas (To5', To6', To8', To11', To15, To22, To27 y To29). Como controles negativos se utilizaron las To1 y To2, mientras que para el positivo se eligieron las To1 y To11, que habían sido detectadas como fuertemente positivas en 1988. El material procedente de la cepa To1, estaquillado en invernadero desde 1988 y que se utilizó en la comprobación y puesta a punto del test ELISA en laboratorio, fué también objeto de seguimiento a lo largo del periodo indicado a fin de comprobar que parte de la planta y qué época del año eran las más indicadas para utilizarse como fuentes de virus. Asimismo se realizó el mismo seguimiento en La Mancha, en focos claramente positivos, en las zonas de Socuéllamos (dos focos), Ossa de Montiel (uno) y Valdepeñas (dos).

Los resultados del muestreo de La Higuera se reflejan en los Cuadros XXI, XXII y XXIII, Tabla XII y Figs. 37, 38, 39 y 40 de los que se deduce que en raíz y tallo las absorbancias obtenidas se mantienen constantes a lo largo de todo el año, siendo inferiores en raíz que en tallo. En hoja las lecturas son superiores a las detectadas en tallo y en raíz durante la primavera y principio de verano, decreciendo paulatinamente hasta no ser detectables a finales de otoño en campo pero si en invernadero (Cuadro XXV, Fig 41) siendo las de hoja joven muy superiores a las obtenidas en el resto de la planta. En fruto, puede detectarse el virus en cualquiera de sus partes (piel, pulpa, pepita e incluso en mosto)(Fig. 42), destacándose que la pepita dá lecturas muy superiores a las otras partes del fruto, muy similares a las obtenidas para hoja joven.

**CUADRO XXI.- DETECCION DE GFLV EN CEPAS CONTROL DE LA FINCA EXPERIMENTAL "LA HIGUERUELA". SEGUIMIENTO PERIODICO Y ESTUDIO DE LA PRESENCIA DE VIRUS EN DISTINTOS TEJIDOS DE LA PLANTA.**

	1	2	5'	6'	8'	11'	15	22	27	29	I	II	Amar.	Vig.	Vec.	
Muestras compuestas por cuatro brotes finales de tallos de 10 cm. Hoja joven	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	19-6-1989
3 muestras por cepa. Hoja - Tallo - Raiz	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	7-6-1990
Muestras de hoja muy joven	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	21-6-1990
Hoja joven - Tallo base	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	4-7-1990
Hoja j.- Tallo v.- Raiz Suma de cuatro orientaciones de la planta	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	11-7-1990
Hoja v.- Hoja j. Brote final - Suma madera	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	18-7-1990
Suma de brotes finales	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	25-7-1990
Hoja base del tallo Hoja del brote final Madera de la base	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	31-7-1990
Control de hojas muy jóvenes nacidas con fuertes temperaturas	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	7-8-1990
Suma de Hoja vieja " joven " madera base	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	13-8-1990
Hoja vieja - Hoja joven Suma madera - brote	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	22-8-1990
Hoja vieja - Hoja joven Madera v. - Madera j. Suma de uva - Raiz	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	--	25-8-1990
Piel - pulpa - pepita raquis y mosto									++	++	++	++	++	++	--	31-8-1990
									+	+	+	+	+	+	-	5-9-1990
									++	++	++	++	++	++	--	12-9-1990
									++	++	++	++	++	++	--	19-9-1990
									++	++	++	++	++	++	--	23-9-1990





1-10-90	11-10-90	12-2-91	11-3-91	5-4-91	19-4-91	12-6-91	6-9-91
Planta 1 HOJA JOVEN 1,040 VIEJA 0,555	Planta 2 HOJA JOVEN 1,290 VIEJA 0,720 TALLO JOVEN 0,682 VIEJO 0,645 RAIZ JOVEN 1,100 VIEJA 0,660	Planta 1 HOJA 1 0,980 2 1,024 3 1,106 4 0,980 5 1,200 Planta 4 HOJA 1 1,232 2 1,110 3 1,304 4 1,226 5 1,175 CI I HOJA 1,572 I TALLO 0,900 I RAIZ 0,600 C II I HOJA 1,130 I TALLO 0,980 I RAIZ 0,715 Amarilla I HOJA 0,980 I TALLO 0,460 I RAIZ 0,300 8 I HOJA 1,100 I TALLO 0,640 I RAIZ 0,430 11 I HOJA I TALLO 0,580 I RAIZ 0,425	Planta 3 HOJA 1 2,053 2 1,877 3 1,993 4 1,824 5 2,154 6 2,120 7 2,523 8 2,527 9 2,577 10 2,534 Planta 4 HOJA 1 1,882 10 2,248	Planta 1 HOJA 1 1,195 2 1,148 3 1,150 4 1,179 5 1,187 6 1,151 7 1,274 8 1,423 9 1,471 10 1,773 Planta 4 HOJA 1 1,426 2 1,545 3 1,463 4 1,332 5 1,207 6 1,299 7 1,965 8 1,866 9 2,261 10 1,987 Planta 6 HOJA 1 1,059 3 1,111 5 1,242 7 1,272 9 1,119 Planta 8 HOJA 1 1,227 3 1,270 5 1,412 7 1,412 9 1,508	Planta 2 HOJA 1 0,814 3 0,767 5 1,111 7 1,159 9 1,220 TALLO 1 0,994 3 0,961 5 1,268 7 1,291 9 1,279	Planta 8 HOJA 1 0,867 2 0,882 3 0,886 4 0,941 5 1,224 6 1,264 7 1,300 8 1,179 9 1,900 10 1,815 ZARCILLO 1 1,100 2 1,080 3 0,980 4 1,375 5 1,320 6 1,100 7 1,400 8 1,200 9 1,350 10 1,400 Planta 4 HOJA 1 1,071 2 1,015 3 0,924 4 0,800 5 1,023 6 0,740 7 1,508 8 1,075 9 1,631 10 1,552 Planta 1 1 0,940 5 1,125 9 1,720 Planta 2 1 0,664 5 0,975 9 1,585 Planta 3 1 0,722 5 0,958 9 1,841	Planta 5 HOJA 1 0,979 5 1,256 9 1,904 Planta 6 1 0,952 5 1,496 9 1,715 Planta 4 HOJA 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 TALLO 1 1,727 2 1,776 3 0,984 4 0,980 5 1,012 6 0,844 7 0,227 8 1,126 9 1,222 10 1,485

CUADRO XXIII.- DETECCION DE GFLV EN HOJA Y TALLO DE VID To I (Invernadero, Septiembre). COMPARACION DE D.O. SEGUN SU POSICION Y TIEMPO DE LECTURA

PLANTA 4	30'				60'				90'				120'				5 h				20 h			
	Lectura	Fondo	-	+	Lectura	Fondo	-	+	Lectura	Fondo	-	+	Lectura	Fondo	-	+	Lectura	Fondo	-	+	Lectura	Fondo	-	+
Hoja 1	0,451				0,852				1,186				1,520				3,186				3,908			
" 2	0,408				0,812				1,113				1,426				3,102				3,907			
" 3	0,429				0,810				1,150				1,454				2,995				3,685			
" 4	0,584				1,145				1,630				2,100				3,507				3,859			
" 5	0,685				1,290				1,822				2,331				3,792				3,605			
" 6	0,695				1,375				1,950				2,487				3,698				3,685			
" 7	0,710				1,440				2,100				2,675				3,759				3,598			
" 8	0,750	0,097	0,102	0,357	1,465	0,109	0,117	0,685	2,094	0,121	0,129	0,937	2,685	0,130	0,140	0,222	3,879	0,188	0,204	2,617	3,970	0,225	0,229	3,382
" 9	0,809				1,683				2,360				2,973				3,659				3,788			
" 10	1,051				2,172				2,950				3,512				3,546				3,773			
Tallo 1	0,888				1,796				2,527				3,091				3,520				3,712			
" 2	0,925				1,811				2,570				3,103				3,784				3,846			
" 3	0,510				0,981				1,403				1,817				3,447				3,664			
" 4	0,490				0,980				1,390				1,808				3,464				3,711			
" 5	0,483				0,976				1,390				1,812				3,314				3,773			
" 6	0,430				0,845				1,206				1,560				3,145				3,558			
" 7	0,380				0,712				1,030				1,325				2,918				3,799			
" 8	0,555				1,097				1,575				2,042				3,499				3,775			
" 9	0,604				1,175				1,688				2,188				3,446				3,886			
" 10	0,711				1,456				2,077				2,647				3,597				3,664			

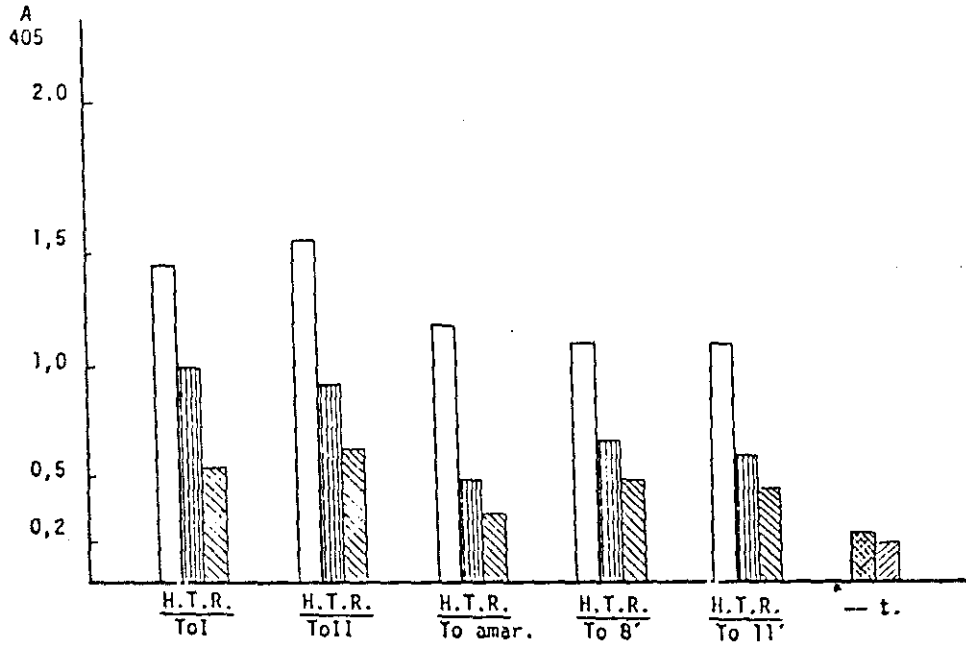


Fig.37a.- Comparación de D.O. entre hoja, tallo y raíz de material estaquillado en invernadero procedente de las vides To I, To II, To amarilla, To 8' y To 11'

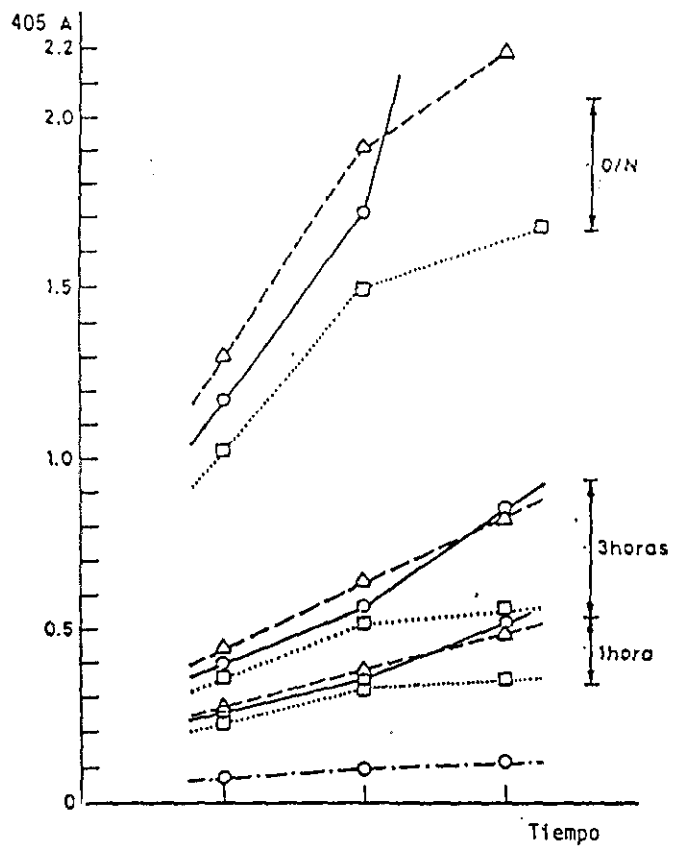


Fig.37b.- Diferencia de D.O. en la detección de GLV en hoja-Δ-Δ-Δ; tallo-○-○-○ y raíz-□-□-□. Lecturas tomadas a 1, 3 horas y 0/N de incubación de sustrato

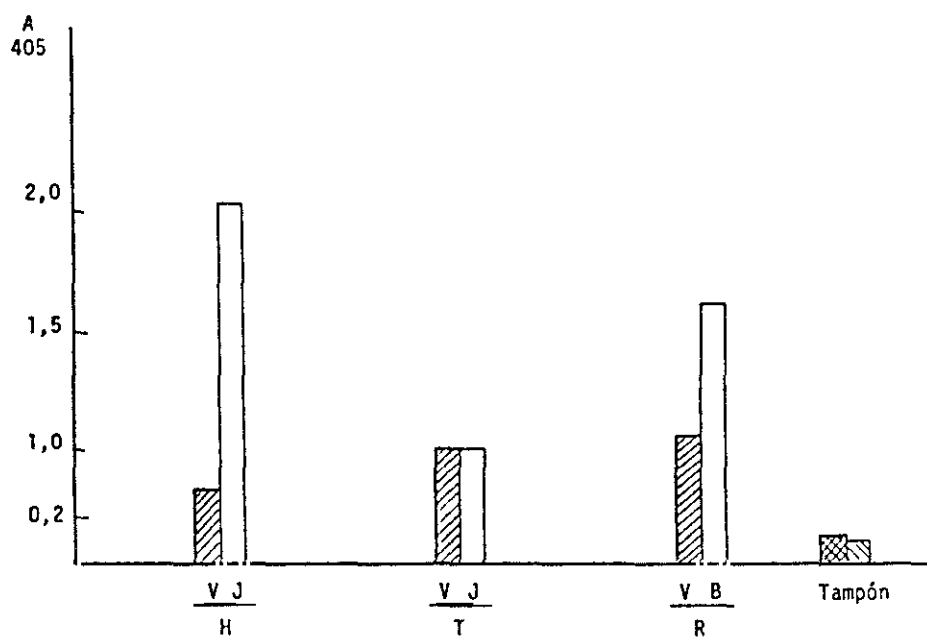


Fig. 38a -- Comparación de D. O. entre hoja joven-vieja; tallo joven- viejo; raíz vieja-blanca. Material vegetal procedente de la vid To I (planta nº 3). Comienzo de otoño

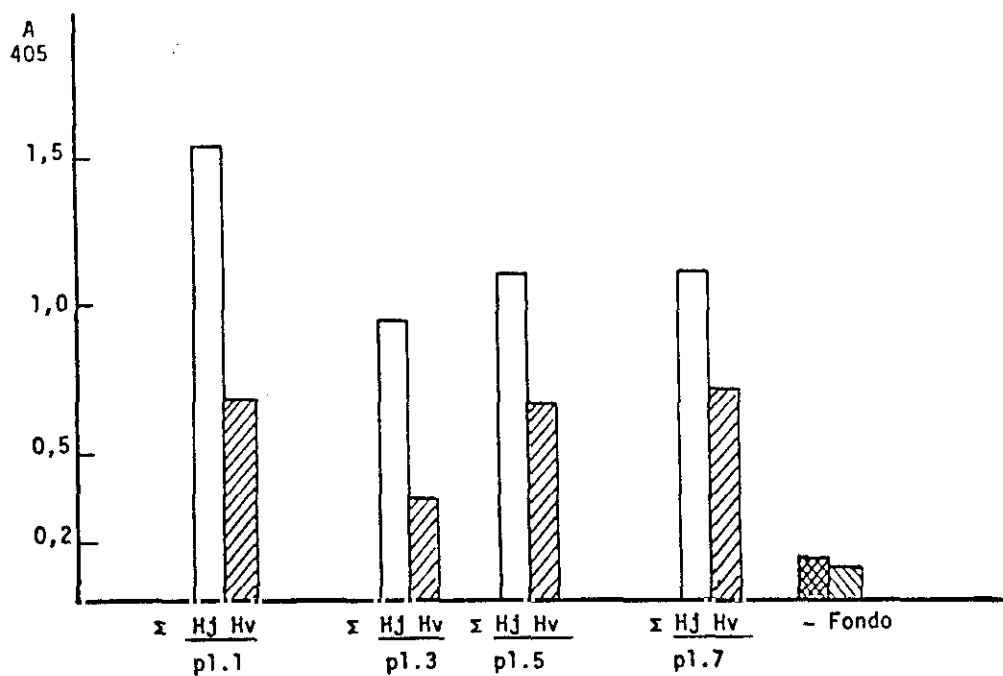


Fig. 38b.- Comparación de Absorbancia de Σ H vieja y Σ H joven en planta estaquillada en invernadero, procedentes de la vid To I (nº 1, 3, 5 y 7)

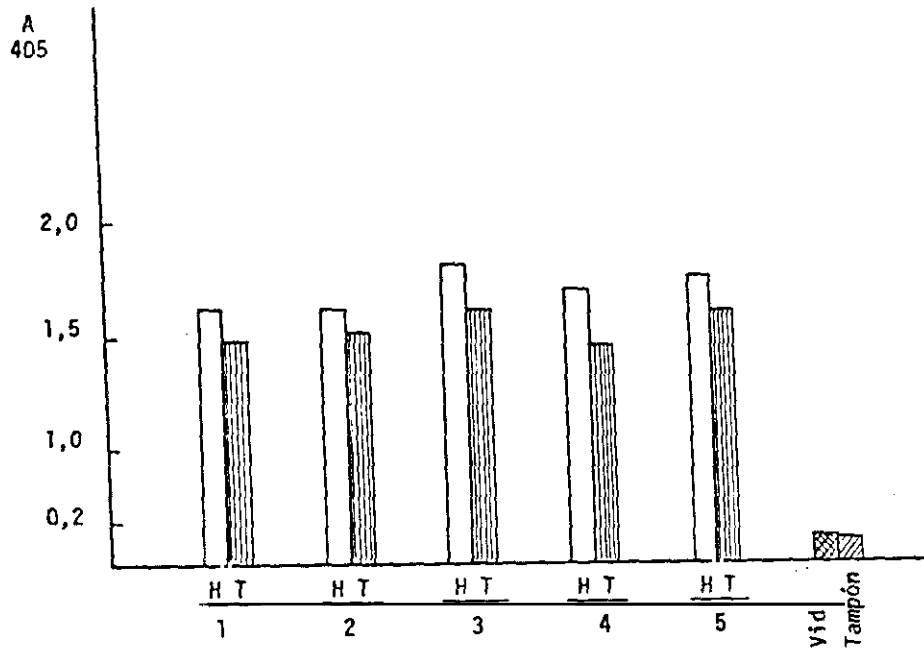


Fig.39a.- Detección de GFLV en hoja y tallo muy jóvenes (Febrero, Invernadero) en distinta posición en tallo - 1 en la base a 5 en el brote -. Lecturas tomadas a 1 hora de incubación de sustrato.

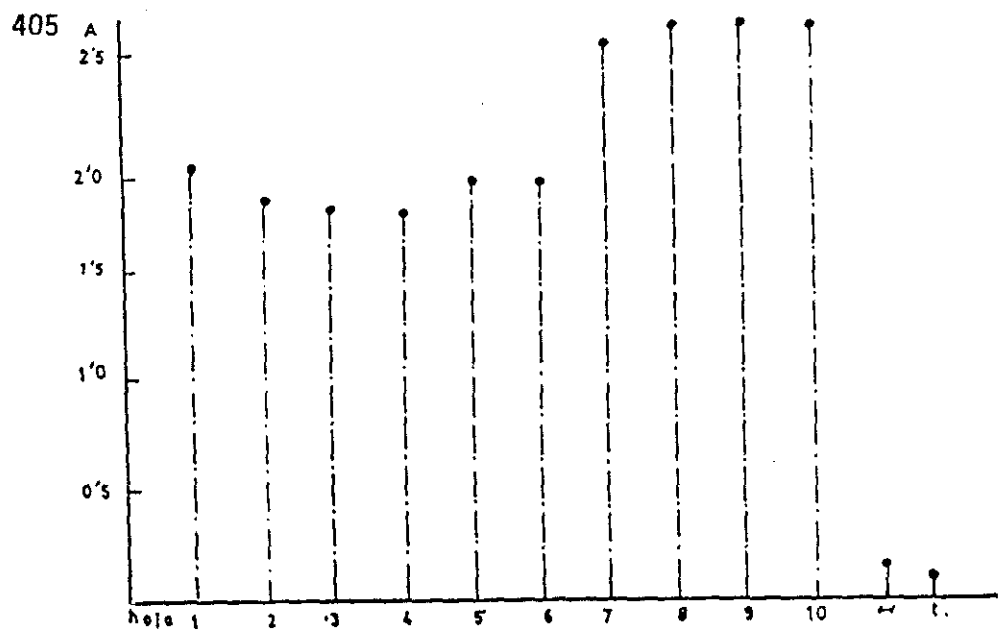


Fig.39b.- Detección de GFLV en hoja de vid To I (3) en distinta posición en tallo, de 1 en la base a 10 en el brote. Lecturas tomadas a 1 hora de incubación de sustrato (Marzo 1991)

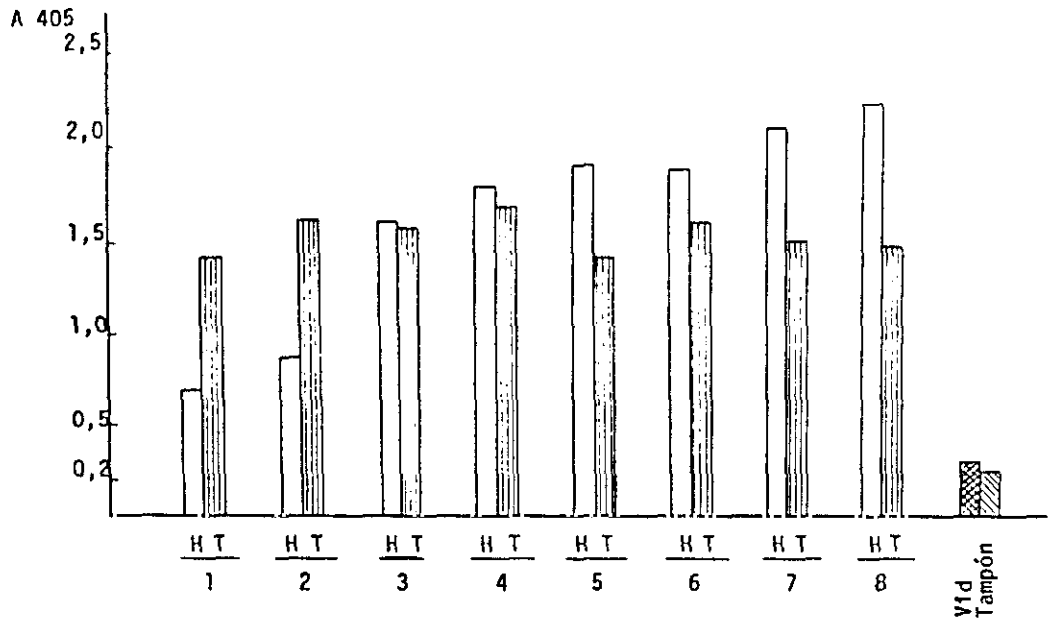


Fig. 40a.- Histograma de Absorbancias de hoja y tallo de la vid To I en Agosto. Comparación de D.O. según su posición en el tallo ( 1 en la base a 8 próximo al brote final )

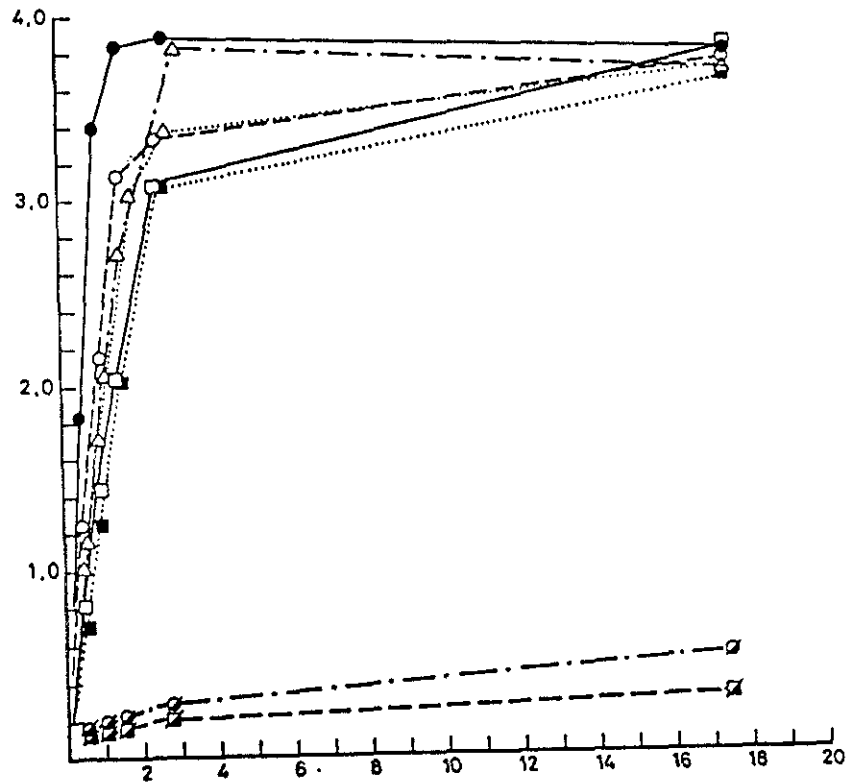


Fig.40b.- D.O. de muestras de hoja de vid To I (planta 8) según su posición en el tallo nº 1 cerca de la base a 9 en brote. Hoja 1-■-■-■-; hoja 3-□-□-□-; hoja 5-○-○-○-; hoja 7-△-△-△-; hoja 9-●-●-●-; vid control (+)-⊙-⊙-⊙-; vid control (-)-⊞-⊞-⊞- y tampón (Septiembre)

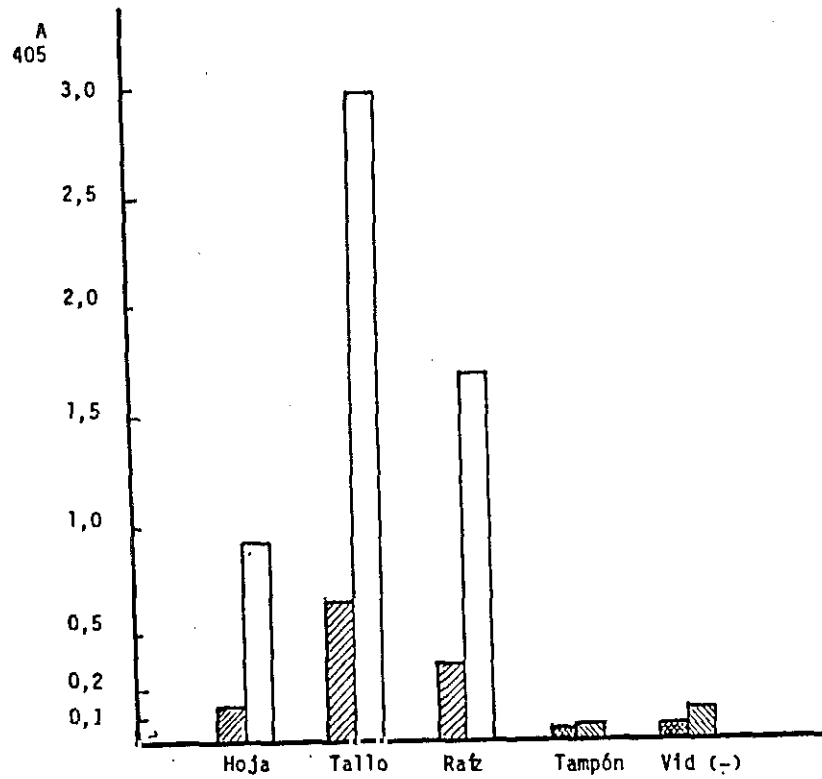


Fig. 41 .- Histograma de Absorbancias de la muestra vid cepa Amarilla, en diciembre, estaquillada en Invernadero. Comparación de Absorbancias entre hoja, tallo y raíz. Lecturas tomadas a 1 hora (▨) y 0/N (□) de inoculación de sustrato

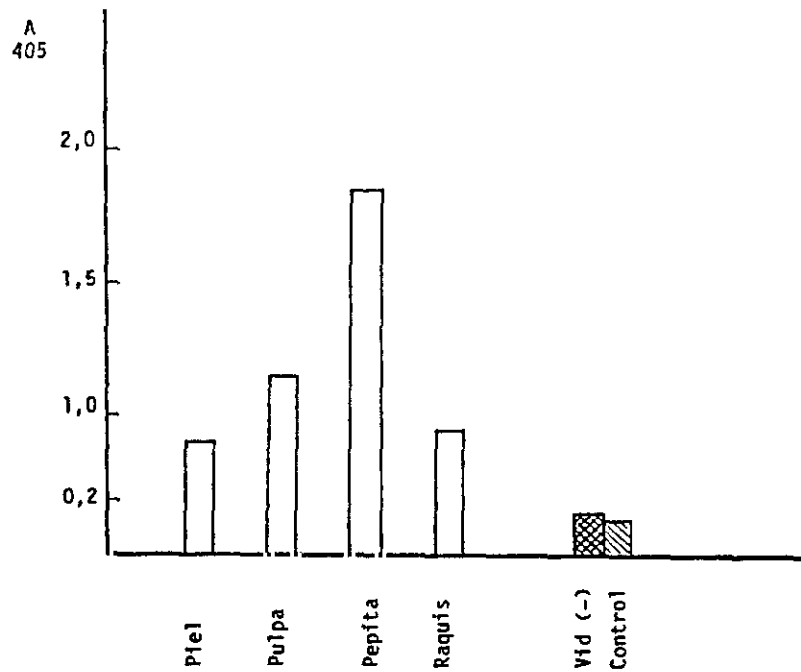


Fig. 42 .- Diferencias de Absorbancia en distintas partes de la uva (piel, pulpa, pepita y raquis) de la vid To 1

**CUADRO XXV** .- DETECCION DE GFLV EN CEPA AMARILLA ESTAQUILLADA EN INVERNADERO COMPARANDO TRES PARTES DE LA PLANTA (HOJA, TALLO, RAIZ) Y A DOS CONCENTRACIONES DIFERENTES (1/10, 1/20) EN DICIEMBRE. LECTURAS TOMADAS a 1 HORA Y 0/N DE INCUBACION DE SUSTRATO

Concentración		1/10	1/20
Muestra	Lectura		
Hoja	1 h	0,166	0,080
	0/N	0,953	0,281
Tallo	1 h	0,655	0,127
	0/N	> 2 (3)	0,608
Raíz	1 h	0,350	0,093
	0/N	1,710	0,268
Tampón	1 h	0,071	0,070
	0/N	0,081	0,064
Vid (-)	1 h	0,081	0,064
	0/N	0,152	0,109

Los trabajos iniciales efectuados sobre el material estaquillado de la cepa Tol (ocho plantas), mostraron que las lecturas eran tanto más fiables cuanto más jóvenes eran las hojas utilizadas en el test de tal manera que cuando se empleaba hoja vieja las lecturas, en muchas ocasiones, no eran reproducibles, siendo necesario utilizar tampones de extracción con nicotina o a base de Tris-ClH 0,5M, pH 8,2, con PVP y PEG. Aún con estas precauciones las lecturas eran menores que empleando estos mismos tampones con material joven, mientras que permanecían constantes cuando el material vegetal era tallo o raíz. Para establecer la causa de estas variaciones en la absorbancia con la edad de los tejidos o la parte de la planta, así como la influencia que la temperatura pudiera tener en dichos tejidos de acuerdo con la época del año, se realizaron test con hojas, desde su nacimiento en el mes de febrero hasta su agostamiento en noviembre. Los resultados obtenidos se expresan en la Tabla XI en la que puede observarse que los test realizados en febrero con hojas de 15 días de edad y en tallos de unos 50 cm de longitud, muestran lecturas similares, cualquiera que sea la posición de la hoja a lo largo del tallo. Por el contrario, ya en esta época, se encuentran grandes diferencias entre las lecturas proporcionadas por hoja, tallo y raíz. En marzo, abril y mayo ya se aprecia una diferencia de lecturas entre hoja joven y hoja vieja, asimismo se observaron mayores absorbancias en raíces jóvenes (blancas), similares a las de hoja joven, que en las viejas (marrones), en los tallos las lecturas permanecieron constantes.

En Junio se testaron las ocho plantas tomando un disco de cada hoja de la 1 a la 10 desde el ápice, y del mismo modo se mezclaron raíces de distintas edades de cada planta. Los resultados obtenidos fueron similares en todas las plantas, tanto en el material verde como en raíces. Hay que tener en cuenta que estas plantas no fueron injertadas, puesto que proceden de estaquillas.

A mitad de verano (Agosto) se apreciaron grandes diferencias entre las lecturas de hoja vieja y joven, incluso en hojas jóvenes nacidas y mantenidas en las épocas de máximas temperaturas se obtuvieron lecturas de absorbancias del doble que en hoja vieja, permaneciendo constantes los resultados en tallo y raíz. Con el material de esta época se comprobó el comportamiento de distintos tampones de extracción con resultados similares a los discutidos en el apartado correspondiente. A finales de verano y comienzos de otoño se acentúa la tendencia a disminuir la absorbancia en hoja vieja, llegando en algún caso, en octubre, a resultar negativa, mientras que permanecen claramente positivos los resultados de hoja joven, cuando es posible tomarla, permaneciendo prácticamente constantes los resultados de raíz y tallo. Como resumen del comportamiento frente al test ELISA de las distintas plantas control de La Higuera, reflejamos las medias de las absorbancias resultantes de los distintos controles efectuados en la cepa To1 por semanas parte y edades de la planta (Fig. 43 y Cuadro XXVI)

**CUADRO XXVI.**— Variación de la absorbancia en función de la edad / parte de la planta. Vid To I de "La Higuera"

Semana	Parte de la planta	Lectura
3	Raíz	0,907
7	"	0,892
11	"	0,862
31	"	0,517
38	"	0,927
40	"	0,505
46	"	0,569

CUADRO XXVI (Continuación)

Semana	Parte de la planta	Lectura	Semana	Parte de la planta	Lectura
30	Tallo joven	1,056	30	Tallo viejo	1,090
31	"	0,644	31	"	0,773
32	"	0,713	32	"	0,765
33	"	0,832	33	"	0,898
34	"	0,592	34	"	0,637
35	"	0,458	35	"	0,746
36	"	0,568	36	"	0,996
37	"		37	"	0,839
38	"	1,020	38	"	1,042
39	"		39	"	0,096
40	"	0,607	40	"	0,931
41	"		41	"	0,918
42	"		42	"	
43	"	0,639	43	"	1,115
44	"	0,663	44	"	1,270
45	"		45	"	
46	"		46	"	0,968
47	"		47	"	
48	"		48	"	1,277
49	"		49	"	
50	"		50	"	1,086
3	"		3	"	1,010
7	"		7	"	1,096
11	"		11	"	0,900
			14	"	0,750
			27	"	0,724

CUADRO XXVI (Continuación)

Semana	Parte de la planta	Lectura	Semana	Parte de la planta	Lectura
23	Hoja joven	1,232			
25	"	1,267			
26	"	1,107			
27	"	1,049			
28	"	0,963			
29	"	1,249			
30	"	1,198	30	Hoja vieja	1,153
31	"	0,932	31	"	0,600
32	"	1,320	32	"	0,622
33	"	1,296	33	"	
34	"	1,339	34	"	0,537
35	"	0,914	35	"	0,470
36	"	1,040	36	"	0,757
37	"	0,893	37	"	0,526
38	"	1,021	38	"	0,471
39	"	1,104	39	"	0,526
40	"	1,312	40	"	0,574
41	"	1,237	41	"	0,354
43	"	0,824	43	"	0,305
44	"	0,475	44	"	0,210
			46	"	0,209
14	"	> 2	48	"	0,077
27	"	1,025			

CUADRO XXVI (Continuación)

SEMANA	UVA TRITURADA	DISTINTAS PARTES DEL FRUTO				
		Piel	Pulpa	Pepita	Raquis	Mosto
31	1,524	-	-	-	-	-
35	-	0,375	0,800	1,653	0,369	-
36	-	0,385	0,421	0,989	0,421	-
37	1,254	-	-	-	-	-
38	1,467	-	-	-	-	-
39	-	0,520	0,740	1,484	0,575	0,740

CEPA I	Lectura
Semana 14	
Sarmiento año anterior	0,750
Yema	> 2
Semana 27	
Hoja $\Sigma_1^{10}$	1,000
Brote	1,025
Tallo	0,724
Sarmiento año anterior	—

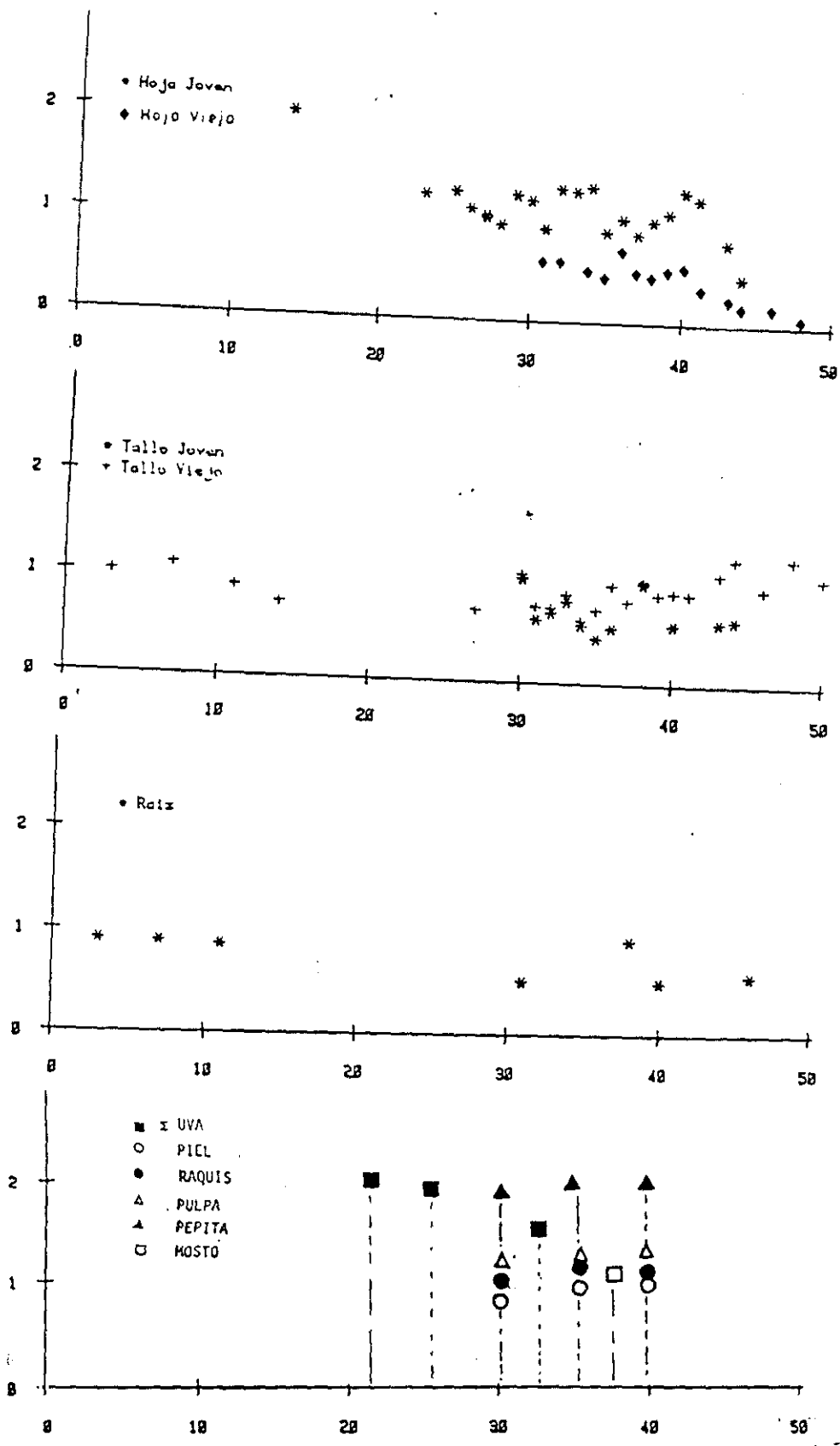


Fig. 43.- Evolución de D. O. a lo largo de distintas épocas del año y diferentes tejidos y edades de la planta. Muestras de plantas control de "La Higuera"

Los resultados obtenidos con material de los focos positivos de La Mancha, testados a lo largo de 1991, se recogen en el Cuadro XXVII, donde se observa que se obtienen lecturas positivas en todos los puntos de muestreo, en cualquier parte de la planta testada, en cualquier orientación, profundidad de raíces y época en que se tomó la muestra, aunque con variaciones en los valores de absorbancia. Es importante destacar que en todos los casos en que se utilizó yema o racimo recién nacido, como fuente de virus, el nivel de absorbancia fué considerablemente mayor que con cualquier otro tejido de la planta (Fig. 44 y 45, Cuadros XXVIII y XXIX). Se observan también, en estos focos, grandes diferencias en las absorbancias debidas a hoja, tallo y raíz.

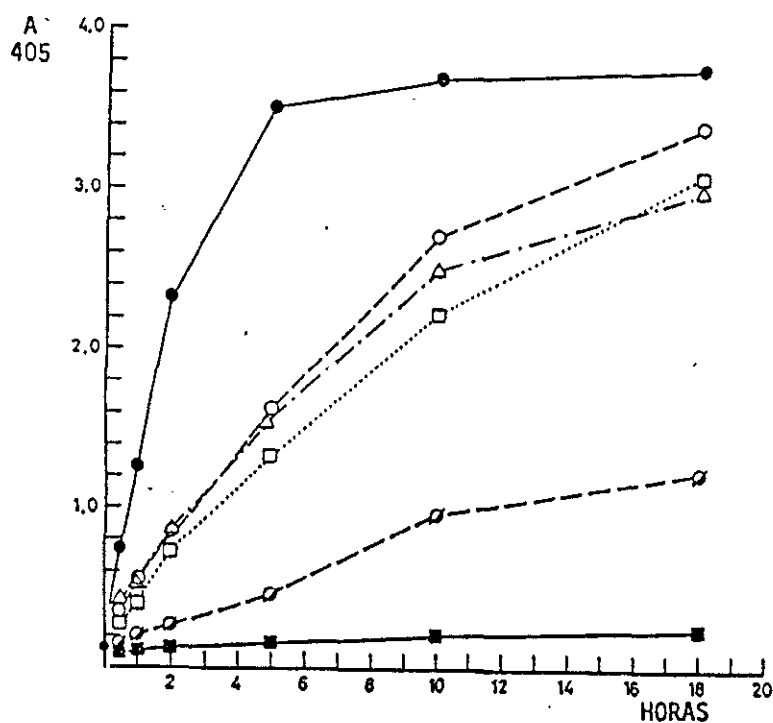


Fig. 44.- Variación de D.O. en yema y madera de vid To I y en cepa amarilla a distintos tiempos de incubación de sustrato. ●—●—●, yema To I; □—□—□, madera To I; ○—○—○, yema cepa amarilla; —○—○—○, madera cepa amarilla; —■—■—■ control vid; (—) ; △—△—△ Vid (+)

CUADRO XXVII.- SEGUIMIENTO DE CEPAS CON DIFERENTES SINTOMATOLOGIAS EN CORROS POSITIVOS DE ENERO A JULIO EN LA MANCHA

		25-I-91	11-III-91	19-III-91	9-V-91	30-5-91	16-VI-91	10-VII-91
		Lectura - +	Lectura - +	Lectura - +	Lectura - +	Lectura - +	Lectura - +	Lectura - +
SOCUELLAMOS	Zona de Mosaico Amarillo	Madera	I Madera	Madera	CEPA 1		CEPA 1	CEPA 1
		a	1	a	Raíz	Hoja	Hoja	Hoja >2
		b	2	b	Tallo v.	Tallo	Tallo v.	Tallo v. 1,450
		c	3	c	CEPA 2		Brote	Brote >2
		d	4	d	Amar. V.B.		Zarcillo	
		Raíz		Raíz				CEPA 2 Amarilla
	R1		R1				N. amar.	
	R2		R2				N. verde	
							UVA	
							Tallo	
							Brote	
								CEPA VERDE
Las Hoyas	Madera		I Madera	Madera	Raíz	Hoja	Hoja	Hoja 0,688
	a		1	a	Tallo v.	Tallo v.	Tallo v.	Tallo 0,917
	b		2	b	Hoja j.	Brote	Brote	Brote 1,243
	c			c			Zarcillo	Zarcillo 1,321
	d			d				
	Raíz			Raíz				
R1			R1					
R2			R2					
Camino de Matallana	Madera		X Madera	Madera		CEPA 1	CEPA 1	Hoja 0,152
	a		1	I Mad.	Hoja	Hoja	Tallo	Tallo 0,167
	b		2	Raíz	Tallo	Brote	Brote	Brote 0,175
	c							
	d							
	Raíz			I Raíz				
R1								
R2								





CUADRO XXVIII. - DIFERENCIA DE ABSORBANCIA ENTRE YEMA Y MADERA EN INVIERNO EN LAS CEPAS TO I, To AMARILLA y To 1. LECTURAS TOMADAS A 0,5, 2, 5, 10 y 18 HORAS DE INCUBACION DE SUSTRATO

Nº muestra	Valores Test ELISA																										
	1/2 h	T	-	+	1 h	T	-	+	2 h	T	-	+	5 h	T	-	+	10 h	T	-	+	18 h	T	-	+			
C I																											
Σ Madera	0,262				0,386				0,714				1,313				2,242				3,160						
Σ Yema	0,756				1,250				2,333				3,515				3,721				3,821						
Amarilla																											
Σ Madera	0,146				0,186				0,287				0,474				0,793				1,246						
Σ Yema	0,311	0,080	0,118	0,439	0,753	0,092	0,123	0,520	0,865	0,123	0,148	0,883	1,631	0,122	0,170	1,539	2,751	0,169	0,239	2,566	3,576	0,209	0,297	3,245			
1																											
Σ Madera	0,098				0,108				0,126				0,155				0,210				0,276						
Σ Yema	0,103				0,122				0,129				0,144				0,174				0,232						

CUADRO XXIX.- DIFERENCIA DE ABSORBANCIA ENTRE YEMA Y SARMIENTO DE LAS CEPAS CENTRALES DE "LA HIGUERUELA" EN INVIERNO

Nº muestra	Valores Test ELISA												Nº muestra	Valores Test ELISA												
	2 h	T	-	+	6 h	T	-	+	20 h	T	-	+		2 h	T	-	+	6 h	T	-	+	20 h	T	-	+	
1	Madera												6'	Madera												
	a	0,134			0,164				0,310					a	0,503			0,889				> 2				
	b	0,118			0,147				0,242					b	0,395			0,711				1,852				
	Yema													8'	Madera											
	a	0,129			0,148				0,252						a	0,996			1,870				> 2			
	b	0,128			0,140				0,214						b	0,677			1,225				> 2			
Yema												Yema														
a	0,125			0,135				0,211				a	0,738			1,330				> 2						
b	0,119			0,128				0,211				b	0,642			1,149				> 2						
2	Madera												11'	Madera												
	a	0,137	0,123		0,177	0,139			0,334	0,257				a	0,681	0,123		1,282	0,139			> 2				
	b	0,134	0,155		0,179	0,170			0,328	0,305				b	0,562	0,155		1,042	0,170			> 2				
	Yema													Yema												
	a	0,137	0,883		0,177	0,139	1,539		0,334	0,257				a	1,503	0,883		> 2	0,139			> 2				
	b	0,134			0,179				0,328					b	0,624			1,122				> 2				
5'	Madera												15	Madera												
	a	0,426			0,756				1,984					a	0,746			1,381				> 2				
	b	0,597			1,087				> 2					b	0,798			1,456				> 2				
	Yema													Yema												
	a	> 2			> 2				> 2					a	0,614			1,105				> 2				
	b	> 2			> 2				> 2													> 2				



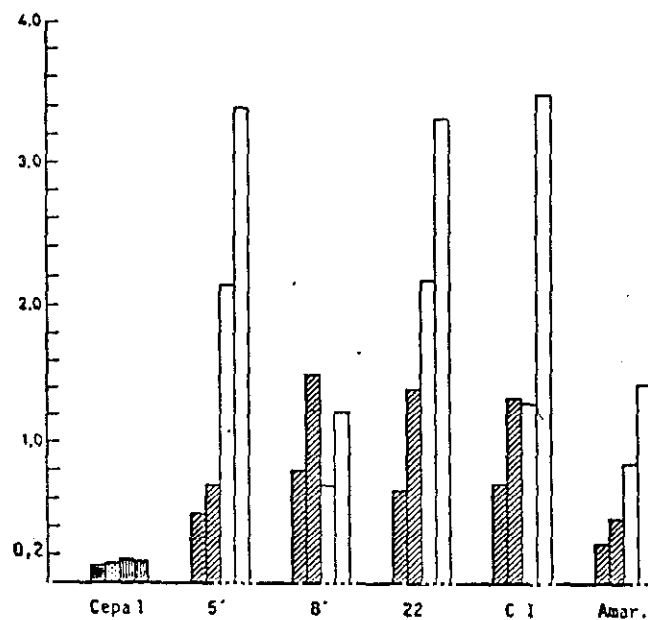


Fig. 45.- Comparación de Absorbancias entre madera y yema de las cepas 1, 5', 8', 22, To I y cepa amarilla de la Finca "La Higuera". La cepa 8' con yemas heladas. Lecturas tomadas a 2 y 6 horas de incubación de sustrato.

Madera (▨); Yema (□)

#### III.4. CORRELACION ENTRE SINTOMATOLOGIA Y VIROSIS.

Para este estudio se ha utilizado el material recogido según los diseños elaborados para la "Escuela Museo de la Vid y del Vino", Finca Experimental "La Higuera", las muestras recogidas en los campos de variedades de la "Escuela de Enología y Viticultura" de Tomelloso y la Finca Experimental del Centro de Investigaciones Agrarias de La Rioja, así como las procedentes de los focos positivos de La Mancha, en Socuéllamos, Ossa de Montiel y Valdepeñas, que fueron analizados a lo largo del año.

##### III.4.1. CORRELACION SINTOMATOLOGIA-VIROSIS EN DISTINTAS VARIEDADES.-

En resultados obtenidos en la "Escuela Museo de la Vid y del Vino" 116 muestras tomadas al azar de las variedades existentes, en un primer muestreo, solamente 4 resultaron positivas. Los siguientes muestreos se centraron en las variedades Airén y Tinto Fino, en aquellas cepas que mostraban claras alteraciones, equiparables a las descritas como debidas a virosis, todas ellas resultaron negativas.

Los resultados de las muestras recogidas en los campos de variedades de **Tomelloso** y **La Rioja** fueron similares a los obtenidos en la "Escuela Museo de la Vid y el Vino", a pesar de que las muestras fueron tomadas en aquellas cepas que mostraban menor vigor, *en ausencia de una sintomatología que indicara la presencia de virus. Del material estaquillado en invernadero, procedente de ambos centros, se realizaron test en distintas épocas del año con resultados igualmente negativos en todos los casos.*

**III.4.2. CORRELACION SINTOMATOLOGIA-VIROSIS EN GARNACHA.**- En "**La Higuera**" se testaron 259 cepas de la variedad Garnacha, recogidas radialmente tomando como centro las To1, To2, To5', To6', To8', To11', To15, To22, To27, To29, To1 y To11, antes referidas, sin tener en cuenta la sintomatología que presentaban, de ellas (Fig 46, Cuadro XXX), resultaron positivas 104, lo que representa un 40.15 % del total. Paralelamente se realizó un estudio visual de las 3.830 cepas que contiene la parcela, llevada a cabo por tres observadores distintos en Julio, Agosto y Septiembre, cada uno de los cuales realizó tres repeticiones con intercambio de bloques. Se tuvo en cuenta la sintomatología de aquellas cepas en que coincidieron los tres observadores estableciendop grados de 0 a 3, dándose el valor 0 a la planta sin síntomas, 1 con sintomatología ligera, 2 para síntomas claros y 3 para casos muy claros. Los parámetros elegidos para definir esta sintomatología fueron tan sencillos como: mosaico amarillo, bandeado en venas, hoja muy dentada, uva corrida o con defecto de coloración o maduración, madera aplanada, dobles o triples nudos y entrenudo corto. El resultado obtenido (Fig.47, Tabla XII) fué el de que, igualmente 104 de las cepas se consideraron con síntomas, con coincidencia entre sintomatología- presencia de virus en 82 de los casos, porcentajes similares a los obtenidos mediante la aplicación del test ELISA a 35 muestras tomadas al azar. Ello indica que en la variedad Garnacha, la infección vírica parece provocar una sintomatología clara, no así en las y otras variedades estudiadas.





Aún así hemos de tener en cuenta que en esta parcela experimental encontramos gran cantidad de cepas con anomalías tales como, cepas jóvenes, raquíticas, renovadas, sin injertar, patrones brotados o marras que dificultan el establecimiento de porcentajes de plantas con síntomas respecto del total (Cuadro XXXI).

Cepas totales .....	3.830	
Cepas muertas .....	191	4,7 %
Cepas jóvenes .....	98	2,5 %
Cepas raquíticas .....	74	1,9 %
Cepas renovadas .....	163	4,2 %
Portainjertos .....	148	3,8 %
Cepas con síntomas .....	925	29,2 %

CUADRO XXI .- "La Higuera", verano 1990. Anotación de anomalías cepa por cepa

Al comparar los resultados de 259 plantas estudiadas por ELISA y por observación directa (Cuadros XXXII y XXXIII) se aprecia que por ambos métodos resultaron 104 plantas positivas, pero hay 20 casos positivos del observador que fueron negativos para ELISA y 19 a la inversa; en 82 casos coinciden en valor absoluto, claramente positivos o negativos, los dos métodos, lo que representa un 78,8% de aciertos del observador frente al ELISA. De estos resultados se podría deducir cierta seguridad en la predicción por el observador en esta variedad y en estas condiciones sobre la sanidad de una cepa. Por el contrario, al intentar establecer correlaciones entre los datos reales, proporcionados por el ELISA, y los cuatro grados establecidos por el observador en las 259 plantas, resulta una recta de regresión (Fig.48):

$$y = 0,32710 + 0,53684x$$

$$\text{y un } R^2 = 0,383.$$

lo que implica que el coeficiente de regresión no es significativo, es decir, en términos generales las observaciones directas son subjetivas y por lo tanto no son suficientemente buenas frente a la seguridad proporcionada por el test ELISA. Esta falta de correlación

se acusa cuando se hace el tratamiento por corros independientes, en aquellas zonas de la finca en las que hay otras deficiencias debidas a problemas del suelo. Por el contrario los coeficientes altos corresponden a zonas en que el viñedo es más uniforme. Es necesario destacar que de los 22 casos de no coincidencia entre el observador y el ELISA, con frecuencia los resultados son opuestos. De todo esto se deduce lo difícil que resulta en la mayor parte de los casos la dificultad de inferir porcentajes de enfermedad en función de la sintomatología.

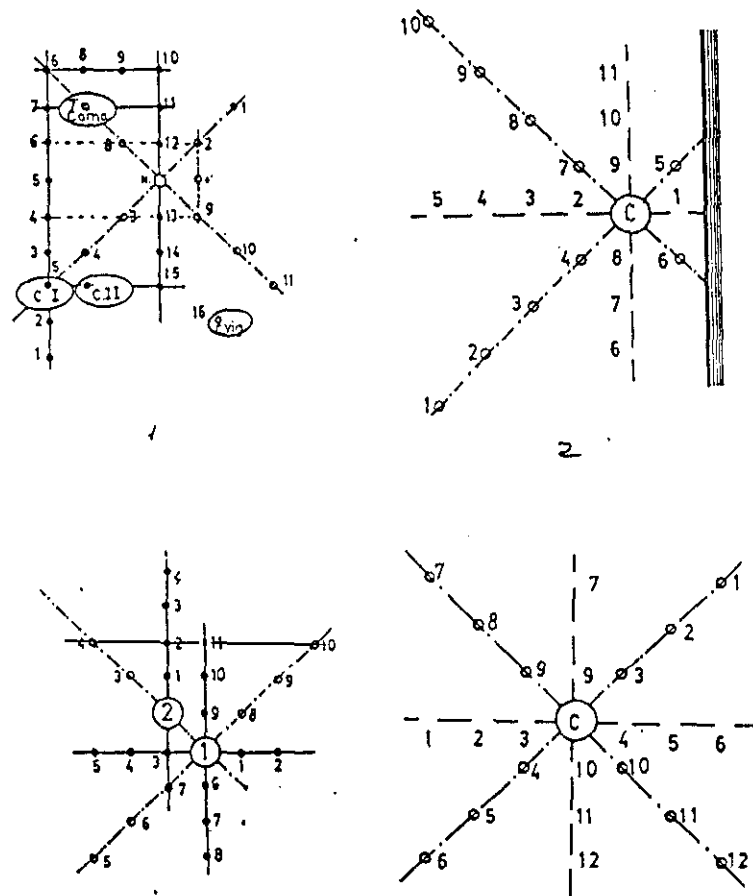


Fig. 46 .--Esquema de la toma de muestras en "La Higuera" según cuatro ejes y con centro en las cepas control ( 1 y 2, 5', 6', 11', 15, 22, 27, 29, I y II). Ejes paralelos y perpendiculares al camino y girados 65°

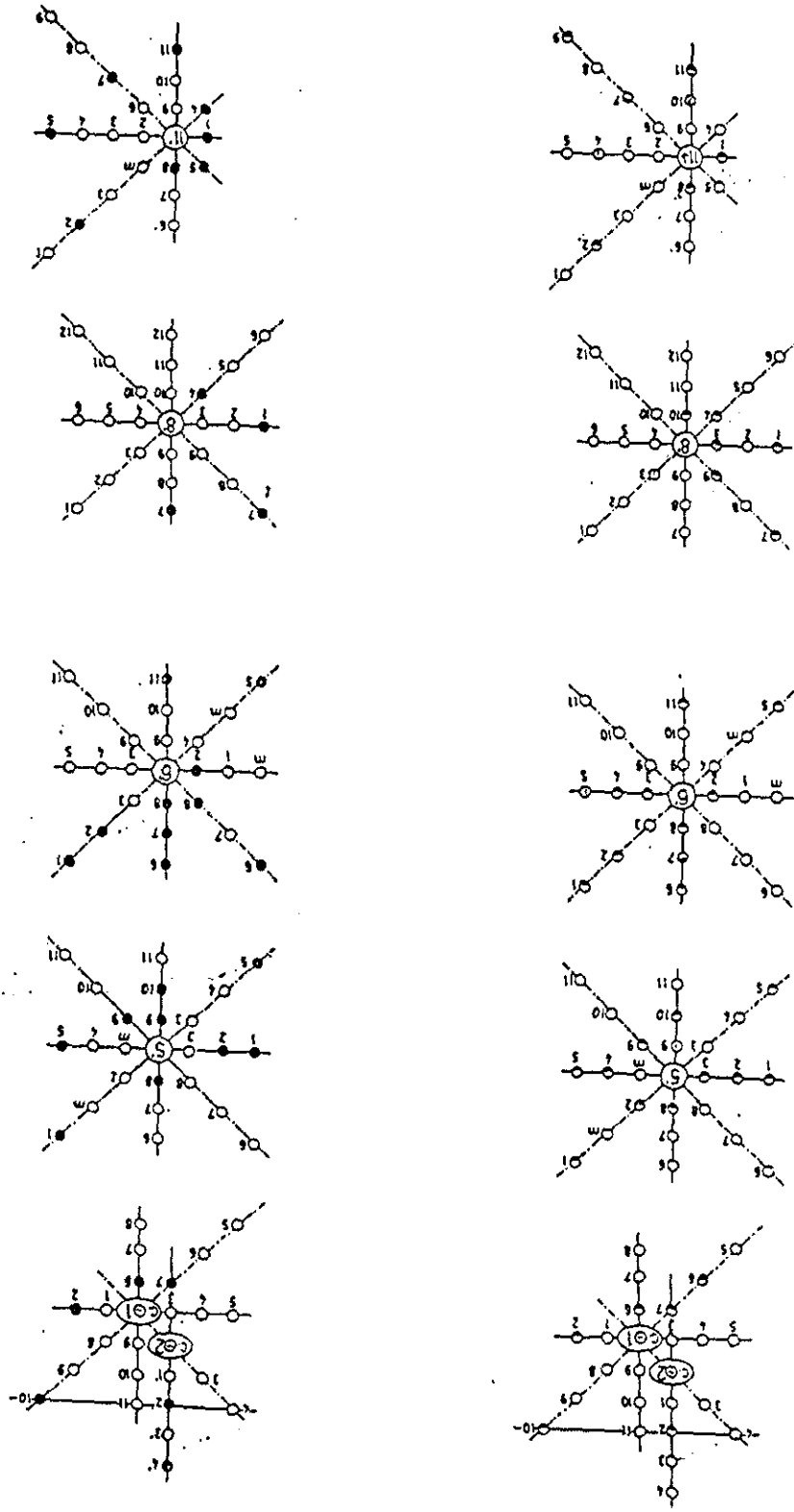


Fig. 47. -- Representación de cepas positivas por ELISA ( ● ) y positivas por observación directa ( ● ) en los corros con centro en las cepas control ( 1 y 2, 5', 8', 11', 22, 26, 27, 29, To I, To II y Amarilla ) de la Finca Experimental "La Higuera"

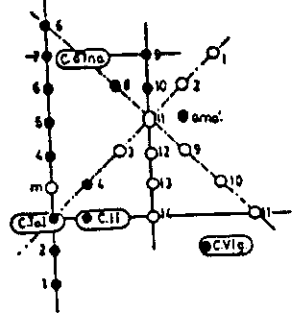
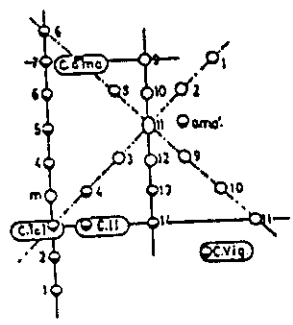
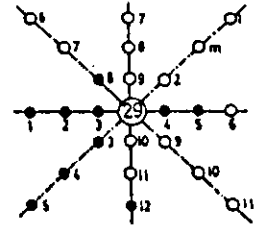
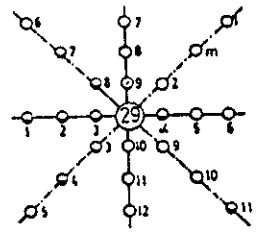
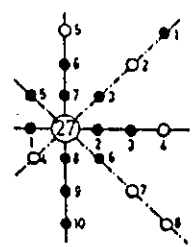
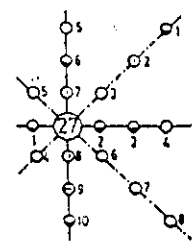
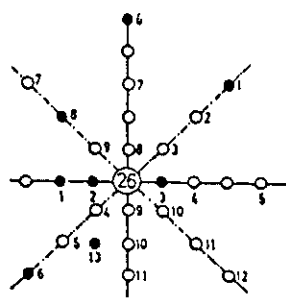
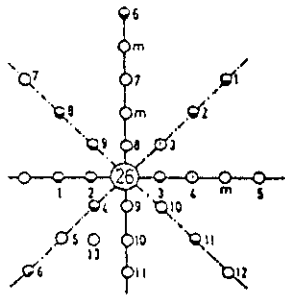
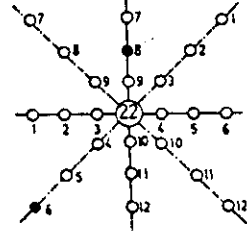
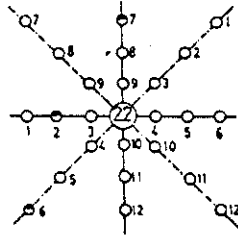
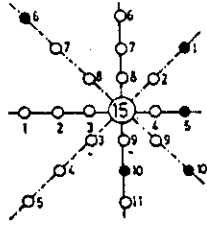
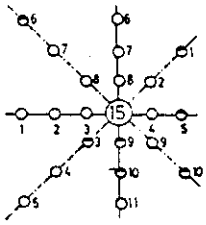


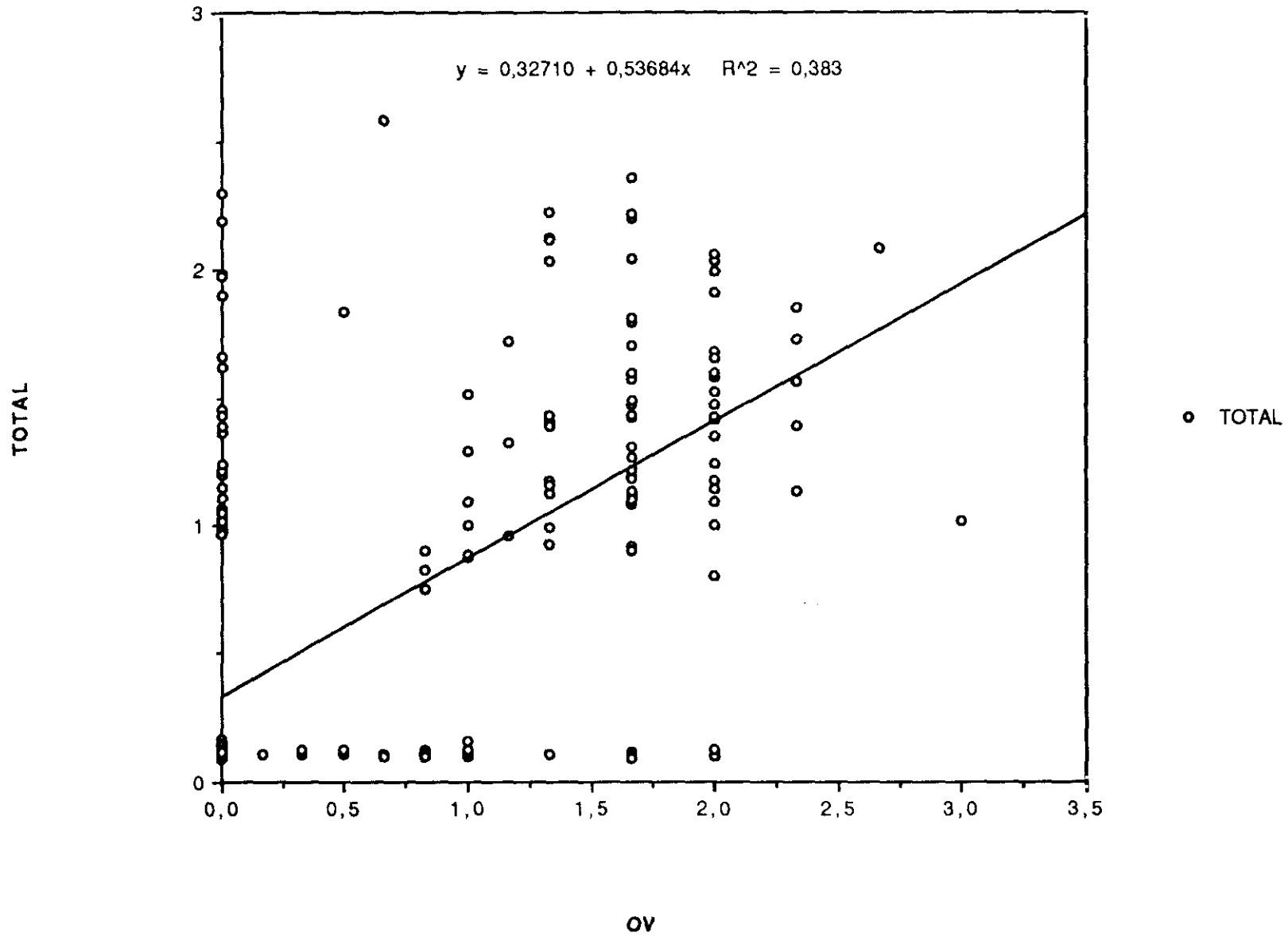
TABLA XXXII.- COMPARACION DE RESULTADOS DE CEPAS ESTUDIADAS POR ELISA Y POR OBSERVACION DE SINTOMATOLOGIA EN RODALES CON CENTRO EN LAS CEPAS CONTROL DE "LA HIGUERUELA"

Zona	Número de Plantas	Positivos de ELISA	Positivos de observación	Negativos de ELISA y positivos observación	Positivos de ELISA y negativos observación	Coincidencia
1,2	25	6	6	1	1	5
5'	23	9	11	2	0	9
6'	23	11	11	2	2	9
8'	25	5	7	3	1	4
11'	21	9	7	1	3	6
15	22	6	8	2	0	6
22	25	3	4	1	1	2
26	26	10	14	5	1	9
27	18	14	10	0	4	10
29	24	13	11	1	3	9
CI, CII	27	18	15	2	3	13
TOTAL	259	104	104	20	19	82

CUADRO XXXIII.-VALORES MEDIOS DEL OBSERVADOR, COLUMNA (2) Y LA LECTURA DE ELISA, COLUMNA (3), DEL ESTUDIO SEGUN CUATRO EJES EN RODALES CON CENTRO EN CEPAS CONTROL EN LA FINCA "LA HIGUERUELA"

1	0,00	0,980	53	0,83	0,106	105	2,00	1,915	157	1,66	0,101	209	1,00	1,000
2	1,00	1,509	54	0,00	0,105	106	0,33	0,104	158	0,00	1,147	210	1,66	2,201
3	0,00	0,123	55	1,66	2,362	107	0,00	0,105	159	0,00	0,106	211	2,00	1,991
4	0,00	0,130	56	2,00	2,061	108	1,33	2,126	160	0,00	0,115	212	1,33	1,427
5	0,00	0,108	57	2,00	1,471	109	0,00	0,100	161	0,00	0,105	213	1,16	1,321
6	2,33	1,730	58	0,00	0,156	110	2,00	1,142	162	0,00	0,119	214	0,00	1,661
7	0,00	0,105	59	0,00	0,106	111	0,00	0,102	163	0,00	0,111	215	0,00	0,106
8	0,00	0,101	60	1,66	1,210	112	0,00	1,045	164	0,00	0,107	216	0,00	0,095
9	0,00	0,104	61	1,66	1,590	113	0,00	1,198	165	0,00	0,107	217	0,00	0,090
10	0,00	0,107	62	1,66	1,114	114	0,00	0,102	166	1,33	1,175	218	0,00	0,105
11	0,00	0,116	63	0,00	0,104	115	2,00	1,344	167	1,66	2,044	219	0,00	1,977
12	0,00	0,105	64	0,00	0,110	116	0,00	0,103	168	2,00	1,421	220	1,16	1,718
13	0,00	0,114	65	1,66	1,178	117	0,66	0,101	169	0,00	0,109	221	0,00	1,618
14	0,00	0,130	66	0,00	1,359	118	2,66	2,069	170	1,00	0,127	222	0,00	0,121
15	0,33	0,116	67	0,00	0,125	119	0,00	0,121	171	1,00	0,871	223	0,00	0,103
16	0,00	0,115	68	2,00	1,518	120	0,00	0,095	172	0,00	0,106	224	1,16	0,953
17	1,00	0,116	69	0,00	0,126	121	0,00	0,090	173	0,00	0,101	225	1,00	1,087
18	2,33	1,566	70	0,00	0,112	122	0,00	0,090	174	0,83	0,121	226	0,00	1,063
19	0,00	0,118	71	0,00	0,103	123	0,66	2,588	175	0,00	0,095	227	0,00	0,109
20	0,00	0,119	72	2,33	1,128	124	0,00	1,020	176	0,00	0,097	228	0,00	0,101
21	1,66	1,210	73	1,33	2,224	125	0,00	0,100	177	0,00	2,298	229	1,66	1,484
22	0,00	0,130	74	0,00	0,128	126	0,00	0,092	178	0,00	1,102	230	1,00	0,156
23	2,33	1,857	75	0,50	0,110	127	0,00	0,104	179	0,83	0,820	231	0,00	0,139
24	0,00	0,137	76	0,00	0,105	128	1,66	2,217	180	0,00	0,114	232	0,00	0,095
25	0,00	1,905	77	0,00	0,165	129	0,00	0,101	181	0,00	0,103	233	1,66	1,567
26	1,66	1,186	78	0,00	0,109	130	2,00	1,236	182	1,33	0,985	234	2,00	1,085
27	1,66	1,593	79	0,00	1,059	131	0,00	0,116	183	0,00	0,101	235	1,33	2,120
28	1,33	1,406	80	0,00	0,102	132	0,66	0,106	184	1,66	1,100	236	2,00	1,598
29	1,00	0,112	81	0,00	0,109	133	0,00	0,121	185	0,00	0,101	237	2,00	1,349
30	1,00	0,104	82	0,83	0,118	134	0,00	0,101	186	1,66	0,896	238	2,00	1,678
31	2,00	1,651	83	0,00	0,104	135	2,00	1,410	187	1,66	0,108	239	1,66	1,792
32	0,00	0,134	84	0,16	0,106	136	0,00	0,104	188	0,00	0,106	240	0,00	1,452
33	0,00	0,109	85	0,00	0,116	137	0,00	0,116	189	1,00	0,102	241	0,00	1,620
34	2,00	2,033	86	0,00	0,110	138	0,00	0,127	190	0,00	0,098	242	0,00	1,983
35	2,00	1,915	87	0,00	0,110	139	1,66	1,423	191	1,66	1,475	243	0,00	0,090
36	2,00	1,576	88	1,66	1,427	140	1,66	1,813	192	1,00	1,285	244	0,00	0,092
37	0,00	0,104	89	0,00	0,117	141	0,00	0,117	193	1,33	1,388	245	0,83	0,097
38	2,00	0,800	90	0,00	0,102	142	1,00	0,103	194	1,00	0,883	246	1,33	0,105
39	2,00	0,100	91	1,66	1,082	143	0,00	0,110	195	0,00	0,090	247	2,33	1,389
40	0,33	0,125	92	0,00	0,110	144	0,00	0,097	196	0,83	0,747	248	0,83	0,900
41	1,66	0,111	93	2,00	0,121	145	0,00	0,092	197	1,66	1,131	249	0,00	0,103
42	1,66	1,302	94	0,00	0,104	146	0,00	0,107	198	1,66	1,707	250	0,00	0,095
43	0,00	0,118	95	0,00	0,115	147	1,66	0,120	199	0,00	1,239	251	0,00	0,092
44	0,00	0,105	96	0,00	0,113	148	0,00	0,972	200	1,33	0,920	252	1,66	0,094
45	0,00	0,102	97	1,33	2,038	149	0,00	0,113	201	0,83	0,826	253	1,33	1,126
46	1,66	1,263	98	0,50	1,833	150	0,00	0,092	202	0,00	0,109	254	2,00	1,171
47	0,00	0,113	99	0,00	0,148	151	0,00	0,100	203	1,33	1,153	255	3,00	1,013
48	0,00	0,125	100	0,00	0,109	152	0,00	0,107	204	1,66	0,915	256	0,00	1,389
49	2,00	1,001	101	0,00	0,107	153	0,00	0,115	205	0,00	1,433	257	0,00	0,101
50	0,00	0,111	102	0,00	1,002	154	0,00	0,103	206	0,00	1,186	258	0,00	1,214
51	0,00	2,195	103	0,00	0,105	155	0,00	0,101	207	0,00	0,117	259	0,00	1,013
52	0,50	0,128	104	0,00	0,960	156	0,00	0,102	208	0,00	0,128			

Fig. 48.- Data from "DATOS ELISA"



III.4.3. CORRELACION SINTOMATOLOGIA-VIROSIS EN LA MANCHA .- En **Socuéllamos, Ossa de Montiel, Valdepeñas** y en el Km 11 de la carretera de Valdepeñas a Daimiel se localizaron rodales que presentaban mosaico amarillo en gran número de cepas, que se manifestaba desde el nacimiento de la hoja, principios de mayo, progresivamente se observaron cepas con clara sintomatología de bandedo en venas, así como otras, en las proximidades de estos rodales amarillos, con fuertes alteraciones de madera (dobles nudos, entrenudo corto, fasciación, madera aplanada) o sintomatología en hoja (muy dentada o asimétrica) en fruto (uva corrida), pero sin alteraciones cromáticas (Fig.49, 50 y 51).

Asimismo se encontraron frecuentemente cepas que presentaban toda esta sintomatología conjuntamente, así en la misma cepa podía verse un sarmiento totalmente verde pero con clara sintomatología de GFLV en madera, hoja o fruto junto a otro sarmiento con hojas totalmente amarillas u otros que mostraban bandedo en venas, incluso en un mismo sarmiento se podían observar las tres sintomatologías descritas, presentándose estos casos con mas frecuencia conforme avanzaba la estación. En "La Higuera" la cepa ToII, marcada desde 1988 como con sintomatología de bandedo en venas permaneció con esta sintomatología a lo largo de todo el estudio y una situación similar mostró la cepa ToAm, siempre amarilla pero sin ninguna otra manifestación cromática, aunque ambas presentaban deformación de madera. Testadas por ELISA todas estas variaciones dieron los mismos resultados positivos a lo largo de todo el tiempo (Cuadros XXXIV y XXXV).



Fig. 49 - A. Síntomas de mosaico amarillo en rodal. B. Mosaico amarillo y bandeado de venas en dos ramas diferentes de la misma cepa.



Fig. 50 .- Síntomas de entrenudo corto y doble nudo , madera aplanada en Garnacha Tinta. Finca "La Higuera". (A y B).



Fig:51 -- A. Síntomas de bandeado de venas. B. Mosaico amarillo.  
C y D. Deformación de tallos.

CUADRO XXXIV.- COMPARACION DE ABSORBANCIAS DE HOJA DE VID CON DIFERENTE SINTOMATOLOGIA Y A TRES CONCENTRACIONES DISTINTAS

<u>Concentración muestra</u>			1/10	1/20	1/40	<u>Controles</u>		
						Tampón	Vid (-)	Vid (+)
hoja	1	amarilla	0,940	0,884	0,887	0,089	0,112	1,215
	2	mosaico	0,830	0,777	0,831			
	3	V.B. en toda la hoja	1,206	1,080	1,037			
	4	V.B. media hoja	0,970	0,760	0,753			
	5	mosaico débil	0,829	0,802	0,718			
	6	jóven	1,053	1,045	1,015			

**CUADRO XXXV.- ABSORBANCIAS EN MUESTRAS DE CORROS CON MOSAICO AMARILLO. COMPARACION DE RESULTADOS EN HOJA CON DIFERENTE SINTOMATOLOGIA Y PARTE DE LA PLANTA A DISTINTAS CONCENTRACIONES**

	1/30	1/60	1/120	1/240	1/480	Controles		
						Tampón - Vid (+)	Vid (+)	
<b>SOCUELLAMOS</b>								
Cepa verde (GV)								
hoja	0,831	0,801	0,780	0,734	0,370			
tallo	0,675	0,559	0,471	0,423	0,176			
brote	0,818	0,746	0,622	0,597	0,253			
Cepa mosaico amarillo								
hoja amarilla	1,066	0,961	0,602	0,576	0,230			
hoja verde	1,373	1,124	0,513	0,462	0,251			
tallo base	1,749	1,198	0,824	0,664	0,289			
brote	1,107	1,088	0,523	0,400	0,229			
<b>VALDEPEÑAS a DAIMIEL</b>								
Cepa con los tres síntomas								
hoja amarilla	> 2	1,820	1,800	1,675	0,821	0,100	0,128	> 2
hoja V.B.	1,859	1,294	1,026	0,980	0,598			
hoja verde	> 2	1,604	1,640	1,430	0,775			
tallo base	> 2	1,551	1,445	1,354	0,889			
brote	> 2	1,225	0,842	0,785	0,583			
<b>OSSA DE MONTIEL</b>								
Cepa mosaico amarillo								
hoja amarilla	1,959	1,220	1,200	0,865	0,688			
hoja verde	> 2	> 2	2,014	1,386	1,033			
tallo	> 2	1,930	1,520	0,914	0,577			
raíz	0,499	0,432	0,338	0,309	0,232			

### III.5. INCIDENCIA DE GFLV EN LA MANCHA.

Una vez comprobada la sensibilidad del test ELISA, se aplicó al material vegetal recogido al azar en La Mancha, así como a hojas brotadas de su estaquillado en invernadero, en distintas épocas (Tabla XIV). De las 257 muestras testadas solamente 17 resultaron positivas de GFLV, es decir el  $6.6\% \pm 0.03$ . Estos resultados fueron verificados por el equipo del Dr. COOPER del "Department of Plant Science", de la Universidad de Oxford, UK, con resultados coincidentes en 16 de las 17 positivas, con la única excepción de una muestra, la número 38, positiva débil en nuestro test y negativa en el del otro equipo.

En el análisis realizado sobre el material estaquillado, se llegó a resultados coincidentes en cualquier parte de la planta testada (tallo, raíz u hoja), destacándose que todas las plantas positivas de virus mostraron dificultades para el enraizamiento, presentando menor vigor (Fig. 52) y , de las 17 viróticas, 2 % murieron antes de 8 meses, si bien del resto, 242, murieron 33 (13%).

A fin de comprobar en campo, este porcentaje de incidencia, se testó nuevamente material verde recogido en la primavera de 1990, en que se tomaron 2 muestras en cada punto, una que presentase la sintomatología más acusada (muestra impar) y, otra, al azar (muestra par). El resultado (Tabla XV), fué que de 300 muestras testadas resultaron positivas 35 (el  $11,6\% \pm 0.036$ ), 13 de las 150 que se habían tomado al azar ( $8,6\% \pm 0.045$ ), y 22 de las 150 que presentaban síntomas ( $14,6\% \pm 0.057$ ), resultados coincidentes con los de los muestreos anteriores en madera.

Para comprobar, una vez más, los resultados obtenidos y a fin de estimar la relación del virus con los nematodos vectores, se analizaron 123 muestras de cepas que presentaban fuertes deformaciones de madera, recogidas en diciembre de 1990, y de cada 5, una de tierra. Los resultados (Tabla XVI) fueron de 15 muestras positivas de GFLV, el 12.2 %  $\pm 0.058$  del total, hay que tener en cuenta que las muestras de Daimiel y Socuéllamos fueron tomadas en plantas marcadas como positivas, lo que indica que el porcentaje real está en los límites obtenidos en las pruebas anteriores. Posteriormente se repitió el test en hoja del material estaquillado, obteniéndose resultados coincidentes al 100% con los anteriores.

El material procedente de "La Higuera", La Mancha y el Valle del Duero, fué también testado con sueros contra "Arabis Mosaic Virus" (AMV). Las 1000 muestras testadas para Castilla-La Mancha resultaron negativas, de las 1700 del Valle del Duero, dos fueron positivas, una en Cigales (Valladolid) y otra en Km. 174 Ctra. Madrid-Irún (Burgos).

### III.6. INCIDENCIA VIRUS-NEMATODOS VECTORES.

A lo largo del trabajo se realizaron estudios, en la Finca Experimental "La Higuera" y en diversos puntos de La Mancha, encaminados a comprobar la incidencia de los nematodos en las virosis, su distribución vertical y horizontal, a fin de conocer su importancia en la epidemiología de la enfermedad.

La Cuadro XXXVI refleja los resultados obtenidos en "La Higuera", donde se observa que, en el muestreo realizado al azar, según diseño, en 1989, en que se tomó material vegetal (30 muestras) y suelo en 12 de ellas intercaladas, 16 muestras resultaron

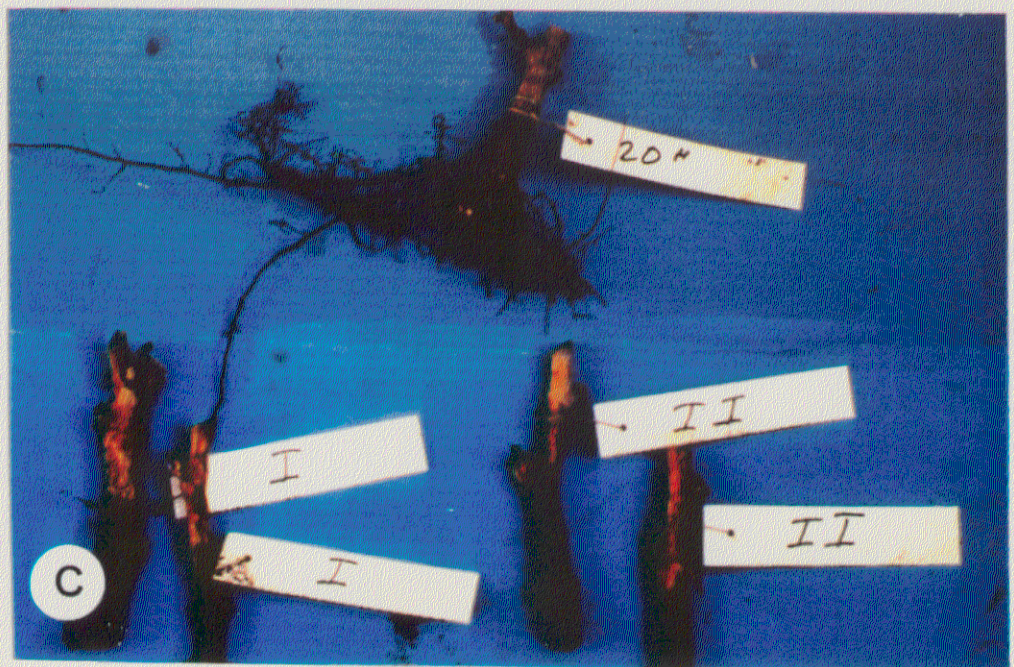
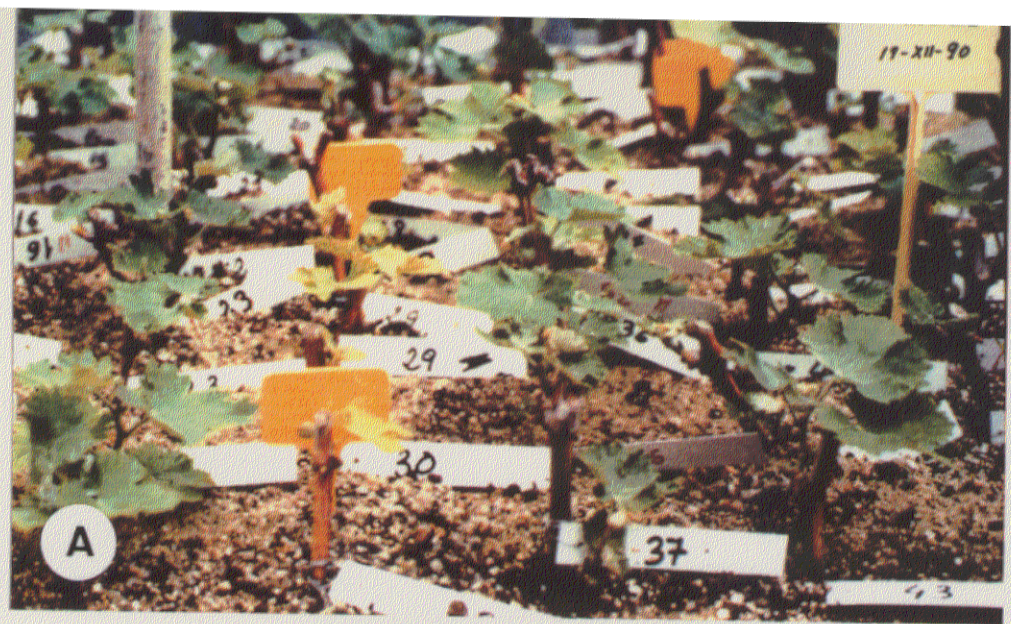


Fig. 52.- A. Dificultad y retraso en la brotación de madera estaquillada de plantas con GFLV.  
 B. Toma de muestras en distintas partes de la planta estaquillada en invernadero.  
 C. Comparación de enraizamiento entre plantas sanas (nº 20) e infectada (To I y To II).

CUADRO XXXVI.- CORRELACION VIRUS-NEMATODOS VECTORES EN "LA HIGUERUELA"

Muestreo al azar (19-VI-1989)				Muestras dirigidas						
Nº Cepa	GFV	X. index	X. italiae	Nº Cepa	GFV	2-X-90 X. index	14-I-91 X. index	8-II-91 X. index	16-III-91 X. index X. italiae	
2	-	-	-	I	+	-	-	-	-	-
4	-	-	+	II	+	-	-	+	-	+
6	-	-	+	1	-	-	-	-	-	-
8	-	+	-	2	-	+	-	-	-	+
14	-	-	-	5'	+	+	-	-	-	-
17	-	-	-	6'	+	+	-	-	-	-
19	-	-	-	8'	+	+	-	-	+	-
22	+	-	-	9	-	+	-	-	+	-
24	-	-	-	11	+	+	-	-	-	-
26	-	-	-	15	+	+	-	-	-	-
29	+	-	-	22	+	+	-	-	-	-
				26	+	-	-	-	-	-
				27	+	-	-	-	-	-
				29	+	-	-	-	-	-
				A	+	-	-	-	-	-

positivas para el virus y la incidencia virus-vector fué nula, puesto que en las dos únicas muestras positivas de GFLV, de las que se tomó suelo, no aparecieron nematodos vectores, mientras que la To8, en que se encontró X.index y las To4 y To6, que contenían X.italiae resultaron negativas para el virus.

En los muestreos realizados desde octubre de 1990 a marzo de 1991, tomando muestras de suelo en las cepas positivas de virosis, así como en los controles negativos, encontramos que en el muestreo de octubre la incidencia virus-vector fué del 58% (siete muestras de 12 positivas), apareciendo además el vector en los controles negativos del virus (To1 y To2); sin embargo en los muestreos de enero y febrero del 91 no apareció ningún nematodo transmisor de virus, volviendo a encontrarse en el muestreo de marzo, con mucha menor incidencia (25%) que en octubre, en dos muestras de las doce positivas se encontró X.index y en una X.italiae, apareciendo esta última especie además en un control negativo (To2).

En las muestras tomadas a distintas profundidades, según el diseño descrito, no aparecieron nematodos vectores y la presencia de X.pachtaicum, especie muy frecuente en el cultivo en toda la zona, resultó indiferente al nivel muestreado.

Los resultados del muestreo al azar realizado en La Mancha en diciembre de 1990, en que se tomaron muestras de suelo por aproximadamente cada cinco cepas que mostraban síntomas de madera deformada, entrenudo corto, etc., figuran en la Cuadro XXXVII, en la que se observa igualmente que la incidencia virus-vector es prácticamente nula (2,9%), una muestra de las 34 estudiadas fué positiva de virus, X.index y X.italiae, a pesar de ocho de las estudiadas fueron positivas para GFLV, X.index apareció en 4 y X.italiae en dos.

CUADRO XXXVII.- CORRELACION VIRUS-NEMATODOS VECTORES EN LA MANCHA

Nº muestra	GFV	X. index	X. italiae
1	-	-	-
5	-	-	-
10	-	+	-
15	-	-	-
18	-	-	-
20	-	+	-
23	-	-	-
25	-	-	-
26	-	-	-
29	+	-	-
30	+	-	-
35	-	-	-
40	+	-	-
45	-	-	-
50	-	-	-
55	-	-	-
60	-	+	-
65	-	-	-
69	-	-	-
79	-	-	-
78	+	-	-
79	+	+	+
80	+	-	-
81	+	-	-
82	+	-	-
85	-	-	-
90	-	-	-
95	-	-	-
99	-	-	-
100	-	-	-
110	-	-	-
115	-	-	+
120	-	-	-
122	-	-	-

Entre enero y mayo de 1991 se realizaron una serie de muestreos en distintas zonas de La Mancha que presentaban diferentes síntomas de virosis junto a fuertes infecciones víricas, así en Socuéllamos en la que denominamos "zona de mosaico amarillo", se observaba mosaico amarillo, "bandedado de venas" y deformaciones de madera; en Las Hoyas fuertes síntomas de deformación de madera sin alteraciones cromáticas, ambas zonas positivas de GFLV; en la zona del camino de Matallana que presenta también claros síntomas de deformación de madera pero siempre resultó negativa para el virus. En Ossa de Montiel en otra zona de mosaico amarillo, bandedado de venas y madera deformada, positiva de GFLV. En Valdepeñas en la finca "Los Córdoba" existe deformación de madera pero no se detecta GFLV, mientras que en "La Encomienda", en que se aprecia deformación de madera y mosaico amarillo y en el Km 11 de la carretera de Valdepeñas a Daimiel, que muestra mosaico amarillo, "veinbanding" y madera deformada, revelan fuertes infecciones víricas.

En el Cuadro XXXVIII figuran los resultados obtenidos, donde se aprecia que la incidencia virus-nematodo es del 100% para *X.index* y del 60% para *X.italiae*, hallándose ambos vectores incluso en los puntos negativos para GFLV, aunque no aparecieron en todos los muestreos. En los muestreos diseñados para conocer su distribución espacial en estas zonas en que se analizaron muestras de distintas profundidades y orientaciones respecto a la planta infectada, se comprueba (Cuadro XXXIX) una vez más, la distribución aleatoria de estos nematodos, en este caso aparece *X.index* en todo un rodal que abarca dos cepas afectadas de virus, mientras que *X.italiae* solamente apareció en dos orientaciones de la cepa I (Este y Oeste), encontrándose ambas especies en todas las profundidades muestreadas, excepto en la costra caliza, donde no apareció nematodo alguno. El Cuadro XL muestra los resultados de los estudios realizados a distintas profundidades (entre 5 y 75 cm) en mayo, cuando las poblaciones de estos nematodos

CUADRO XXXVIII.- INCIDENCIA VIRUS-VECTOR EN FOCOS CONTROLADOS DE LA MANCHA

Localidad	CFV	23-I-91	10-III-91		19-III-91		8-V-91		26-V-91	
		X. index	X. index	X. italiae	X. index	X. italiae	X. index	X. italiae	X. index	X. italiae
Socuellamos										
Zona Mosaico Amarillo	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
Las Hoyas	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-
Camino de Matallana	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-
Valdepeñas										
Los Córdoba	-	+	-	-			+	-	-	-
La Encomienda	+	-	+	-			-	-	-	-
Km 11 Carretera Valdepeñas a Daimiel	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-
Osa de Montiel	+				+	+	+	-	+	-

**CUADRO XXXIX.- DISTRIBUCION DE LOS NEMATODOS EN DISTINTAS PROFUNDIDADES Y ORIENTACIONES DE LOS POCOS POSITIVOS DE VIRUS DE LA HIGUERUELA**

	Orientación	Profundidad	X. index	X. italiae
CEPA I	Norte	10-35 cm	-	-
		35-70	-	-
	Sur	10-35 cm	80	-
		35-70	80	-
	Este	10-35 cm	35	5
		35-70	170	70
	Oeste	10-35 cm	35	5
		35-70	95	20
		Costra	-	-
	CEPA II	Norte	15-70 cm	130
Sur		15-70 cm	150	-
Este		15-70 cm	90	-
Oeste		15-70 cm	85	-

**CUADRO XL.- DISTRIBUCION DE LAS POBLACIONES DE NEMATODOS A DISTINTAS PROFUNDADES EN LOS FOCOS CONTROLADOS DE LA MANCHA**

<u>Localidad</u>	<u>Cepa</u>	<u>Profundidad (cm)</u>	<u>X. index</u>	<u>X. italiae</u>	
Socuéllamos	I	5-15	10	-	
		15-30	10	-	
		30-50	10	-	
		> 50	70	100	
	II	5-15	-	-	
		15-30	75	-	
		30-50	125	-	
		> 50	800	-	
Las Hoyas	III	5-15	5	-	
		15-30	55	-	
		30-50	20	-	
		> 50	30	-	
Camino de Matallana	IV	5-15	-	-	
		15-30	20	-	
		30-50	-	-	
		> 50	5	5	
	V	5-15	5	-	
		15-30	5	-	
		30-50	10	5	
		> 50	-	-	
	Ossa de Montiel	VI	5-15	5	-
			15-30	80	-
30-50			30	-	
> 50			40	-	
VII		5-15	-	-	
		15-30	-	-	
		30-50	5	-	
		> 50	30	-	
Los Córdoba		VIII	5-30	-	-
			30-70	25	-
La Encamienda	IX	5-30	-	-	
		30-70	-	-	
Carretera de Valdepeñas a Daimiel	X	5-30	15	-	
		30-70	20	-	
	XI	5-30	-	-	
		30-70	35	-	
	XII	5-30	95	-	
		30-70	85	-	
	XIII	5-30	65	-	
		30-70	20	-	

eran más numerosas, en ella se observa que X.index se presenta distribuido a lo largo de todo el perfil aunque sus mayores concentraciones se encuentran, en general, en las capas más profundas, asimismo X.italiae solamente apareció a profundidades superiores a los 50 cm.

Para estudiar la evolución de las poblaciones se realizaron muestreos de enero a junio de 1991 (Cuadro XLI), encontrándose que en enero solamente aparecieron algunas hembras de X.index, a partir de marzo las poblaciones de esta especie se incrementan considerablemente, hallándose hembras y larvas de los distintos estadios hasta finales de mayo y no apareció ninguno de estos nematodos en el muestreo de junio. El comportamiento de X.italiae es similar aunque con poblaciones mucho menos abundantes.

### III.7. ESTUDIOS ULTRAESTRUCTURALES DE PLANTAS INDICADORAS Y DE X.index.

En estudios de secciones ultrafinas de células de Ch.quinoa, ponen de manifiesto la presencia de viriones, tanto dispersos en el citoplasma, como asociados a membranas, en el interior de túbulos, formando estructuras más o menos complejas de túbulos paralelos con viriones en su interior o dentro de plasmodesmos, formando complejos multivesiculares que encierran diversos orgánulos celulares (Fig.53). Posteriormente se comprobó que lo descrito como túbulos en el núcleo de las células, son acumulaciones pseudocristalinas posiblemente de cápsidas vacías, estructuras similares se encontraron en el citoplasma junto a formaciones tubulares con viriones completos en su interior (Fig. 54). Hasta el momento no se conoce el significado de esta gran acumulación de partículas vacías tanto en el citoplasma como en el núcleo de estas células.

CUADRO XLI.- EVOLUCION DE LAS POBLACIONES A LO LARGO DEL AÑO EN FOCOS CONTROLADOS DE LA MANCHA

Localidad	23-I-91				10-III-91				19-III-91				8-V-91				26-V-91			
	X. index		X. italie		X. index		X. italie		X. index		X. italie		X. index		X. italie		X. index		X. italie	
	oo **	ll	oo **	ll	oo **	ll	oo **	ll	oo **	ll	oo **	ll	oo **	ll	oo **	ll	oo **	ll	oo **	ll
<b>SOCUZELLANOS</b>																				
Zona Mosaico Amarillo	* 15	-	-	-	200	100	-	-	25	10	5	-	10	10	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	100	60	20	50	50	50	50	50	-	-	-	-
Las Hoyas	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	15	35	-	-	25	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	50	-	-	15	-	-	-
Camino de Matallana	-	-	-	-	10	-	40	-	-	-	-	-	10	10	-	-	-	-	-	-
<b>VALDEPEÑAS</b>																				
Los Córdoba	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	20	-	-	-	-	-	-
La Encomienda	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ka li Carretera Valdepeñas a Daimiel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	75	95	-	-	5	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	40	45	-	-	-	-	-	-
Oasa de Montiel	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	5	-	30	50	-	-	15	15	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	15	10	-	-	30	40	-	-	15	55	-	-

\* El primer valor, en cada localidad, corresponde a la muestra tomada entre los 15 y 30 cm de profundidad; el segundo valor a la tomada entre 30 y 70 cm.



Fig. 53.- Secciones ultrafinas de células de *Ch. quinoa* infectadas con GLV. A. Partículas víricas en el interior de un plasmodesmo. B. Partículas víricas en el interior de formaciones tubulares paralelas. C. Formaciones pseudocristalinas de acúmulos de partículas. D. Complejos multivesiculares englobando partículas víricas y formando parcelas de víriones en el citoplasma.

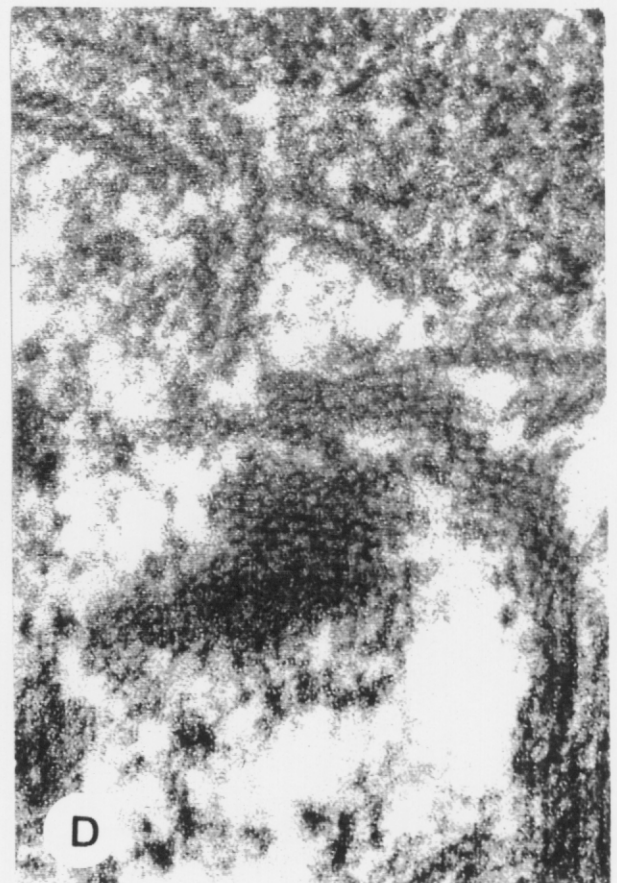
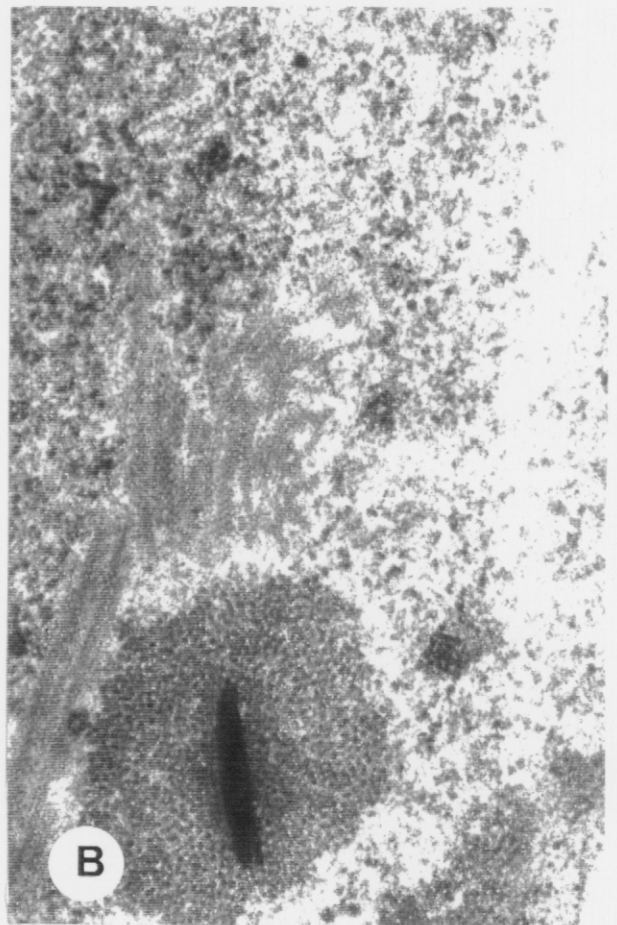
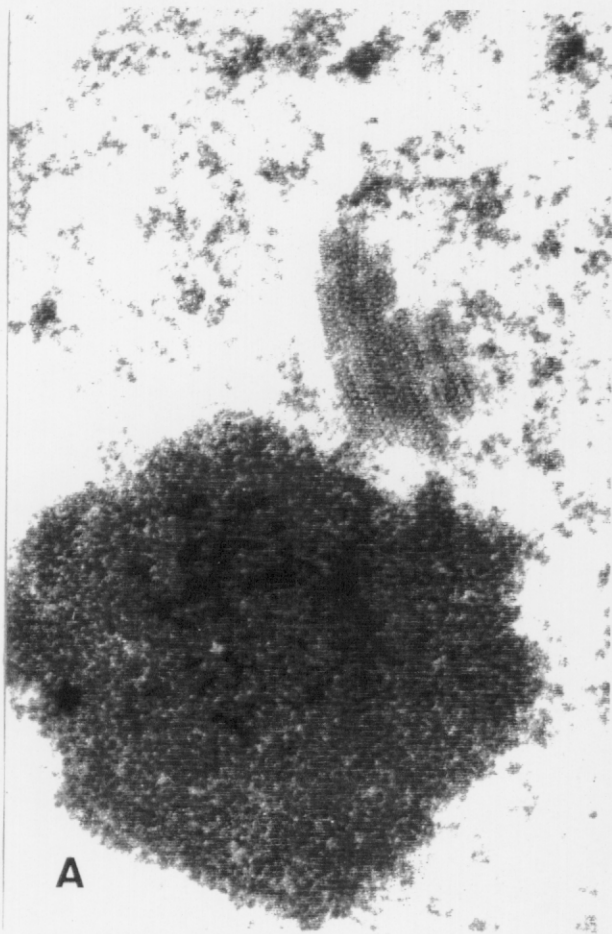


Fig. 54.- Secciones ultrafinas de células de *Ch. quinoa* infectadas con GFLV. A y B. Formaciones cristalinas de partículas vacías en núcleo junto a nucleolo. C. Viriones y partículas vacías en citoplasma y D. Detalle de formaciones de partículas vacías

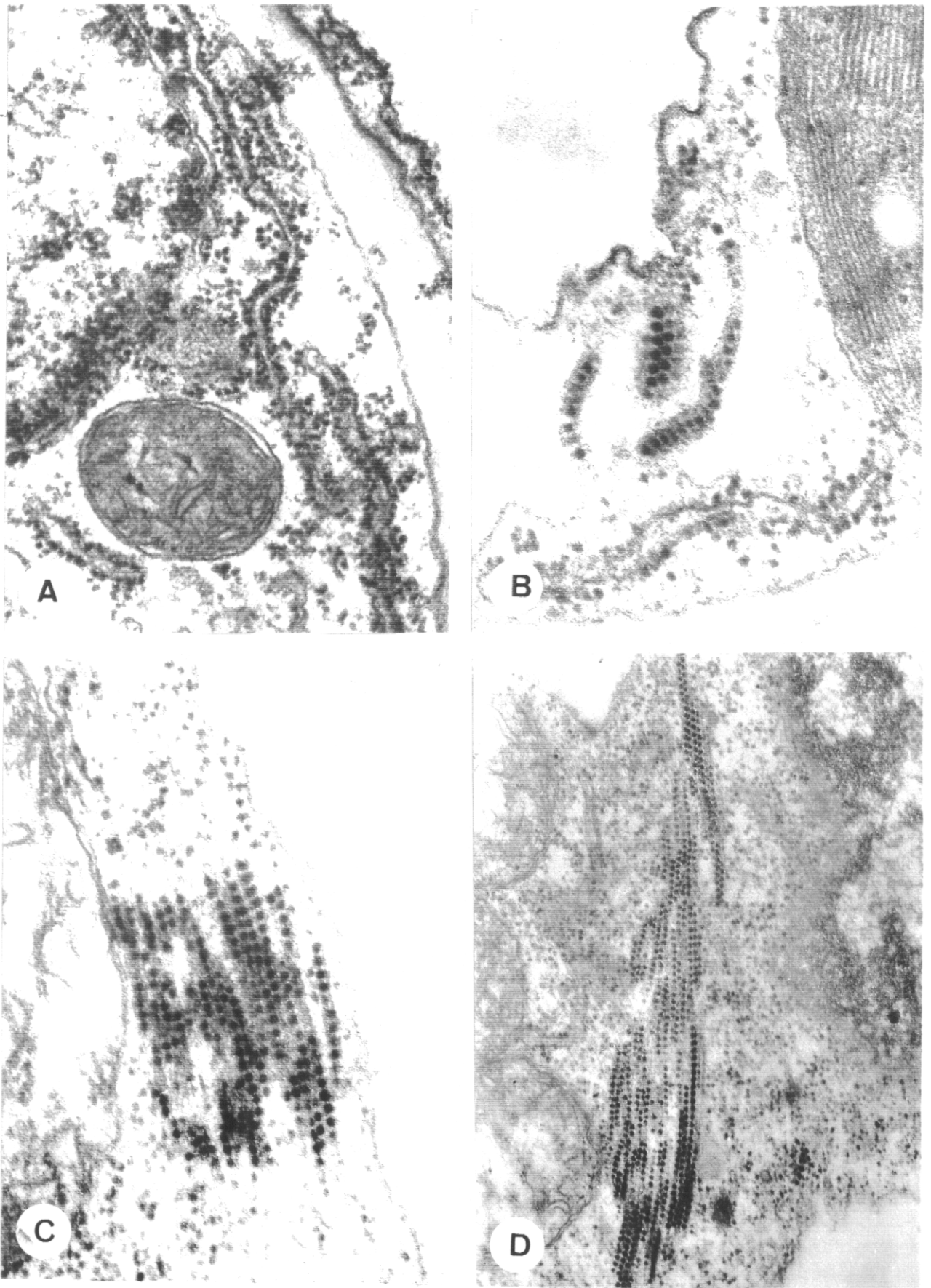


Fig. 55.- Secciones ultrafinas de células de Ch. quinoa infectadas con GLV. A. Sin tratamiento para eliminar ribosomas. B. Con tratamiento para eliminar ribosomas. C y D. Partículas víricas en formaciones tubulares en citoplasma.

Eliminando los ribosomas, que en todos los trabajos de ultraestructura resultan difíciles de diferenciar de las partículas víricas de estos nepovirus, se consiguieron considerables reducciones de los mismos, sin llegar a eliminarlos totalmente (Fig. 55), lo que permitió una mejor diferenciación entre viriones y ribosomas.

Al examinar preparaciones de tinción negativa hechas directamente de savia de vid, se presentaron los mismos problemas que con el método ELISA, no se detectan virus. Sin embargo, añadiendo nicotina al 2.5% a los tampones generales de tinción negativa es posible visualizar las partículas. Por el contrario, empleando muestras de Ch. quinoa infectadas con GFLV es muy fácil visualizar gran cantidad de partículas en un solo campo de la rejilla (fig.56). Estos resultados aparecen considerablemente mejorados utilizando ISEM, con las ventajas de la sensibilidad y especificidad de este método frente a la tinción negativa (Fig. 57). Por ambos métodos, se observan gran cantidad de partículas vacías, que se observan en estas preparaciones, por ambos métodos, que posiblemente tengan relación con las partículas vacías observadas en secciones ultrafinas.

En secciones ultrafinas transversales y longitudinales, a nivel del estilete de X.index se aprecian partículas víricas asociadas a la pared interna del mismo (Fig. 58).

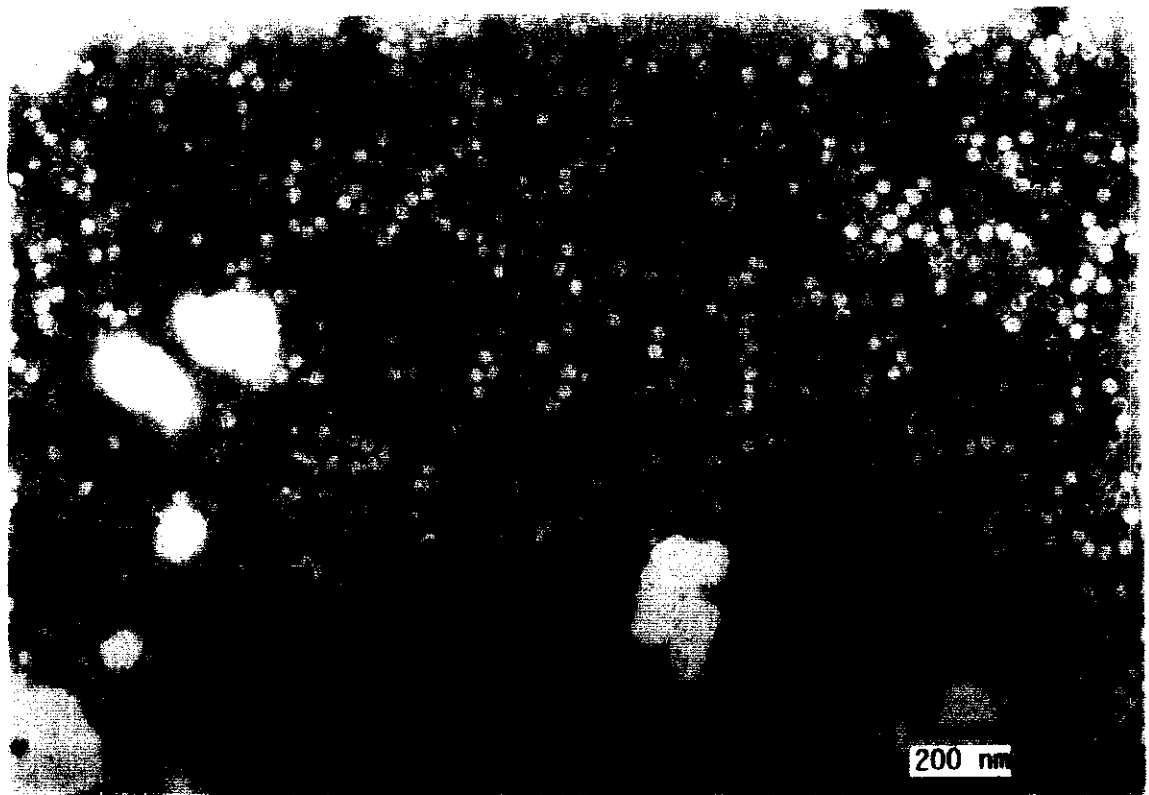


Fig. 1.- Electromicrografía de GFLV ourificado de Ch. quinoa mostrando un 70% de partículas T penetradas por el fosfotúngstico (O).

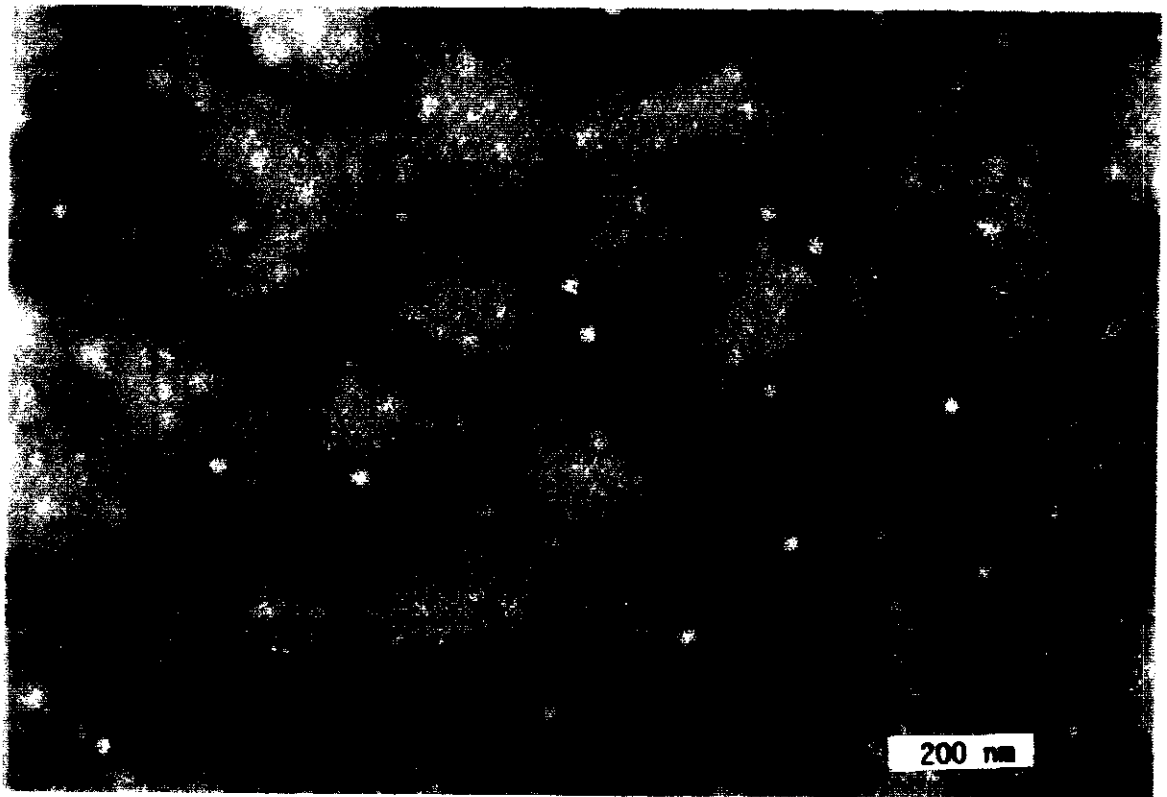


Fig. 2.- ISEM de partículas de GFLV tranmistido de via a Ch. quinoa. Rejillas sensibilizadas con suero específico contra el virus (tipo T), penetradas por el fosfotúngstico y partículas intactas (tipo M y B).

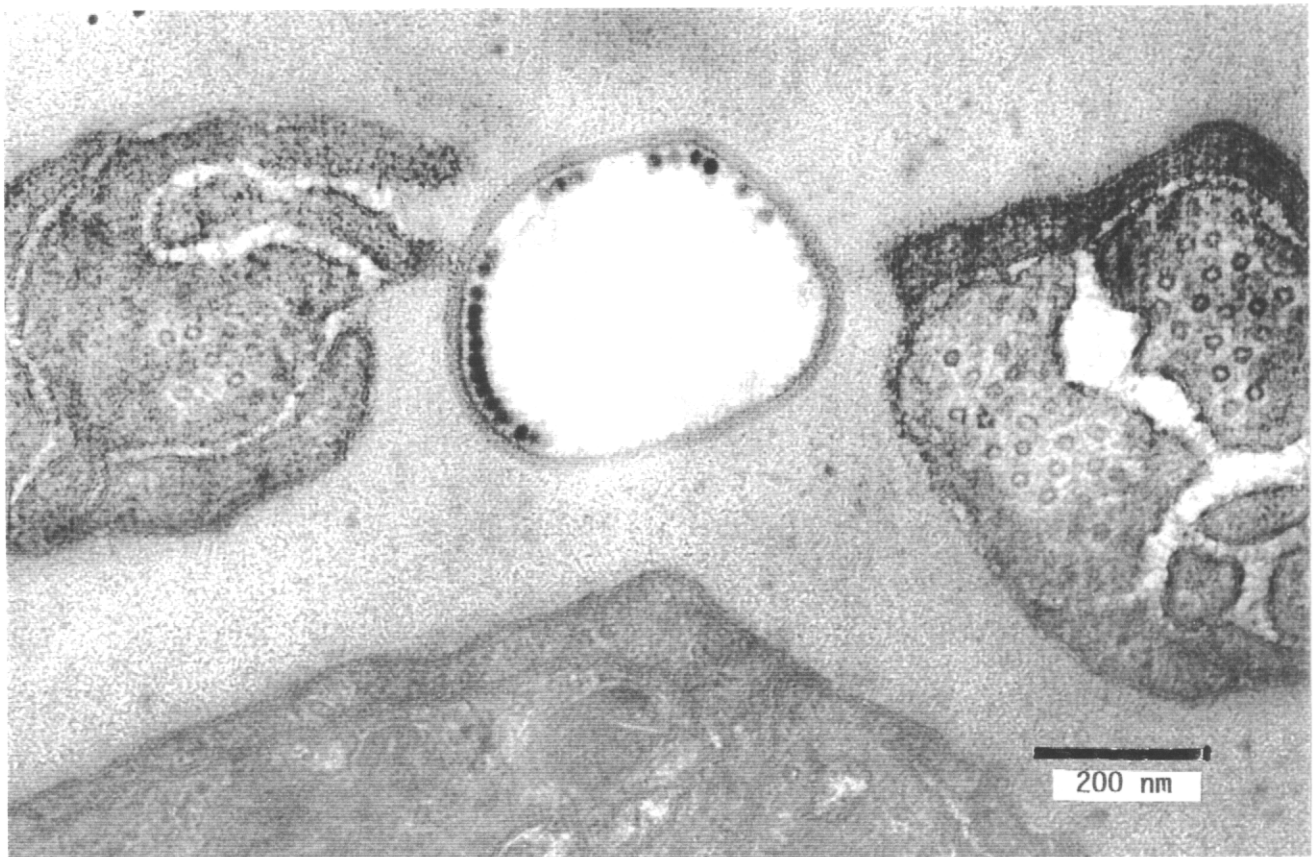


Fig. 580.- Sección transversal del odontóforo de X. index con virus GFLV  
(foto cedida por W. M. Robertson)

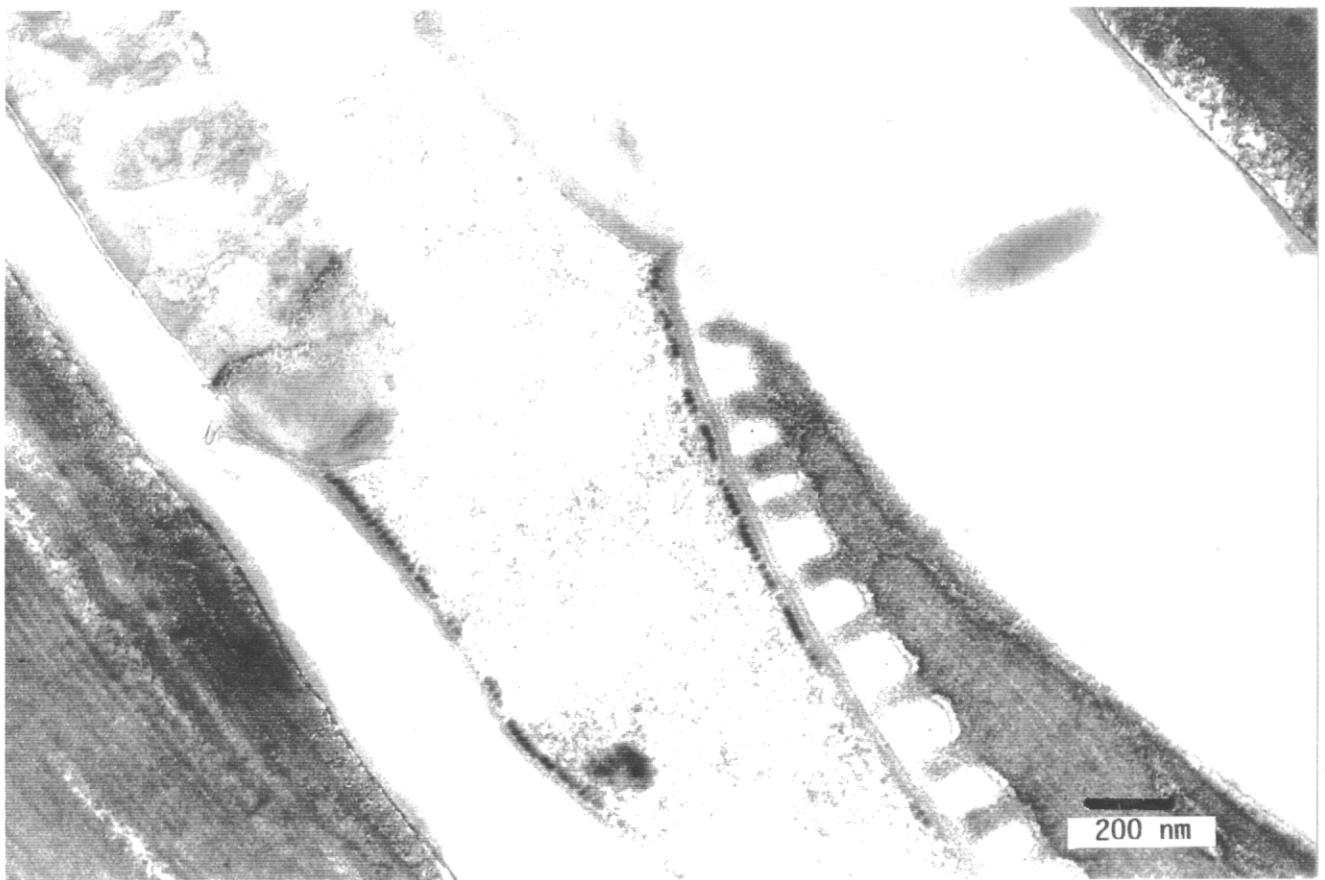


Fig. 581.- Sección longitudinal del odontóforo de X. index con GFLV  
(foto cedida por W. M. Robertson)



### III.8. TRANSMISION DEL VIRUS DE LA DEGENERACION INFECCIOSA POR

#### X<sub>index</sub>. DETECCION DEL VIRUS EN EL NEMATODO VECTOR Y EN PLANTA HERBACEA.

En los procesos de transmisión directa e inversa, se obtuvieron resultados claramente positivos tanto por ELISA como por ISEM, presentando además fuerte sintomatología vírica las plantas herbáceas indicadoras (Fig. 59 y 60, Cuadro XLII). En los experimentos de transmisión utilizando diferente número de nematodos, se aprecia en la absorbancia un gradiente en función del número de nematodos utilizados en un tiempo dado (Fig. 61, Cuadro XLIII). Con la técnica de micromortero y utilizando un ELISA modificado, a fin de incrementar su sensibilidad, como se ha descrito en el capítulo de material y métodos, se ha conseguido detectar virus con un mínimo de 5 individuos de X<sub>index</sub>, en buen número de pruebas (Cuadro XLIII), y en el 100 % de los casos cuando se utilizaban 10 o más ejemplares. Se han encontrado también diferencias en la adsorbancia al testar la transmisión a plantas indicadoras, según el número de nematodos vectores utilizado, 6, 10, 30 ó 47 (Fig. 62). Asimismo, se han llevado a cabo estudios de transmisión inversa con resultados positivos, alimentando nematodos, mantenidos en higuera, libres de virus, en plantas indicadoras de Ch. quinoa y vid, infectadas de virus. Estos nematodos fueron capaces de transmitir el virus a plantas indicadoras, comprobándose su capacidad de transmisión directamente por la sintomatología o mediante ELISA e ISEM. La presencia del virus en los diferentes pasos se comprobó igualmente por dichos métodos de detección, serológicos y de microscopía.



Fig. 60.- Síntomas de GFLV en Rupestris del Lot. Transmisión del virus por X.index.

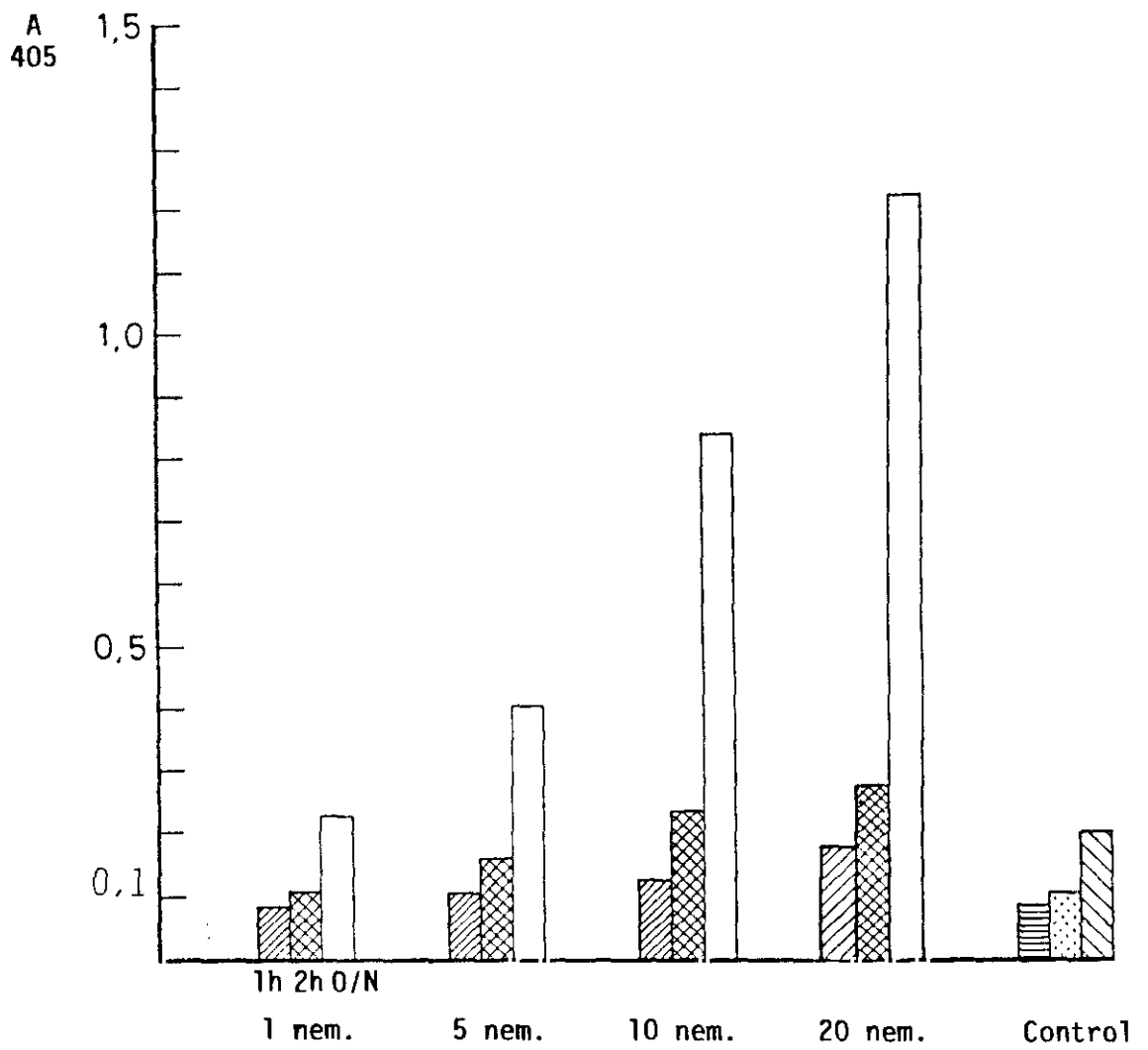


Fig. 61 .- D.O. en 1, 5, 10 y 20 nematodos. Lecturas a 1 hora, 3 horas y 0/N de incubación de sustrato

CUADRO XLIII.- DIFERENCIA DE ABSORBANCIA UTILIZANDO 1, 5, 10 ó 20 NEMATODOS

	Repeticiones Valores Test ELISA a 3 h y O/N							
	1	2	3	4	1	2	3	4
<b>Nematodos con virus</b>								
1	0,126	0,146	0,103	0,116	0,243	0,332	0,219	0,223
5	0,146	0,166	0,225	0,200	0,215	0,356	0,851	0,691
10	0,278	0,271	0,258	0,253	0,968	0,863	0,935	0,675
20	0,402	0,317	0,278	0,197	1,722	1,463	1,080	0,709
<b>Nematodos sin virus</b>								
5	0,860	0,109	0,095	0,130	0,205	0,180	0,133	0,177
20	0,107	0,110	0,098	0,093	0,236	0,205	0,182	0,210
<b>Tampón</b>	0,078	0,078	0,078	0,078	0,149	0,142	0,149	0,149
<b>Vid I</b>	0,909	0,909	0,909	0,909	> 2	> 2	> 2	> 2

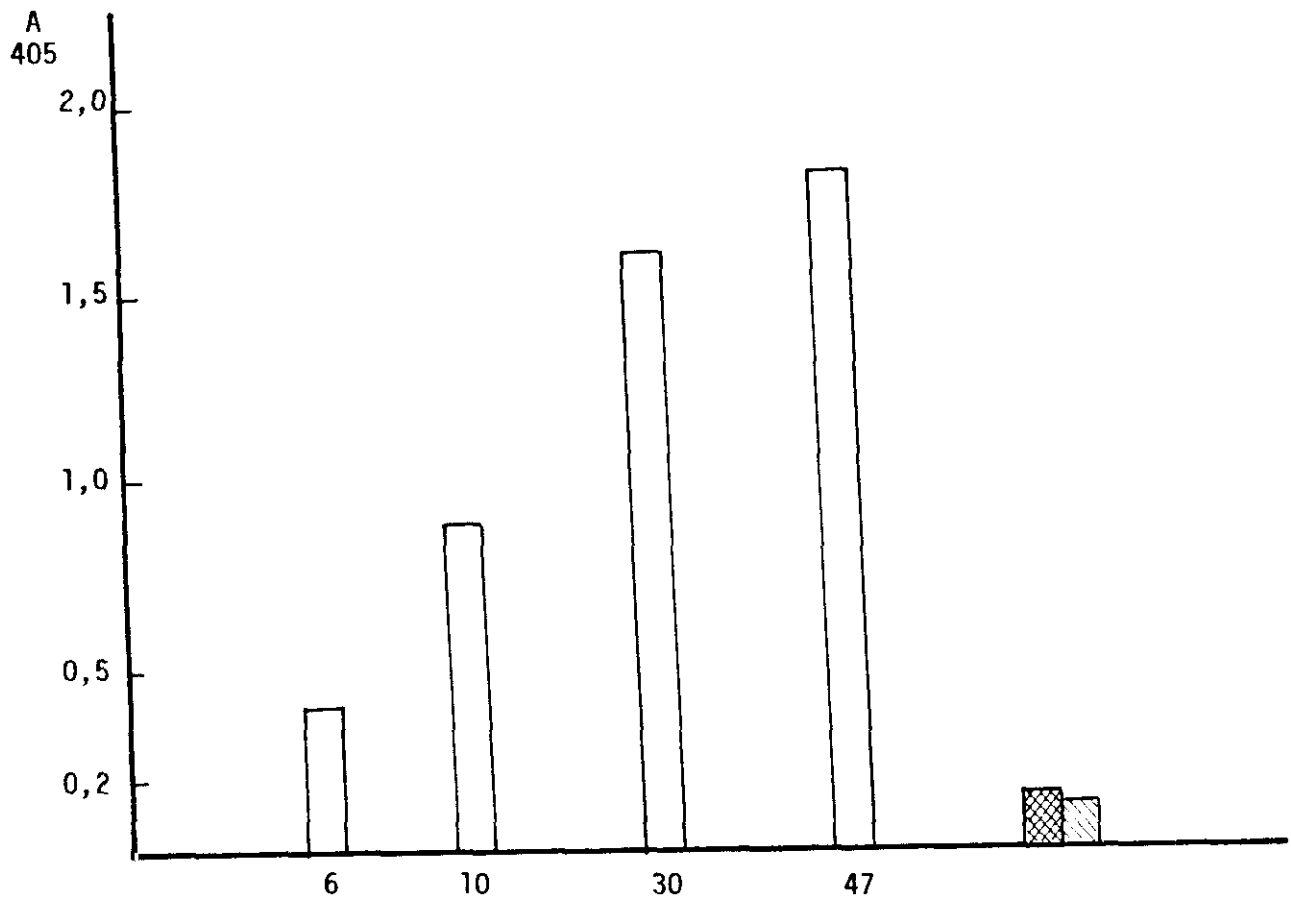


Fig.62.- Histograma de Absorbancias de Ch. quinoa infectados con 6, 10, 30 y 47 X. index. Muestra procesada a las 3 semanas de poner los X. index en los Ch. quinoa

#### **IV. DISCUSSION**

Para una mejor comprensión dividimos la discusión en tres apartados. En el primero de ellos se analiza la incidencia del virus de la degeneración infecciosa en las zonas estudiadas, los problemas que plantea su detección, relación de la presencia del virus con la sintomatología observada en distintas variedades; concentración en los distintos tejidos vegetales a lo largo del año y, en consecuencia su significación en el diagnóstico para concluirlo con los estudios estructurales en plantas herbáceas indicadoras y en *nematodos*.

En segundo lugar se trata de la problemática que plantean y distribución de los nematodos fitoparásitos en las zonas estudiadas, así como el comportamiento de las especies transmisoras de virus, *Xiphinema index* y *Xiphinema italiae*, frente a las condiciones ambientales de La Mancha y, finalmente, se analiza la correlación virus nematodo.

#### IV.1. INCIDENCIA Y DETECCION DEL VIRUS DE LA DEGENERACION INFECCIOSA.

El virus de la degeneración infecciosa de la vid (GFLV) se encuentra disperso en todas las zonas vitícolas estudiadas, independientemente de las condiciones climáticas y variedades cultivadas en cada una de ellas, con una incidencia máxima en torno al 12% ( $\pm 0.025$ ), porcentaje considerablemente inferior al que se venía estimando en estudios anteriores, posiblemente debido a que las estimaciones se venían realizando en gran medida en base a diagnósticos visuales o mediante inoculación a plantas hospedadoras sensibles (PEREZ CAMACHO, 1981; PEÑA-IGLESIAS, 1972 y 1989).

Los diagnósticos visuales no son fiables, ya que manifestaciones sintomatológicas similares a las descritas pueden darse como consecuencia de la fisiología de algunas variedades de vid, ser debidas a determinadas condiciones genéticas y medioambientales (climatología, tipo de suelo, etc.), tal y como manifiesta WALKER *et al.*(1985), o como resultado de la acción de otros patógenos (filoxera u otros nematodos). Así, se han detectado concentraciones altas de carbonatos y como consecuencia pH elevados en unos 200 puntos, frecuentes en pequeñas lomas de la llanura manchega, lo que produce una serie de amarilleos, fáciles de diferenciar de las clorosis debidas al virus cuando se está familiarizado con el cultivo. También se observaron alteraciones de color debidos al ataque de nematodos ectoparásitos del sistema radicular del grupo de los "anillados", que se han encontrado en más de 50 focos. Otra sintomatología que se ha observado es la que los agricultores de la zona denominan cepa "rula" o "esparraguillada" que consiste en la aparición de brotes enanos con gran proliferación de hojas de pequeño tamaño, así como la aparición de raíces con nódulos, gran cantidad de raicillas en cabellera en la zona del injerto, por lo que se le da el nombre de esparraguillado a dicha manifestación sintomatológica. Esta alteración observada en más de 25 puntos de La Mancha se presenta en rodales de considerable extensión que llevan a la total degeneración del viñedo y son debidas al ataque de nematodos endoparásitos del género *Meloidogyne*.

La inoculación a hospedadores sensibles , ya sea mediante nematodos vectores, por injerto (BOVEY, 1980; JIMENEZ y GOHEEN, 1980, entre otros) o por inoculación mecánica de savia (HEWITT y CORY, 1965; VUITTENEZ,1965), tienen el riesgo de la existencia de infecciones cruzadas, lentas e inespecíficas, que además pueden inducir a error; por lo que es preciso utilizar métodos más seguros y rápidos, como son los serológicos y más concretamente la técnica ELISA, en programas de indexaje y mejora, que permitan su aplicación en la detección de virus en mezclas de muestras sanas y

enfermas y en aquellas plantas en que los porcentajes de infección sean pequeños, tal y como indican LISTER (1978) y NOLASCO (1982) y como complemento y confirmación de la selección visual (BOVEY, 1980; NOLASCO, 1982; RUDEL et al., 1983; WALTER et al.1983).

De este modo, hemos encontrado que en las variedades Airén, Albillo, Cavernet-Franc, Cavernet-Souvignón, Cencibel, Coloraillo, Chadornnay, Graciano, Macabeo, Malvar, Malvasía, Mazuelo, Merlot, Messeguera, Monastrel, Moscatel, Pinot Noir, Riesling, Sauvignón, Tempranillo, Tinto Fino, Tinto Velasco, Tintorera, Torrontes, Ugni-Blanc y Viura, no aparece correlación alguna entre sintomatología y presencia de virus, ya que todas las plantas testadas en los distintos campos de variedades, dieron resultados negativos frente al test ELISA, a pesar de que se tomaron aquellas que, aparentemente, presentaban una sintomatología clara o, en su defecto, mostraban una patente falta de vigor.

En los estudios de campo sobre la variedad Airén, la correlación entre una sintomatología aparentemente clara y la presencia comprobada del GFLV fué cuando mas del 14% ( $\pm 0.058$ ). Por el contrario, en Garnacha la infección vírica parece provocar una sintomatología más clara, puesto que la correlación con la presencia del virus fué del 80%.

En cuanto a la evolución de la enfermedad, en los estudios efectuados en focos positivos de virus sobre la variedad Airén, se detectó una sintomatología muy variada, prácticamente todas las manifestaciones descritas para las distintas estirpes del virus (DIAS, 1970; HEWITT, 1970; VUITTENEZ, 1970; MARTELLI y SAVINO, 1988). Así, se han encontrado zonas de mosaico amarillo que se manifestaban desde el nacimiento

de la hoja, apareciendo progresivamente en la misma zona cepas con bandeo de venas y/o fuertes alteraciones de madera; sintomatología de deformación de hoja y corrimiento de fruto, sin alteraciones cromáticas; cepas que presentaban toda esta sintomatología *conjuntamente e, incluso, distintas manifestaciones en un mismo sarmiento*. Asimismo, se localizó un punto con síntomas claros de madera aplanada, donde en ningún momento se detectó la presencia de virus, a pesar de haber sido testadas varias plantas y en diversas ocasiones. Todas estas observaciones coinciden con los resultados obtenidos por GOLINO *et al.* (en prensa) en vides de California, en que la severidad de la sintomatología en cepas de una misma viña, afectadas por GFLV, mostraba predominio de uno u otro síntoma en las distintas cepas, con la presencia de los tres tipos de síntomas descritos para las tres estirpes consideradas del virus, conjuntamente en la mayoría de los viñedos. Estos autores, además encuentran, en el test serológico, diferente titulación del virus entre las distintas cepas de una viña y entre las mismas cepas en años distintos, lo que les lleva a plantear la necesidad de establecer niveles de confianza en trabajos de rutina.

Planteamientos similares nos llevaron a la comprobación de la técnica ELISA que se venía utilizando en nuestro laboratorio y que en ocasiones daba resultados contradictorios; los resultados obtenidos revelaron que si bien para Ch. quinoa, P. híbrida, otras plantas herbáceas indicadoras, tallo y raíz de vid era indiferente la naturaleza del tampón de extracción que se utilizara, para hoja de vid presentaba dificultades que aumentaban con la edad. Estas irregularidades, quizás debidas a la naturaleza ácida de sus tejidos, como indica ROWHANI (en prensa), o bien a que los descensos del pH observados en el transcurso del test que dan lugar a la desnaturalización proteica de los extractos de la hoja, se obvian utilizando tampones de extracción que mantengan los valores de pH en el transcurso del test entre 7.0 y 7.5;

a tal propósito son adecuados el Tris-HCl ó aquellos que contengan nicotina, que posiblemente contrarresten la mencionada desnaturalización proteica, resultados similares obtienen HUSS et al. (1986) utilizando anticuerpos mono y policlonales y ROWHANI (en prensa) con la modificación del ELISA indirecto F(ab')<sub>2</sub> ELISA (BARBARA y CLARK, 1982).

De acuerdo con estos autores y nuestros resultados, las condiciones más favorables para la detección del virus en hoja de vid sobre todo en hoja vieja, son:

- Utilización de tampones de extracción Tris-HCl 0.5 Molar, pH 8.2 + 2 % de PVP + 0.05 % de Tween 20 + 1% de polietilen glicol 600 + 0.8 % de ClNa + 0.02 % de NaN<sub>3</sub> o cualquiera que contenga nicotina( PVS-T + PVP + 2.5 % de nicotina ó AFT + 2 % de PVP + 2.5 % de nicotina), con la ventaja del primero de no ser tóxico para el operador.

- El material a testar preferiblemente debe ser fresco, ya que con hoja congelada se obtienen absorbancias muy inferiores que pueden inducir a error, tanto más cuanto más avanzada es la edad de la hoja en el momento de la congelación, mejorándose ligeramente los resultados si se tritura el material directamente sin descongelar, no consiguiéndose mejores cuando se intenta impedir la oxidación cubriendo los extractos con butanol saturado en agua o vaselina.

Respecto a la variación de la concentración del virus en los distintos tejidos de la planta a lo largo del año, los resultados muestran que las absorbancias obtenidas en hoja, en primavera y principios de verano son superiores a los proporcionados por otros tejidos de la planta (madera y raiz), incluso se comprobó que, hojas nacidas en épocas de temperaturas máximas dieron lecturas considerablemente altas, tampoco se observaron

variaciones entre hojas de la misma edad situadas en diferentes tallos y a diferentes alturas de una misma planta, lo que descarta la posibilidad de errores debidos a efectos de termoterapia, por un lado, o a la zona de la planta donde se tomó la muestra.

Por otro lado, se ha observado que según la hoja madura y envejece los valores de la absorbancia van decreciendo, pero manteniéndose claramente positivos hasta las primeras heladas en que llegan a límites prácticamente no detectables debido a la destrucción de los tejidos, sin embargo en invernadero se consigue detectar virus en hojas totalmente amarillentas, incluso a mediados de diciembre. Esto explica las aseveraciones de BOVEY et al. (1980), NOLASCO (1982) y RUDEL et al. (1983) que consideran que la detección del virus depende de la época del año, aunque según nuestra experiencia, el virus es detectable por ELISA en cualquier época del año, siempre que el test se aplique a un tejido funcional, bien sea hoja o cualquier parte de la planta e incluso en invernadero se ha detectado el virus en hoja desde enero-febrero hasta mediados de diciembre, prácticamente durante todo el año completo.

Los valores obtenidos en tallo son muy constantes a lo largo de todo el año, incluso sarmientos mantenidos a 4 °C durante un año dan resultados claramente positivos, observación ésta de gran interés para el control sanitario de madera destinada a nuevas plantaciones y para el control en

fronteras. Las raíces secundarias presentan también valores constantes a lo largo del año, mientras que las raíces muy jóvenes (blancas) dan lecturas muy superiores, similares a las de hoja joven.

Las absorbancias obtenidas en racimos y yemas en desarrollo son muy superiores a los

de cualquier otro tejido. En fruto también es detectable el virus, tanto en pulpa como en piel, pepita, escobajo ó raquis e incluso en mosto, siendo muy superiores los valores obtenidos en pepita, comparables a los proporcionados por hoja joven.

Además, en los focos positivos de GFLV detectados en La Mancha, se obtuvieron a lo largo de todo el año, siempre lecturas positivas, independientemente del tejido utilizado, en cada época, la orientación, posición y profundidad muestreados, encontrándose variaciones de unos a otros en cuanto a los valores de absorbancia, de acuerdo con las consideraciones anteriores. En los análisis efectuados a lo largo de los años 88 a 91 en cepas viróticas de La Higuera, seguidos mes a mes en invierno y semana a semana en primavera-verano, siempre se obtuvieron resultados positivos, todo ello contrasta con las observaciones de GOLINO et al. (en prensa) que encuentran diferencias de titulación entre distintas cepas de una misma viña y entre las mismas cepas de un año para otro.

En el seguimiento en invernadero, con material estaquillado, a lo largo de 2 años se comprobó una vez más las variaciones de estos valores en los distintos tejidos y edades. Asimismo se observaron las dificultades de enraizamiento ya citados por VUITTENEZ (1970), así como el porte menor, deformaciones de hoja y madera y mayor mortandad de las plantas viróticas.

Mediante la aplicación de la técnica ELISA amplificada se ha conseguido, asimismo detectar el virus un número mínimo de 5 nematodos vectores (*Xiphinema index*), utilizando como controles negativos ejemplares de *Xiphinema* comprobados como no virulíferos (*X. pachtaicum* y *X. index* mantenido en higuera). Con este método se consiguieron lecturas muy elevadas cuando el número de individuos utilizados en el test se aumentó a 10 ó 15. En las mismas condiciones de experimentación no se consiguió

detectar el virus en X. italiae en ninguno de los focos positivos lo que parece explicar las observaciones de MARTELLI et al. (1978) sobre su poca eficacia como vector en el campo. Sin embargo se consiguieron llevar a cabo los test de transmisión para ambas especies, siguiendo rigurosamente los postulados de TRUDGILL et al. (1983), con resultados muy positivos, utilizando 6, 10, 30, 45 y 50 individuos.

Hay que resaltar que la técnica utilizada consigue detectar el virus a grandes diluciones, lo que garantiza su detección en pequeñas concentraciones y su utilidad en el testado de plantas agrupadas, como observaron LISTER (1978) y NOLASCO (1982).

Para el estudio del virus directamente en savia de vid por tinción negativa, se presentan los mismos problemas que con la aplicación del test ELISA. Mientras que en savia de Ch. quinoa es fácil visualizar las partículas virales cualesquiera que sea el tampón utilizado, en vid no lo es a menos que se añada 2.5 % de nicotina a los tampones generales de esta técnica, en cuyo caso es posible visualizar gran cantidad de partículas en un solo campo, como observaron MENDOÇA et al. (1980). Estos resultados se ven mejorados utilizando ISEM con mayor sensibilidad y especificidad. Hay que resaltar la gran cantidad de partículas vacías que aparecen y que posiblemente tengan relación con las observadas en secciones ultrafinas.

Los estudios ultraestructurales del virus en plantas indicadoras en secciones ultrafinas de Ch. quinoa revelan la presencia de ultraestructuras de túbulos con viriones en su interior formando complejos multivesiculares, de acuerdo con los resultados de GEROLA et al. (1965 y 1969), SARIC et al. (1975), HONDA et al. (1972), PEÑA-IGLESIAS et al. (1971 y 1978), FRESNO et al. (1976), ROBERT et al. (1970) y RUSSO (1985).

Posteriormente se comprobó que dichos túbulos son acumulaciones pseudocristalinas al parecer de cápsidas vacías que aparecen tanto en el citoplasma como en el núcleo de las células, sin que se conozca su significado.

#### IV.2. INCIDENCIA DE NEMATODOS FITOPARASITOS Y TRANSMISORES DE VIRUS.

La nematofauna de las zonas estudiadas es pobre tanto en número de especies como en tamaño de poblaciones. Dentro de los nematodos fitoparásitos la especie más frecuente es Xiphinema pachtaicum que apareció en más del 83 % de las muestras y en más del 80 % asociado a plantas viróticas; es una especie muy dispersa en ambientes mediterráneos que aparece frecuentemente asociada a viñedos (ALPHEY y TAYLOR, 1986; LAMBERTI y SIDDIQI, 1977) y anteriormente citado en este cultivo en España por ARIAS y NAVACERRADA (1973) y ARIAS et al. (1986). Se ha encontrado frecuentemente asociado a GFLV, al extremo de que ALFARO (1971) la consideran como posible vector del mismo; asimismo GIUNCHEDI y TACCONI (1974) la encuentran asociada a otro virus del melocotonero, el "stem pitting", pero en realidad no se ha logrado comprobar experimentalmente su papel de vector, quizás debido a la dificultad de mantenerlo en condiciones de laboratorio.

Por otro lado, las pruebas de detección del virus de la degeneración infecciosa, llevadas a cabo en poblaciones de X. pachtaicum extraídos de la zona perirradicular de vides infectadas, dieron siempre resultados negativos hasta el punto que las poblaciones de estos nematodos se han venido utilizando como controles negativos en las pruebas de ELISA amplificado que se aplicaron a la detección del virus en otros nematodos X. index y X. italiae y en las pruebas de transmisión. Tampoco se observaron síntomas de virosis

al infectar con estos nematodos plantas herbáceas sensibles al virus, pero se ha comprobado que se alimenta de Chenopodium quinoa puesto que en las raicillas secundarias de esta planta se han observado engrosamientos o pequeñas agallas próximas al ápice de las mismas, más numerosas que las que provocan X. index o X. italiae. El estudio del efecto patogénico está en curso.

El siguiente grupo de nematodos en frecuencia y los que aparecieron en poblaciones más numerosas son los ectoparásitos migratorios del grupo de los Hoploláimidos, géneros Helicotylenchus y Rotylenchus, que se encontraron en el 82 % de las muestras estudiadas y en menor frecuencia Tylenchorhynchus s. l. que de acuerdo con la revisión de TACCONI y MANCINI (1987) son muy frecuentes en suelos de viñedo pero se sabe muy poco sobre su efecto patogénico.

Los ectoparásitos sedentarios del grupo de los "anillados" (Macroposthonia xenoplax) apareció en más de 50 puntos frecuentemente asociado a alteraciones de color (clorosis), falta de vigor y cepas improductivas. También se encontraron aunque con frecuencia muy baja algunos ejemplares del género Paratylenchus, pero tampoco se sabe mucho sobre el efecto de estos nematodos en la sanidad de la planta.

En más de 25 puntos de La Mancha se localizaron focos del endoparásito sedentario Meloidogyne incognita (BELLO et al. 1989) produciendo graves alteraciones en las plantas que llevan a su degeneración y muerte en rodales de gran extensión y que llegan a afectar a todo el viñedo, especialmente en zonas donde se han incorporado sistemas de regadío y en presencia de suelos arenosos.

No se han encontrado semiendoparásitos de los géneros Rotylenchulus ni Tylenchulus semipenetrans, especie que constituye un grave problema en viñedos de Australia (TACCONI y MANCINI, 1987) y a pesar de que en España es muy frecuente, ocasionando problemas de interés económico, en cultivos de cítricos, solamente se ha citado una vez por NAVACERRADA (1975) en seis localidades en Almería, Cádiz, Jaén, Murcia y Valencia en zonas próximas a dichos cultivos.

Pero sin duda los nematodos de mayor importancia desde el punto de vista de nuestro estudio son los ectoparásitos vectores de virus de la familia Longidoridae, y más concretamente las especies Xiphinema index y X. italiae ya que además del daño directo que puedan ocasionar al alimentarse de la planta, son vectores del virus del entrenudo corto comprobados experimentalmente. X. italiae apareció en torno al 24 % de las muestras, si bien solamente en el 18.5 % de las positivas para GFLV, estando en el 5.7 % de los mismos en asociación con X. index, lo cual parece confirmar la teoría de MARTELLI (1978) de su poca efectividad como vector en el campo. Por su parte, X. index solamente se encontró en el 14 % de las muestras estudiadas pero en aproximadamente un 30 % de las positivas, lo que indica su importancia como vector de dicho virus.

Por otro lado, especies como X. rivesi, X. turcicum y X. vuittenezi así como Longidorus vineicola frecuentes en viñedo aparecen en baja frecuencia y no parecen tener importancia para el cultivo en las zonas estudiadas, a pesar de que existe la hipótesis de que X. vuittenezi es el principal vector de GFLV en Alemania y Francia (RUDELL 1971, 1980 y 1985; WEISCHER, 1973 y VUITTENEZ et al., 1972) en zonas donde el virus se transmite a través del suelo en ausencia de las especies vectores comprobadas, X. index y X. italiae, aunque la hipótesis está por confirmar (BERCKS et al., 1977).

Hay que destacar la ausencia en las zonas estudiadas de X. coxi europaeum y X. pseudocoxi frecuentes en Europa (STURHAN, 1985) y que ARIAS et al. (1987) encontraron asociados a viñedos en la Región Central.

La relativamente baja frecuencia en que aparecen estas especies transmisoras de virus en las zonas estudiadas así como el pequeño tamaño de sus poblaciones, nos llevaron a cuestionar los métodos de muestreo y extracción que venimos utilizando o considerar la idea de BELLO et al. (1990) de que en La Mancha existen limitaciones medioambientales que dificultan el desarrollo de plagas, idea que explicaría que en estudios anteriores solamente exista una cita de X. index en viñedo en El Provencio (Cuenca) (ARIAS y NAVACERRADA, 1973).

La comprobación del método de extracción de FLEGG (1977) que se viene utilizando para la extracción de nematodos largos y de gran movilidad, frente al de centrifugación de NOMBELA y BELLO (1989) confirmó que el primero es el más adecuado para la extracción de las especies transmisoras de virus de la familia Longidoridae, ya que con él se consiguió extraer X. index en el 100 % y X. italiae en el 90 % de los casos, el de centrifugación permite la extracción de los estados juveniles, J<sub>1</sub> en X. index y J<sub>1</sub>, J<sub>2</sub>, J<sub>3</sub> en X. italiae al ser de menor tamaño.

Respecto a su distribución X. index aparece disperso en todas las zonas estudiadas excepto en Murcia, siendo la única especie transmisora de virus en los viñedos de Castilla-León, donde se encuentra en el 30 % de las cepas viróticas. Quizás sus factores limitantes son la temperatura y sobre todo la humedad, ya que se encontró en pH desde ácidos en Galicia (5.25) a los alcalinos de la Mancha (8.2), aunque en casi el 90 % de los casos se encuentra en márgenes comprendidos entre pH = 7.4 a pH = 8.2; asimismo

apareció en suelos con texturas desde arenosos a arcillosos aunque suelen encontrarse en las clases texturales Franco-Arenosa y Franco-Arcillosa-Arenosa, lo que indica una gran tolerancia a la textura y pH del suelo, de acuerdo con las observaciones de ARIAS y NAVAS (1986), SCOTTO de La MASSESE *et al.* (1988) y las referencias anteriores recogidas por SIDDIQI (1986), que consideraron su gran tolerancia frente a la textura y pH del suelo a pesar de que se desarrolla mejor en suelos arenosos y limosos que en los arcillosos, tolerancia que por otro lado y de acuerdo con WEISCHER (1975) explica su distribución mundial.

En consecuencia, también se muestra tolerante respecto al contenido en carbonato del suelo. Se encuentra tanto en los suelos de Galicia, sin carbonatos, como en los de La Mancha, con más del 54 %, si bien de los resultados del análisis discriminante se infiere que sus poblaciones aumentan con el contenido de la arena, encontrándose las poblaciones más numerosas en contenidos comprendidos entre 59 % y 70 %, y disminuyen al aumentar el contenido de los carbonatos.

En La Mancha se encuentra disperso en suelos de Cambisol gleico y cálcico, los más frecuentes en la zona de viñedo, y apareció una vez en Luvisol, pero nunca en los restantes suelos de la zona donde existe este cultivo, Solochaks y Vertisoles. A este respecto, hay que considerar que los suelos así tipificados por la FAO, han modificado sus propiedades como consecuencia del laboreo continuado a que han sido sometidos y que los han convertido en antrosoles, por lo que la influencia que puedan tener sobre la fauna edáfica, depende más de sus características texturales, químicas y de hidromorfía que a ninguna otra. Asimismo aparece únicamente en los climas semiárido (D) y de seco subhúmedo (C<sub>1</sub>) de Thornthwaite, gradientes de Im de (-40 a -20) y (-20 a 0) y en zonas con temperaturas medias comprendidas entre 13 y 16 °C. Si bien las

mayores poblaciones aparecen en Socuéllamos asociados a virosis, en un Cambisol con un clima seco subhúmedo (C<sub>1</sub>) y temperatura media de 13 a 15 °C, siendo las poblaciones menores en Ossa de Montiel con un suelo de Luvisol crómico, semiárido (D) y T<sup>a</sup> media de 13 a 14 °C y en Valdepeñas y Daimiel con Im (-40 a -20) y temperaturas comprendidas entre 14 y 16 °C.

Su distribución espacial en estas zonas muestra una vez más la distribución aleatoria y contagiosa de estos nematodos, aparece en zonas en torno a cepas viróticas y a lo largo de todo el perfil, entre 5 y 75 cm a partir de donde comienza la costra caliza de estos suelos en la nunca aparecen nematodos. Sin embargo las mayores concentraciones se hayan en las capas más profundas (30 a 75 cm) en las zonas de máxima densidad de raíces, de acuerdo con las observaciones de WEISCHER (1975) y SCOTTO La MASSESE et al. (1988).

En cuanto al ciclo biológico, en estas zonas parece tener una sola generación al año que va desde marzo a mayo, coincidiendo con las observaciones de ALLEN et al. (1988) y SCOTTO La MASSESE et al. (1988) que comprobaron que en zonas templadas este nematodo tiene una sola generación al año con un ciclo que se completa en 2-3 meses.

X. italiae está, asimismo, disperso en las zonas estudiadas, siendo la única especie transmisora de virus en Murcia y no habiéndose encontrado en Castilla-Leon. Está considerada como una especie de ambientes mediterráneos muy dispersa en Europa Central y Meridional, preferentemente en suelos arenosos, ALPHEY y TAYLOR, 1986; COHN, 1977; HEYNS, 1974; KHAN, 1988; LAMBERTI et al., 1985; NAVAS et al., 1986; estos últimos autores la encuentran asociada a suelos areno-limosos y limo-arenosos con pH ácido (5-5.5). En nuestro estudio aparece en todo tipo de suelos, incluso arcillosos,

con valores de pH desde 4.6 en Galicia a 8.3 en La Mancha, si bien en el 66 % de los casos está en suelos Franco-arenosos y franco-arcillo-arenosos y, en el 96 % de los casos, en pH comprendido entre 7.4 y 8.3. En La Mancha se había citado dos veces asociado a viñedo, en El Provencio (Cuenca) y Quintanar de la Orden (Toledo). En este estudio aparece en Cambisoles y una vez en Luvisol, soportando bien contenidos medios de carbonatos, el 40 % de las veces se ha encontrado, en suelos con contenidos de carbonato entre 40 % y 70 %, mientras que X.index no pasa del 57 % y sólo un 15 % está en suelos con más del 40 %. Respecto a la humedad, X.italiae sólo aparece en el clima (D) Semiárido, no apreciándose diferencias en la zona respecto a la temperatura. Su distribución horizontal se muestra asimismo aleatoria y, aparece generalmete a profundidades superiores a los 50 cm; debido a la existencia de la costra caliza que caracteriza estos suelos.

Al igual que X.index parece tener en la zona una sola generación con un ciclo biológico que se completa entre finales de marzo y finales de mayo, lo que está de acuerdo con los resultados de COHN y MORDECHAI (1970) que comprueban que esta especie completa su ciclo en menos de seis semanas a 28 °C, pero puede tardar más de 12 meses cuando la temperatura es de 24 °C o inferior.

#### IV.3. CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE VIRUS Y NEMATODO VECTOR

La incidencia virus-nematodo vector muestra una gran variabilidad, sin duda, debida a las características que se han señalado anteriormente sobre su distribución aleatoria y contagiosa, a que sus poblaciones son en general poco numerosas excepto el corto periodo en que se completa su ciclo biológico en estas zonas y a su capacidad de alcanzar grandes profundidades en función de la disponibilidad de agua en el suelo.

Así lo reflejan los estudios llevados a cabo en la finca experimental "La Higuera" donde en los muestreos realizados en el verano de 1989 la incidencia entre la presencia del virus y el nematodo vector fué nula, mientras que en el otoño de 1990 la incidencia fué del 58 %, volviendo a ser nula en enero-febrero y encontrándose en marzo.

Del mismo modo en los muestreos de La Mancha en diciembre de 1990 la incidencia encontrada fué pequeña, mientras que en la primavera de 1991, en estudios realizados en los focos positivos de virus, se encontró una incidencia del 100 %. No hay que olvidar que existen estos nematodos en la zona en vides libres de virus.

Por otro lado, hay que tener en cuenta que es suficiente un solo nematodo que se alimente de una planta infectada una sola vez y durante cinco minutos para que adquiriera el virus y esté en disposición de transmitirlo de acuerdo con los estudios de TAYLOR y ROBERTSON (1975) y ALFARO y GOHEEN (1974); asimismo es de interés el hecho de que el nematodo pueda retener la infección y por consiguiente su capacidad infectiva hasta 8 meses en presencia de hospedadores inmunes al virus y varios años si se alimenta de restos de raíces de vid que puedan quedar en el suelo. Esto significa que la implantación de una sola cepa infectada en un suelo donde existe una población pequeña de estos nematodos, asegura la infección del viñedo completo en unos años y por otra parte que tras la erradicación de un viñedo infectado en un suelo con nematodos vectores, la infección puede mantenerse varios años, lo que debe tenerse muy en cuenta antes de la implantación de un nuevo viñedo, máxime con las características de los suelos de La Mancha, donde las raíces del viñedo pueden alcanzar grandes profundidades, incluso por debajo de la costra caliza, al penetrar por grietas o hendiduras de la misma, donde pueden encontrar condiciones adecuadas de humedad para su mantenimiento y el del vector.

De todo ello se desprende que en estudios epidemiológicos de este virus, deben tenerse en cuenta las características de los nematodos vectores y su ciclo biológico de acuerdo con los distintos ambientes de cada zona, para una correcta planificación de los muestreos, que deben repetirse en distintas épocas estacionales antes de considerar épocas estacionales antes de considerar un suelo libre de estos nematodos.

En cuanto a las pruebas de transmisión, se han conseguido llevar a cabo con las dos especies encontradas, X. index y X. italiae, de manera inequívoca de acuerdo con los criterios establecidos por McELROY (1978) y TRUDGILL et al. (1981 y 1983), lo que indica que la asociación virus-vector-planta ha seguido un proceso interactivo paralelo en el desarrollo de sus relaciones específicas de acuerdo con las manifestaciones de BROWN et al. (1988).

Por último, consideramos que conforme se avance en el estudios físico químicos de las interacciones virus-vector y vector-planta, y se conozcan los mecanismos íntimos de la especificidad, se descubrirán nuevas asociaciones y asimismo se encontrarán las soluciones adecuadas que bloqueen dicha especificidad y permitan un control adecuado de la enfermedad.

**V.CONCLUSIONES**

Del análisis y discusión de los resultados y consideraciones recogidas en el mismo hemos obtenido las siguientes conclusiones generales:

1. - El virus de la degeneración infecciosa de la vid aparece disperso en las zonas estudiadas con una incidencia máxima del 12 %, encontrando que por ello la sintomatología no siempre se corresponde con la presencia del virus, pudiendo ser debido a condiciones genéticas, medioambientales o a la acción de otros patógenos. Según esto los diagnósticos visuales y la aplicación del test de plantas sensibles en programas de indexaje y mejora, deben apoyarse con los test serológicos para que sean fiables.
  
2. - Para la obtención de resultados correctos con el método ELISA deben utilizarse como tampones de extracción Tris-HCl o aquellos que contengan nicotina, con la ventaja del primero de no ser tóxico para el operador.
  
3. - Durante el periodo vegetativo de la vid el virus es detectable en cualquier tejido de la planta, siendo las absorbancias obtenidas en hoja en primavera muy superiores a las conseguidas con cualquiera de los otros tejidos. En tallo y raíz los valores son constantes a lo largo del año, no así en hoja, donde decrecen dichos valores según envejece llegando a valores mínimos, esto es de gran importancia para el control sanitario de madera. En raíz joven (blanca), yema y pepita se consiguen valores equiparables a las de hoja joven, pudiendo detectarse el virus también en racimo y fruto (piel, pulpa ó pepita).

4. - La técnica de ELISA DAS y/o ELISA amplificado permite la detección del virus a grandes diluciones en planta, lo que garantiza su eficacia en el testado de plantas agrupadas; con ELISA amplificado se puede detectar el virus en un número mínimo de 5 nematodos.

5. - En estudios ultraestructurales del virus en plantas herbáceas indicadoras revelan la presencia de túbulos que parecen ser acumulaciones pseudocristalinas de cápsidas vacías, presentes en el citoplasma y núcleo de las células, y de las que no se conoce su significado.

6. - La nematofauna de las zonas estudiadas es pobre en número de especies y tamaño de poblaciones, siendo la especie más frecuente X. pachtaicum, que se presenta asociada a virosis pero sin que se haya podido comprobar su papel. El nematodo ectoparásito sedentario Macroposthonia xenoplax aparece asociada a clorosis, falta de vigor y cepas improductivas. Los endoparásitos sedentarios del género Meloidogyne producen graves alteraciones en los viñedos especialmente en suelos arenosos y en regadío de apoyo. No han aparecido semiendoparásitos, Tylenchulus semipenetrans, de gran repercusión económica en viñedos de Australia, y que existen en todas las zonas cítricas españolas, ni X. coxi coxi y X. pseudocoxi frecuentes en viñedos de Centroeuropa y citados anteriormente en la Región Central, por otro lado, las especies transmisoras de virus X. rivesi y X. vuittenezi aparecen en muy baja frecuencia y no parecen tener significado en las zonas estudiadas.

7. - El método de Flegg que venimos utilizando para la extracción de los grandes nematodos es el más adecuado a pesar de que por el de centrifugación pueden extraerse los estados juveniles.

8. - X. index es la especie de mayor interés como vector del GFLV, aparece dispersa en todas las zonas estudiadas excepto en Murcia, mostrándose tolerante a las distintas texturas y pH de los suelos aunque parece preferir los Franco-arenosos y Franco-arcillo-arenosos, así como a los de alto contenido de carbonatos, aunque sus poblaciones decrecen según estos aumentan, por lo que consideramos que su factor limitante es el clima, especialmente el contenido de agua en el suelo. Su distribución espacial es aleatoria y contagiosa y aunque se distribuye en todos los horizontes del perfil, tiende a encontrarse en las capas más profundas. En estas zonas muestra una sola generación al año y su ciclo biológico en clima subhúmedo (C<sub>1</sub>) y a temperaturas medias de 13 a 15 °C se completa en dos meses y medio.

9. - X. italiae apareció en todas las zonas excepto Castilla-Leon, igualmente aparece en todo tipo de texturas y pH, aunque prefiere las Franco-arenosas y Franco-arcillo-arenosas y pH 7.4 a 8.3. También aparece en las capas más profundas y completa su ciclo biológico en menos de 2 meses, teniendo una sola generación al año.

10.- La incidencia virus-vector en los grandes focos de virosis es muy elevada aunque en los muestreos al azar es muy inferior (de 58 % a nula) dependiendo de la época de muestreo, por lo que es conveniente tomar las muestras en las distintas estaciones antes de aventurar diagnósticos en este sentido.

11.- Es imprescindible tener en cuenta la presencia de ambos patógenos (virus-nematodo), puesto que, aún en el caso de que la transmisión del virus se haya producido a través del injerto la existencia de un solo nematodo transmisor de virus en el suelo garantiza la persistencia de la infección.

Por último, dadas las características del cultivo y la relación con el suelo de estas enfermedades, consideramos necesario abordar en un futuro estos problemas desde un punto de vista multidisciplinar y profundizar en el estudio tanto de la morfología de las distintas variedades de vid, su fisiología y requerimientos medioambientales, como las características agroecológicas de los patógenos implicados, mejorando el conocimiento de los mecanismos de transmisión y sobre todo de la especificidad virus-nematodo, de tal modo que se pueda llegar a un control de la enfermedad que sea ecológicamente compatible.

## **VI.BIBLIOGRAFIA**

- ALFARO,A. 1971.Presencia en España del virus del fanleaf de la vid. **An. INIA**, 1: 71-80.
- ALFARO,A. and A.C., GOHEEN. 1974.Transmission of strains of grapevine fanleaf virus by *Xiphinema index*. **Plant Dis. Rep.**, 58: 549-552.
- ALLEN,W.R.; H.F., DIAS and J.G., VAN SCHAGEN. 1982. Susceptibility of grape cultivars and rootstocks to an Ontario isolate of to ringspot virus. **Can.J. Plant Pathol.**, 4: 275-277.
- ALLEN,W.R.; L.W., STOBBS; J.G., VAN SCHAGEN and B.A., EBSARY. 1988.Association of *Xiphinema* species with soil type grapevines infected with tomato ringspot virus in Ontario, Canada. **Plant Dis.**, 72: 861-863.
- ALLISON,L.E. and C.D., MOODIE. 1965. Methods of soil. Analysis. **Amer. Soc. Agron., Part 2**: 1389-1392.
- ALPHEY,T.J.W. and C.E., TAYLOR. 1986. **European Atlas of the Longidoridac and Trichodoridae**. S.C.R.I., 123 pp.
- AMICI,A. 1967. Fluttuazione della popolazione di *Xiphinema index* in una zona viticola italiana. **Riv. Patol. Veg.**, 3: 99-104.
- ARIAS,M.; M.F., ANDRÉS y A., BELLO. 1991. *Xiphinema rivesi* en España, In: **Estudios de Fitopatología**, editado por Sociedad Española de Fitopatología, 1: 154-159.
- ARIAS,M.; M.F., ANDRÉS and A., NAVAS. 1986. *Longidorus carpetanensis* sp.n. and *L. unedoi* sp.n. from Spain. **Revue Nématol.**, 9: 101-106.
- ARIAS,M. and G., NAVACERRADA. 1973. *Xiphinema* species on spanish vineyards. **Nematol. Medit.**, 1: 28-35.
- ARIAS,M.; A.,NAVAS and M.F.,ANDRÉS. 1987. Studies on morphometrics, distribution and ecology of the *Xiphinema coxi* complex in Spain. **Revue Nématol.**, 10: 377-380.
- ARIAS,M.; A.,NAVAS y A.,BELLO. 1985. Nematodos ectoparasitos y transmisores de virus de la familia Logidoridae. Su distribución en España continental. **Bol. Ser. Plagas**, 11: 275-337.
- ARIAS,M.; A.,NAVAS and A.,BELLO. 1986. Analysis of the geographical distribution of *Xiphinema diversicaudatum* and *X.pachtaitum* in relation to environmental factors in Spain. **Nematol. medit.**, 14.: 7-13.
- AYUSO,P. and A.,PEÑA-IGLESIAS. 1973. Further research on the detection of grapevine viruses in Spain. **Rev. Pat. Veg.**, IX-IV: 28-34.

- BARBARA,D.J. and M.F., CLARK. 1982. A simple indirect ELISA using F(ab')<sub>2</sub> fragments of immunoglobulin. **I.Gen.Virol.**, 58: 315-322.
- BARBARA,D.J.; M.F., CLARK y J.M., THRESH. 1978. Rapid detection and serotyping of prunus necrotic ringspot virus in perennial crops by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. **Ann.Appl.Biol.**, 90: 395-399.
- BELLO,A.; J.L., CENIS y J., FRESNO. 1989. Nematodos formadores de nódulos (*Meloidogyne* spp.) y su relación con el manejo de suelos en ambientes de clima Mediterráneo continental. **Resúmenes de la reunión anual de la SEF.**, 4 p.
- BELLO,A.; J., TELLO; A., NAVAS; R., LAGUNA y R., MECO. 1990. Caracterización de los problemas fitopatológicos de origen edáfico en Castilla-La Mancha. Su interés en una ordenación fitosanitaria. **Cuad. Fitopatol.**, 26: 248-254.
- BERKS,R.; H., BRÜCKBAUER; G., QUERFURTH and M.,RÜDEL. 1977. Untersuchungen über die Viruskrankheiten der Rebe unter besonderer Berücksichtigung "atypischer Formen" der Reisigkrankheit. **Wein. Kell.**, 24: 133-180.
- BORJA,M.J. and F., PONZ. 1991. An appraisal of different methods for the detection of the walnut strain of cherry leafroll virus. **J. Virol. Methods**, (en prensa).
- BOUQUET,A. 1983. Détection immunoenzymatique du virus du court-noué de la vigne dans son vecteur *Xiphinema index*. Thorne et Allen. **Compt. Rend. Seàn. l'Acad. Sc.**, 296. Sér III: 271-273.
- BOVEY,R. 1973. Importance économique des viroses de la vigne. **Bull O.I.V.**, 468: 124-128.
- BOVEY,R. 1980. Control of virus and virus-like diseases of grapevine: Sanitary selection and certification, heat therapy, soil fumigation and performance of virus-tested material. **Proc. 7th Intern. Conf. Viruses and Vectors of grapevines**, 299-309.
- BOVEY,R.; W., GARTEL; W.M., HEWITT; G.L., MARTELLI et A., A., VUITTENEZ. 1980. **Maladies à virus et affections similaires de la vigne**. Edit. Payot Lausanne. 183 pp.
- BRANAS,J. 1948. Etude et discussion sur le Court-noué. 26 **Ses. Com. l'O.I.V. Bull. O.I.V.**, 203: 4-87.
- BROWN,D.J.F. 1986. Reproduction and inter-breeding within and between populations of *Xiphinema diversicaudatum* (Nematoda: Dorylaimoidea). **Nématol. medit.**, 14: 73-82.
- BROWN,D.J.F. y C.E.,TAYLOR. 1981. Variazioni nella trasmissione di virus tra popolazioni di nematodi vettori Longidoridae. **Atti. Soc. Ital. Nematol.**, Giornate Nematol., Firenze 28-29 novembre, 1979. 191-204.

- BROWN,D.J.F. and A.C.TAYLOR. 1987. Comments on the occurrence and geographical distribution of longidorid nematodes in Europe and the Mediterranean region. **Nematol. medit.**, 15: 333-373.
- BROWN,D.J.F. and P.,TOPHAM. 1985. Morphometric variability between populations of *Xiphinema diversicaudatum* (Nematoda: Dorylaimoidea). **Revue Nématol.**, 8: 15-26.
- BROWN,D.J.F. and D.L.,TRUDGILL. 1983. Differential transmissibility of arabis mosaic and strains of strawberry latent ringspot viruses by three populations of *Xiphinema diversicaudatum* from Scotland, Italy and France. **Revue Nématol.**, 6: 229-238.
- BROWN,D.J.F.; A.F.,MURANT and D.L.,TRUDGILL. 1989. Differences between isolates of the English serotype of tomato black ring virus in their transmissibility by an English population of *Longidorus attenuatus* (Nematoda:Dorylaimoidea). **Revue Nématol.**, 12: 51-56.
- BROWN,D.J.F.; F.,LAMBERTI; C.E.,TAYLOR and D.L.,TRUDGILL. 1988. Nematode-virus plant interactions. **Nemat. medit.**, 16: 153-158.
- CADMAN,C.H. 1956. Studies on the etiology and mode of spread of Scottish raspberry leaf curl disease. **J. Hortic. Sci.**, 31: 111-118.
- CADMAN,C.H.; H.F.,DIAS y B.D.,HARRISON. 1960. Sap-transmissible viruses associated with diseases of grapevines in Europe and North America. **Nature**, 187: 577-579.
- CAMARGO DE PARADA,L. 1973. Las ciencias cartográficas y el ordenador. **Bol. Inform. Serv.**, 21: 25-46.
- CATALANO,L.; R.,ROCA y M.,CASTELLANO. 1989. Efficiency of transmission of an isolate of grapevine fanleaf virus (GFV) by three population of *Xiphinema index*. **Nematol. medit**, 17: 13-15.
- CHAMBERS,T.C.; R.I.B.,FRANCKI and J.W.,RANDLES. 1965. The fine structure of *Gladiolus virus*. **Virology**, 25: 15-21.
- CHU,P.W.G.and R.I.P.,FRANCKI. 1979. The chemical subunit of Tobacco Ringspot virus coat proteins. **Virology**, 93: 398-412.
- CHU,P.W.G.; G.,BOCCARDO and R.I.B.,FRANCKI. 1981. Requirement of a genome-associated protein of tobacco ringspot virus for infectivity but not for in vitro translation. **Virology**, 109: 428-430.
- CHU,P.W.G.; P.M.,WATERHOUSE; R.R.,MARTIN and W.L.,GERLACH. 1989. New approaches to the detection of microbial plant pathogens. **Biotechn. Gen. Eng. Rev.**, Vol. 7: 45-110.
- CLARK,M.F. 1981. Immunosorbent Assays in plant pathology. **Ann. Rev. Phytopatol**, 19: 83-106.

- CLARK, M.F. y A.N., ADAMS. 1977. Characteristics of the microplate method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.*, **34**: 475-483.
- COHN, E. 1977. *Xiphinema italiae*. *C.I.H. Desc. Plants parasit. Nemat. Sect. 7*, N<sup>o</sup>95: 3 pp.
- COHN, E. and M., MORDECHAI. 1969. Investigations on the life cycles and host preference of some species of *Xiphinema* and *Longidorus* under controlled conditions. *Nematologica*, **15**: 295-302.
- COHN, E. and M., MORDECHAI. 1970. The influence of some environmental and cultural conditions on rearing populations of *Xiphinema* and *Longidorus*. *Nematologica*, **16**: 85-93.
- COHN, E.; E., TANNE and F., NITZANY. 1970. *Xiphinema italiae*, a new vector of grapevine fanleaf virus. *Phytopathol.*, **60**: 181-182.
- COIRO, M.I. 1980. Influenza di alcuni fattori ambientali sulla riproduzione di *Xiphinema index* Thorne et Allen. *Att. G. Nematol.*, Octubre: 75-79.
- COIRO, M.I. and A. AGOSTINELLI. 1991. The development of juvenile stages of *Xiphinema index* (Nematoda: Dorylaimida) on *Vitis vinifera*. *Revue nématol.* **14**: 181-182.
- COIRO, M.I. y F. LAMBERTI. 1978. Reproduction of *Xiphinema index* under different environmental conditions. *Monogr. INIA*, **18**: 255-257.
- COIRO, M.I.; C.E. TAYLOR y F. LAMBERTI. 1987. Population changes in *Xiphinema index* in relation to host plant, soil type and temperature in southern Italy. *Nematol. mediterr.*, **15**: 173-181.
- CONVERSE, R.H. 1979. Recommended virus indexing procedures for new USDA small fruits and grape cultivars. *Plant Dis. rep.*, **63**: 848-851.
- COOMANS, A. 1984/1985. A phylogenetic approach to the classification of the Longidoridae (Nematoda Dorylaimida). *Agr., Ecosyst. Envir.*, **12**: 335-354.
- CORY, L. y V.B. HEWITT. 1968. Some grapevine viruses in pollen and seed. *Phytopathol.*, **58**: 1316-1320.
- DALMASSO, A. 1969. Etude anatomique et taxonomique des genres *Xiphinema*, *Longidorus* et *Paralongidorus*. *Mem. Mus. Hist. nat; Ser. A Zool.*, **61**: 33-82.
- DALMASSO, A. 1970. Influence directe de quelques facteurs ecologiques sur l'activité biologique et la distribution des especes francaises de la famille des Longidoridae. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, **2**: 163-200.
- DAS, S. y D.J. RAS KI. 1968. Vector efficiency of *Xiphinema index* in the transmission of grapevine fanleaf virus. *Nematologica*, **14**: 55-62.

- DIAS,H.F. 1963. Host range and properties of grapevine fanleaf and grapevine yellow mosaic viruses. **Ann. appl. Biol.**, 51: 85-95.
- DIAS,H.F. 1970. Grapevine yellow mosaic. In: **Virus diseases of small fruits and grapevines**. University of California division of agricultural sciences..Berkeley, California. 228-230 pp.
- DIAS,H.F. 1975. Peach rosette mosaic virus. **C.M.I./A.A.B. Description of plant viruses**, 150: 4pp.
- DIAS,H.F. y B.D.HARRISON. 1963. The relationship between grapevine fanleaf, grapevine yellow mosaic and arabis mosaic viruses. **Ann. Appl. Biol.**, 51: 97-105.
- DIAZ-YUBERO,F. y P.ESTEBAN. 1973. Identificación visual de síntomas de virosis en viñedos de Rioja. IV Jornadas de estudio AIDA y Observación de síntomas de virosis en viñedos de Rioja. **Agricultura**, 500: 773-779.
- DONOVAN,R.M.; C.E.BUSH; W.R.PETERSON; L.H.PARKER; S.H.COHEN; G.W.JORDAN; K.M.V.BRINK and E.GOLDSTEIN. 1987. Comparison of non-radioactive DNA hybridization probes to detect human immunodeficiency virus nucleic acid. **Mol. Ccl.Probes**, 1: 359-366.
- EBSARY,B.A.; J.W.POTTER y W.A.ALLEN. 1984. Redescription and distribution of *Xiphinema rivesi* Dalmasso,1969, and *Xiphinema americanum* Cobb, 1913 in Canada with description of *Xiphinema occiduum* n.sp.**Can. J. Zool.**, 62: 1696-1702.
- ENGELBRECHT,D.J. 1980. Application of the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay procedure to the detection of grapevine fanleaf virus. **S. Afr. J. Enol. Vitic.**, 1: 103-106.
- FAO-UNESCO, 1985. **Soil map of the European Comm.**(1/1.000.000).
- FERNANDEZ DE BOBADILLA,G. 1948. Dégénérescence infectieuse de la vigne. **Siembra**, 4.
- FERNANDEZ DE BOBADILLA,G. 1950. Opinions et hypotheses sur les dégénérescences infectieuses du vignoble. **Siembra**, 1.
- FIJO,M.A. Y M.ARIAS. 1976. La dégénérescence infectieuse dans les vignobles de Jerez. **Agr. consp. sc.**, 28: 73-79.
- FLEGG,J.J.M. 1966. Once-yearly reproduction in *Xiphinema* and *Longidorus* species in Southeastern England. **Nematologica**, 14: 197-210.
- FLEGG,J.J.M. 1967. Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting and sieving technique. **Ann. appl. Biol.**, 60: 429-437.
- FONT TULLOT,I. 1983. Climatología de España y Portugal. **Inst. N. Meteorol.** 296 pp.

- FORER,L.B.; N.S.HILL y C.A.POWELL. 1981. *Xiphinema rivesi* a new tomato ringspot virus vector. **Phytopathol.**, 78: 874.
- FORER,L.B. y STOUFFER. 1982. *Xiphinema* spp. associated with tomato ringspot virus infection of Pennsylvania fruit crops. **PL Dis.**, 66: 735-736.
- FRESNO,J.; A.PEÑA-IGLESIAS; S.CASTRO y M.C.REY. 1978. Ultrastructure of *Chenopodium quinoa* and *Cucumis sativus* infected by grapevine fanleaf virus preliminary treatment to eliminate ribosomes. **Monogr. INIA**, 18: 97-101.
- FRIZTSCHKE. 1964. Untersuchungen über die Virusübertragung durch Nematoden. **Wiss. Z. Univ. Rostock**, 13: 343-347.
- FRIZTSCHKE y KEGLER. 1964. Die Übertragung des Blattrollvirus der Kirsche (cherry leaf-roll virus) durch Nematoden. **Naturwiss.**, 51: 299.
- FRIZTSCHKE y KEGLER. 1968. Nematoden als Vektoren von Viruskrankheiten der Obstgewächse. **TagBer. dt. Akad. Landw.**, 97: 289-295.
- FUCHS,M; M.PINCK; L.ETIENNE; L.PINCK and B.WALTER. 1991. Characterization and detection of grapevine fanleaf virus by using cDNA probes. **Phytopathol.**, 81: 559-565.
- FULTON,J.P. 1962. Transmission of tobacco ringspot virus by *Xiphinema americanum*. **Phytopathol.**, 52: 375.
- GARCIA DE LUJAN GIL DE BERNABE,A. 1975. El enrollado de la vid en la zona del jerez. **An. INIA Protec. Veg.**, nº5: 81-110.
- GARCIA DE LUJAN GIL DE BERNABE,A. 1976. La degeneración infecciosa y las enfermedades de virus de la viña en la zona del jerez. **Comunicaciones INIA**, nº6: 225pp.
- GARCIA LOZANO,F. y F.GONZALEZ BERNALDEZ. 1963. Metodos para análisis de las propiedades físicas del suelo. **Centro de Est. Hidrogr. MOP**. 42pp.
- GEORGI,L.L. 1988. Morphological variation in *Xiphinema* spp. from New York orchards. **J. Nematol.**, 20: 617-619.
- GEROLA,F.M.; M.BASSI and G.BELLI. 1969. An electron microscope study of different plants infected with grapevine fanleaf virus. **G. bot. Ital.**, 103: 271-290.
- GEROLA,F.M.; M.BASSI and M.BETTO. 1965. Some observations on the shape and localizaton of different viruses in experimentally infected plants and on the fine structure of the host cells. *Arabis mosaics virus* in *Chenopodium amaranticolor*. **Caryologie**, 18: 353-375.
- GIUNCHEDI,L. e R.TACCONI. 1974. Deperimento di peschi in rapporto alla virosi "buterature" del legno. **Inform. Fitopatol.**, 24: 5-8.

- GOHEEN, A.C. 1988. Diseases caused by viruses and viruslike agents, in: *Compendium of grape diseases*, edited by APS Press: 47-48.
- GOHEEN, A.C. y W.B. HEWITT. 1962. Veinbanding, a new virus disease of grapevines. *Am. J. Enol. Vitic.*, 13: 73-77.
- GOLINO, D.; P. VERDEGAL, A. ROWHANI and A. WALKER. "Grapevine Nepoviruses" in San Joaquin Country. *California Agric.* (en prensa).
- GONSALVES, D. 1979. Detection of tomato ringspot virus in grapevines. A comparison of *Chenopodium quinoa* and Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Plant Dis. rep.*, 63: 962-965.
- GONSALVES, D. 1988. Tomato ringspot virus decline. In: *Compendium of grape diseases*, edited by R.C. Pearson and A.C. Goheen. APS Press. 93 pp.
- GONZALEZ REBOLLAR, J.L. 1983. El clima y la vegetación forestal de la España Peninsular. Aproximación a un modelo dinámico de Fitoclima. *Tesis doctoral*, ETSM. U.P.M.: 325 pp.
- GRIESBACH, J.A. y A.R. MAGGENTI. 1990. The morphometrics of *Xiphinema americanum* sensu lato in California. *Revue Nématol.* 1: 93-103.
- GUGERLI, B.; B. ROSCIGLIONE; J.J. BRUGGER; S. BONNARD; M.E. RAMEL and F. TREMEA. 1990. Further characterization of grapevine leafroll disease. (Abst.) *10th Meet. ICVG*, 6.
- GUZMAN, J.C. 1970. Enquête sur le court-noué dans la Rioja. *Le Prog. Agric. et Vitic.* n° 20.
- HARRIS, A.R. 1979. Seasonal populations of *Xiphinema* index in vineyard soils of Northeastern Victoria, Australia. *Nematologica*, 25: 336-347.
- HARRISON, B.D. 1962. In: *Plant Pathology Department.*, Rep. Rothamsted exp. Stn. for 1961: 105.
- HARRISON, B.D. 1964. Specific nematode vectors for serologically distinctive forms of raspberry ringspot and tomato black ring viruses. *Virology*, 22: 544-550.
- HARRISON, B.D.; W.P. MOWAT and C.E. TAYLOR. 1961. Transmission of a strain of tomato black ring virus by *Longidorus elongatus*. *Virology*, 14: 480-485.
- HELLEN, C.U.T. and J.I. COOPER. 1987. The genome-linked protein of cherry leaf roll virus. *J. Gen. Virol.* 68: 2913-2917.
- HEWITT, V.B. 1950. Fanleaf-another virus disease found in California. *Clif. Dept. Agr. Bull.*, 3: 62-63.
- HEWITT, V.B. 1956. Fanleaf virus of grapevines is soil-borne. (Abstract) *Phytopathol.*, 48: 586-593.

- HEWITT,V.B. 1968. Viruses and virus diseases of grapevine. **Rev. Appl. Mycol**,47: 433-455.
- HEWITT,V.B. 1970. Virus and viruslike diseases of the grapevine. **In: Virus diseases of small fruits and grapevines**(Ed:N.W.Frazier) University of California Division of Agricultural Sciences, Berkeley. 195-196.
- HEWITT,V.B. and L.CORY. 1965. Mechanical inoculation of grape yellow mosaic virus from grape to dark-grown light-treated grape. **Proc. Int. Conf. on virus and vector on perennial hosts, with special reference to Vitis**. 322-325.
- HEWITT,V.B.; D.J.RASKI and A.C.GOHEEN. 1958. Nematode vector of soil-borne fan leaf virus of grapevines. **Phytopathol.**, 48: 586-595.
- HEWITT,V.B.; G.MARTELLI; H.F.DIAS and R.H.DIAS. 1970. Grapevine fanleaf virus. **C.M.I./A.A.B. Descriptions of plant viruses**, N°28: 4p.
- HEYNS,J. 1974. The genus Xiphinema in South Africa.II.X. elongatum group. **Phytophylactica**, 6: 249-260.
- HONDA,Y. and C.MATSUI. 1972. Degeneration of ribosomes and preservation of spherical virus particles in leaves incubated on phosphate buffer. **Ann. Phytopathol. Soc. Japan**, 38: 224.
- HONDA,Y. and C.MATSUI. 1974. Electron microscopy of Cucumber Mosaic symptoms. **Phytopathol.**, 64: 534-539.
- HOOPER,D.J., and J.F.,SOUTHEY. 1973. The Longidoridae. **Worksh. Assoc appl. Biol.**, Harpenden, UK: Rothamsted. Exp. Stat., 3-10.
- HULL,R. 1984. Rapid diagnosis of plant virus infections by spot hybridization. **TIBS**, 4: 88-91.
- HUSS,B.; B.WALTER; L.ETIENNE and H.V.VAN REGENMORTEL. 1986. Grapevine fanleaf virus detection in various grapevine organs using polyclonal and monoclonal antibodies. **Vitis.**; 178-188.
- JHA,A. and A.F.POSNETTE. 1959. Transmission of a virus to strawberry plants by a nematode(Xiphinema sp.). **Nature**, 184: 962-963.
- JIMENEZ,F and A.C.GOHEEN. 1980. The use of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detection of grape fanleaf virus. **Proc. 7th meeting of the intl. Council for the study of viruses and virus like Diseases of the grapevine, Niagara falls**. 283-291.
- JIMENEZ-MILLAN,F. 1962. Estudio de las especies transmisoras de virus vegetales: Criconemoides xenoplax Rasky y Xiphinema index Th., nuevas en los viñedos españoles. **Rev. Iber. Parasitol.**, 22: 305-318.
- JONES,A.T. et al 1973. Ultrastructural changes in differentiated leaf cells infected with cherry leaf Roll Virus. **J. Gral Virol.**, 18: 61-64.

- KHAN, F.A. 1988. A preliminary report on plant parasite nematodes associated with grapevine in Northern Nigeria. **International Network Newsletter**, 5: 45-47.
- KLOS, E.J.; F.FRONEK; J.A.KNIERIM and D.CATION. 1967. Peach rosette mosaic transmission and control studies. **Q. Bull. Mich. St. Univ. agric. Exn. Stn.**, 49: 287-293.
- KOENING, R. and H.L., RAUL. 1982. Variants of ELISA in plant virus diagnosis. **J. Virol. Methods**, 5: 113-125.
- LAMBERTI, F. and T.BLEVE-ZACHEO. 1979. Studies on *Xiphinema americanum* s.l. with descriptions of fifteen new species (Nematoda, Longidoridae). **Nematol. Medit.**, 7: 51-106.
- LAMBERTI, F. and M.R.SIDDIQI. 1977. *Xiphinema pachtaicum* (= *X. mediterraneum*) C.I.H. **descript. Plant parasitic nemat.**, 94: 3pp.
- LAMBERTI, F.; C.E.TAYLOR and J.W.SEINHORST. 1985. **Nematode vectors of plant viruses**, London: Plenum Press. 460 pp.
- LAZARO, R. y J.M.REY. 1990. Sobre el clima de la provincia de Almería (S.E. Iberico): Primer ensayo de cartografía automática de medidas anuales de temperatura y precipitación. **Suelo y planta**: 61-68.
- LEHMANN, H. Y U.WYSS. 1978. The ultrastructure of modified root-tip cells induced by the feeding of an ectoparasitic nematode. In: **Electron microscopy 1978, vol.II**, Edited by J.M.Sturges.
- LIMA, M.B. 1965. Studies on species of the genus *Xiphinema* and other nematodes. **Ph. D. Thesis Univ. London**, 165 pp.
- LIMA, M.B. 1968. A numerical approach to the *Xiphinema americanum* complex. **Compt. Rend. VIII Symp. Int. Nematol. Antibes**, 1965, France, E.J. Brill, Leiden, Holland, 30 p.
- LISTER, R.M. 1964. Strawberry latent ringspot: a new nematode-borne virus. **Ann. appl. Biol.**, 7: 167-176.
- LISTER, R.M. 1978. Application of the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detecting viruses in soybean seed and plants. **Phytopathol.**, 68: 1393-1400.
- McELROY, F.P. 1978. Nematodes as vectors of plant viruses. A current review. **Proc. Am. Phytopathol. Soc.**, 4: 1-10.
- MAPA, 1986. **Mapa de cultivos y aprovechamiento agrícola**. (1/200.000).
- M.A.P.A., 1988. **Anuario estadístico de la Producción Agraria**. 660 pp.
- MARCILLA ARRAZOLA, J. 1942. Tratado práctico de viticultura y enología españolas. 3ª edición, 1968. Sociedad Anónima Española de Traductores y Autores. Madrid. **Tomo 1º**: 313-316.

- MARTELLI, G.P. 1978. Nematode-borne viruses of grapevine. In: **Plant disease epidemiology**, ed.: Scott P.R. & Brainbridge A. 275.
- MARTELLI, G.P. and W.B. HEWITT. 1963. Purification and serology of Italian strains of grape fanleaf virus. **Phytopathol. medit.**, 2: 285-294.
- MARTELLI, G.P. and A. QUACQUARELLI. 1972. Hungarian chrome mosaic of grapevine and tomato black ring: two similar but unrelated plant viruses. **Ann. Phytop. n° hors serie**; 123-141.
- MARTELLI, G.P. and V. SAVINO. 1988. Fanleaf degeneration. In: **Compendium of Grape diseases**, edited by R.C. Pearson and A.C. Goheen, APS Press: 48-49.
- MARTELLI, G.P.; J. LEHOCZKY and A. QUACQUARELLI. 1965. Host range properties of a virus associated with Hungarian grapevines showing macroscopic symptoms of fanleaf and yellow mosaic. **Proc. Inter. Conf. virus vector perenn. Hosts vitis, Davis 1965**. 389-401.
- MARTELLI, G.P. et al. 1970. Hungarian chrome mosaic. In: **Virus diseases of small fruits and grapevines (a handbook)**. Div. Agricult. Sci. U.C. Berkeley: 236-237.
- MARTELLI, G.P., D. GALLITELLI, P. ABRACHEVA, V. SAVINO and A. QUACQUARELLI. 1977. Some properties of grapevine Bulgarian latent virus. **Ann. appl. Biol.**, 85: 51-58.
- MATHEWS, 1991. **Plant virology**. Third edition. Academic Press. 935 pp.
- MAYO, M.A. 1982. Specificity and properties of the genome-linked proteins of nepoviruses. **J. Gen. Virol.**, 59: 149-162.
- MAYO, M.A.; H. BARKER and B.D. HARRISON. 1979. Polyadenilate in the RNA of five nepoviruses. **J. Gen. Virol.**, 43: 603-610.
- MAYO, M.A.; A.F. MURANT and B.D. HARRISON. 1971. New evidence on the structure of nepoviruses. **J. Gen. Virol.**, 12: 175-178.
- MENDOÇA, A. de; A. de SEQUEIRA; M. MOTA; A.N. PEREIRA and V. SIMOES. 1980. Applicability of immunosorbent electron microscopy (ISEM) for the detection and identification of CM 112 virus in grapevine. Estação Agronómica Nacional, Oeiras, Portugal. In: **Proc. 7th meeting Int. Council. study of viruses and virus-like Dis. of the Grapevine by A.J. McGinnis**. Niagara falls. 245-249.
- MONTERO DE BURGOS y GONZALEZ REBOLLAR. 1989. Diagramas bioclimáticos, 2ª edición Ed. ICONA. España. 380 pp.
- MURANT, A.F. 1970. The importance of wild plants in the ecology of nematode transmitted plant viruses. **Outlook Agric.**, 6: 114-121.
- MURANT, A.F. 1974. Strawberry latent ringspot virus. **CMI/AAB Descr. Plants Viruses. N°126**: 4pp.

- MURANT,A.F. 1978. Raspberry ringspot virus. **C.M.I./A.A.B. Descr. Plant Viruses**, N°198. 4 pp.
- NAVACERRADA,G. 1975. Nematodos asociados a los viñedos españoles. **Bol. R. Soc. Esp. Hist. Nat.**, 73: 47-56.
- NAVAS,A; M.ARIAS. 1986. On the distribution and ecology of *Xiphinema index* and *Xiphinema italiae* in Spain. **Nemat. medit.**, 14: 207-215
- NAVAS,A; M.ARIAS and A.BELLO. 1988. Ecology and potential distribution of *Xiphinema diversicaudatum* and *X. pachtaicum* in Continental Spain. **An. I.N.I.A., Protección Vegetal**, 1: 115-137.
- NOLASCO,G.N.B. 1982. A diagnose rápida do vírus do urticado (no curto) da videira pelo teste ELISA. **Relatório de actividade do Aluno estagiário do curso de Agronomia, Universidad Técnica de Lisboa**. 51 pp.
- NOMBELA,G. y A.BELLO. 1983. Modificaciones al método de extracción de nematodos fitoparásitos por centrifugación en azúcar. **Bol. Serv. Plagas**, 9: 183-189.
- NYLAND,G.; B.F.LOWNSBERY; S.KLOWE and J.F.MITCHELL. 1969. The transmission of cherry raspberry leaf virus by *Xiphinema americanum*. **Phytopathol.**, 59: 1111-1112.
- OLIVER MOSCARDO,S. y A.GIL CRIADO. 1985. Calculo de ETP y de diversos índices climáticos mediante ordenador. In: **Avances sobre la investigación en bioclimatología**. Centro de edaf. de Salamanca. 36 pp.
- PADILLA,V. 1989. **El síndrome de las maderas rizadas**. Tesis doctoral, Univ. Polit. Madrid: 149 pp.
- PADILLA,V. y A.MARTINEZ. 1986. Virosis. En: **Los parásitos de la vid, estrategia de lucha**. Ed. M.A.P.A. 201-214 pp.
- PADILLA,V.; F.BENAYAS and I.HITA. 1990. Producción y calidad en cultivares de uva de mesa afectados por virosis. **Reunion anual de la SEF**, Sept. 90: 16.
- PEÑA-IGLESIAS,A. 1972. La selección sanitaria de la vid en España. **II Jornadas técnicas de la Rioja. Vid y vino. Haro. Logroño**. 166-177.
- PEÑA-IGLESIAS,A. 1989. Virus and transmissible diseases of the grapevine. In: **Plant protection problems and prospects of integrated control in viticulture**. Ed.: R. Cavalloro. 459-470.
- PEÑA-IGLESIAS,A. and P.AYUSO. 1971. Identification of strains grapevine fanleaf virus as the cause of three grapevine diseases in Spain. **An. I.N.I.A., Protección Vegetal**, 1: 115-137.

- PEÑA-IGLESIAS, A. y M. RUBIO-HUERTOS. 1971. Ultraestructura de las hojas de *Chenopodium quinoa* Wild infectadas con el virus entrenudo corto infeccioso de las vid. **Microbiol. Esp.**, 32: 429-440.
- PEÑA-IGLESIAS, A.; F. CASTRO; J. FRESNO y G. CARAZO. 1978. Ultrastructure of herbaceous plants infected by various nepoviruses. **Monografías INIA**, 18: 103-108.
- PEREZ CAMACHO, F. 1981. Importancia y distribución de enfermedades de etiología supuestamente viral, en viñedos de la zona de denominación de origen "Montilla-Moriles". **An. INIA/ Ser. Agric./N. 15**: 151-156.
- PINCK, L.; M. FUCHS; M. PINCK; M. RAVELONANDRO and B. WALTER. 1988. A Satellite RNA in Grapevine fanleaf virus strain F13. **J. gen. Virol.** 69: 233-239.
- PINOCHET, J. y J. BERGUA. 1983. Reconocimiento de Nematodos Fitoparásitos asociados al cultivo de la vid en Cariñena y su posible importancia económica. **ITEA**, 50: 39-42.
- PINOCHET, J. and T. CISNEROS. 1986. Seasonal fluctuations of nematode populations in three Spanish vineyards. **Revue de Nematol.**, 9: 391-398.
- PROTA, U.; R. GARAU. 1973. Indagini sulla biologia di *Xiphinema index* Thorne et Allen in vigneti sardi. **Nematol. mediterr.**, 1: 36-54.
- PROVEDO, J. y J. L. FERNANDEZ-SEVILLA. 1973. Planteamiento del problema de las virosis de la vid a nivel regional. **IV Jornadas de estudio AIDA**.
- PUTZ, C. et G. STOCKY. 1970. Premières observations sur une souche de Strawberry latent ringspot virus transmise par *Xiphinema coxi* Tarjan et associée à une maladie du framboisier en Alsace. **Ann. Phytopatol.**, 2: 329-347.
- QUACQUARELLI, A.; D. GALLITELLI; V. SAVINO and G. P. MARTELLI. 1976. Properties of grapevine fanleaf virus. **J. Gen. Virol.** 32: 349-360.
- RADEWALD, J. D. and D. J. RASKI. 1962. A study of the life cycle of *Xiphinema index*. **Phytopatol.**, 52: 748.
- RAMSDELL, D. C. and R. L. MYERS. 1974. Peach and rosette mosaic virus symptomatology and nematode associated with grapevine degeneration in Michigan. **Phytopatol.**, 64: 1174-1178.
- RAMSDELL, D. C.; R. W. ANDREWS; J. W. GILLET and C. E. MORRIS. 1979. A comparison between enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and *Chenopodium quinoa* for detection of peach rosette mosaic virus in Concord grapevines. **Plant Dis. Rep.**, 63: 74-78.
- RANA, G. L. e F. ROCA. 1975. Transmissione con nematodi del virus "latente italiano del carciofo" (AILV). **Atti II Congr. Intern. Carciofo, Bari, nov.**: 855-858

- RAS KI, D.J. and Wm.B. HEWITT. 1963. Plant parasit Nematodes as vectors of plant viruses. **Phytopathol.**, 53: 39-47.
- RAS KI, D.J.; Wm.B. HEWITT; A.C. GOHEEN; C.E. TAYLOR and R.H. TAYLOR. 1965. Survival of *Xiphinema index* and reservoirs of fanleaf virus in fallowed vineyard soils. **Nematologica**, 11: 349-352.
- RAS KI, D.J.; R.V. SCHMITT; D.A. LUVISI and J.J. KISSLER. 1973. 1,3-D and methyl bromide for control of root-knot and other nematodes in vineyard replants. **Plant Dis. Rep.** 57: 619-623.
- RAU, J. 1975. Das vorkommen virusübertragender Nematoden in imgestörten Biotopen Niedersachsens. **Diss. Techn. Univ. Hannover**: 1-169.
- REUDEL, M. 1971. Vorkommen einiger Arten der Gattung *Xiphinema* in Pfalz und Rheinhessen. **Wein. Kell.**, 18: 505-520.
- REY, J.M. 1984. Cartografía automática de especies y el sistema CUTM. **Fontqueria**, 6: 21-32.
- REY, J.M. 1988. Aproximación al cartografiado automático de datos climáticos. **An. Edaf. Agrobiol.**, 47: 1585-1605.
- REY, J.M.; J.L. GONZALEZ REBOLLAR y A.BELLO. 1983. Estudio de la distribución de los nematodos parásitos de plantas por métodos automáticos en España. **Proc. II Congr. Nac. Fitopatol. Victoria**: 345-352.
- REZAIAN, M.A. and R.I.B. FRANCKI. 1974. Differences in nucleotide sequences between the viral RNA components. **Virology**, 59: 275-280.
- REZAIAN, M.A.; R.I.B. FRANCKI; P.W.G. CHU and T. HATTA. 1976. Replication of tobacco ringspot virus III. Site of virus synthesis in Cucumber cotyledon cells. **Virology**, 74: 481-488.
- ROBERTS, I.M. 1988. The structure of particles of tobacco ringspot nepovirus: evidence from electron microscopy. **J. Gen. Virol.**, 69: 1831-1840.
- ROBERTS, I.M. and D.J.F. BROWN. 1980. Detection of six nepoviruses in their vectors by immunosorbent electron microscopy. **Ann. appl. Biol.**, 96: 187-192.
- ROBERTS, I.M. and B.D. HARRISON. 1970. Inclusion bodies and tubular structures in *Chenopodium amaranticolor* plants infected with strawberry latent ringspot virus. **J. gen. Virol.**, 7: 47-54.
- ROBERTSON, W.M. and C.E. HENRY. 1986. An association of carbohydrates with particles of arabis virus retained within *Xiphinema diversicaudatum*. **Ann. appl. Biol.**, 109: 299-305.
- ROGGEN, D.R. 1966. On the morphology of *Xiphinema index*, reared on grape fanleaf virus infected grapes. **Nematologica**, 12: 287-296.

- ROWHANI,A. Use of F(ab')<sub>2</sub> antibody fragment in ELISA for detection of Grapevine viruses. *Amer. J. of Enol. Vitic.* 43. (en prensa).
- ROWHANI,A.; M.A.WALKER and S.ROKNI. Sampling strategies for the detection of Grapevine fanleaf virus and the Grapevine strain fanleaf virus of Tomato Ringspot virus. *Vitis* (en prensa).
- RÜDEL,M. 1970. Vorkommen einiger Arten der Gattung. *Xiphinema* (Nematoda: Dorylaimidae) in Pflaz und Rheinhessen. *Wein Kell.*, 18: 505-520.
- RÜDEL,M. 1977. Bekämpfung virusbertragender Nematoden im Weinbau durch Gründüngung?. *Dt.Weinbau-Jahrb.* 28: 135-139.
- RÜDEL,M. 1980. *Xiphinema vuittenezi* (Nematoda: Dorylaimidae). Virusüberträger bei Reben?. *Wein-Wiss.*, 35: 177-194.
- RÜDEL,M. 1985. Grapevine damage induced by particular virus-vector combinations. *Phytopathol. medit.*, 24: 183-185.
- RÜDEL,M.; M.ALEBRAND and B.ALTAMAYER. 1983. Investigations of the use os ELISA-test to detect different grape viruses. *Wein-Wiss*, 38: 177-185.
- RUSSO,M. 1985. Electron-microscopy of grapevines virus infections. *Phytopathol. medit.*, 24: 144-147.
- SAIKI,R.K.; D.H.,GELFAND; S.,STOFFEL; S.J.,SCHARF; R.,HIGUCHI; G.T.,HORN; K.B.,MULLIS and H.A.,ERLICH. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239: 487-491.
- SARIC,A. and M.WRISCHER. 1975. Fine structures changes in diferent host plants induced by Grapevine Fanleaf Virus. *Phytopathol. Z.*, 84: 97-104.
- SAVINO,V.; D.BOSCIA and G.P.MARTELLI. 1987. Rugose wood complex of grapevine: grafting to *Vitis* indicators discriminate between diseases?. **9th Meeting of ICVG.**
- SCOTTO LAMASSESE,C.; T.C.MINOT; R.VOISIN; L.R.M.CASTAING and A.FABRE. 1988. Relationship between soil type, previous crop and age of plantantion on the composition and the distribution of the nematofaune associated with vineyards of the south-east of France. *Act. Oecol., Oecol. aplic.*, 9: 137.
- SEINHORST, J.W. 1956. The quantitative extraction of nematodes from soil. *Nematologica*, 1: 249-267.
- SEINHORST, J.W. 1962. Modifications of the elutriation method for extracting nematodes from soil. *Nematologica*, 4: 117-128.
- SHANMUGANATHAN,N. and G.FLETCHER. 1982. Enzyme-linked immunosorbent Assay to detect fanleaf virus in grapevines grown in containers. *Plant Dis.*, 66: 704-707.

- SIDDIQI, M.R. 1986. *Xiphinema index*. C.I.H. Descr.P. paras. **Nematodes**, N°45.
- SOLE SABARIS, L. 1984. Geografía general de España. **Ariel SA**. Barcelona: 17-39.
- SOUTHERN, E.M. 1975. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electroforesis. **J. Mol. Biol.**, 98: 503-517.
- SOUTHEY, J.F. 1970. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. **Tech. Bull. Minist. Agric. Fish. Fd.**, 2: 148 pp.
- STACE-SMITH, R. and D.C.RAMSDELL. 1987. Nepoviruses in the Americas. In: **Current Topics in vector Research**, Vol. 3. Ed: Harris, K. New York, Springer-Verlag: 131-166.
- STURHAN, D. 1985. Studies on the *Xiphinema coxi* complex. **Nematologica**, 30: 305-323.
- TACCONI, R. e G.MANCINI. 1987. I nematodi associati alla vite. **Inf. agr.**, 43: 67-75.
- TAKEMOTO, Y; K.NAGAHARA; T.FUKUYAMA; TSUKIHARA and M.IWAKI. 1985. Crystallization and preliminary characterization of arabis mosaic virus. **Virology**, 145: 191-194.
- TANNE, E. 1980. The use of ELISA for the detection of some NEPO-viruses in grapevines. In: **Proc. 7th Int. C. Viruses and vectors of Grapevines**. Niagara falls: 293-296.
- TARJAN, A.C. 1969. Variation within the *Xiphinema americanum* group. **Nematologica**, 15: 241-252.
- TAYLOR, C.E. 1962. Transmission of raspberry ringspot virus by *Longidorus elongatus* (De Man). **Virology**, 17: 493-494.
- TAYLOR, C.E. and D.J.F.BROWN. Nematode virus interactions. In: **Plant parasitic nematodes**, Vol III. Chap. 11. Ed.: B.M.Zuckerman and R.A.Rhodes. New York, Academic Press: 281-301.
- TAYLOR, C.E. and W.M.ROBERTSON. 1970. Sites of virus retention in the alimentary tract of the nematode vectors, *Xiphinema diversicaudatum* (Micol.) and *X.index* (Thorne and Allen). **Ann. appl. Biol.**, 66: 375-380.
- TAYLOR, C.E. and W.M.ROBERTSON. 1975. Acquisition, retention and transmission of viruses by nematodes. In: **Nematode vectors of plant viruses**. Ed.: F.Lamberti, C.E.Taylor, J.M.Seinhorst. London-New York, Plenum Press: 253-275.
- TAYLOR, R.H. and C.H.CADMAN. 1969. Nematode vectors. pp 55-94 In: **Viruses, vectors and vegetation**. Ed.: K.Maramorosch. Interscience publications.
- TAYLOR, R.H. and D.J.RASKI. 1964. On the transmission of grape fanleaf by *Xiphinema index*. **Nematologica**, 10: 489-495.

- TAYLOR,R.H. and W.M.ROBERTSON. 1969. The location of raspberry ringspot and tomato black ring viruses in the nematode vector, *Longidorus elongatus* (de Man). **Ann. Appl. Biol.**, **64**: 233-237.
- TELIZ,D.; R.G.GROGAN and B.F.LOWNSBERY. 1966. Transmission of tomato ringspot, peach yellow bud and grape yellow vein virus by *Xiphinema americanum*. **Phytopathol.**, **56**: 658-663.
- THORNE,G. and M.W.,ALLEN. 1950. *Paratylenchus hamatus* n. sp. and *Xiphinema index* n. sp., two nematodes associated with fig roots, with a note on *Paratylenchus anceps* Cobb. **Proc. Helminth. Soc. Wash.**, **17**: 27-35.
- TOBAR JIMENEZ,A. y C.PEMAN MEDINA. 1970. Especies de *Xiphinema* Cobb, 1913(Nematoda: Dorylaimida) y la degeneración infecciosa de los viñedos de Jerez I. Valoración de los niveles de población de nematodos. **Revta Iber. Parasit.**, **30**: 25-26.
- TRUDGILL,D.L.; D.J.F.BROWN and D.G.McNAMARA. 1983. Methods and criteria for assessing the transmission of plant viruses by longidorid nematodes. **Revue Nématol.**, **6**: 133-141.
- TRUDGILL,D.L.; D.J.F.BROWN and W.M.ROBERTSON. 1981. A comparison of the four British virus vector species of *Longidorus* and *Xiphinema*. **Ann. appl. Biol.**, **99**: 63-70.
- VALDEZ,R.B. 1972. Transmission of raspberry ringspot virus by *Longidorus caespiticola*, *L. leptcephalus* and *Xiphinema diversicaudatum*. **Ann. appl. Biol.**, **7**: 229-234.
- VAN HOFF,H.A. 1971. Viruses transmitted by *Xiphinema* species in the Netherlands. **Neth. S. Pl. Path.**, **77**: 30-31.
- VAN REGENMOSTEL,M.H.V. and S.BURCKARD. 1980. Detection of a white speckrum of tobacco Mosaic Virus strain by indirect enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA). **Virology**, **106**: 327-334.
- VOLLER,A; A.BARTLETT; D.E.BIDWELL; M.F.CLARK and A.N.ADAMS. 1976. The detection of viruses by Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). **J. Gen. Virol.**, **33**: 165-167.
- VUITTENEZA. 1957. Lutte preventive contre le court-noué de la vigne per la desinfection chimique du sol avant plantation. **C. R. Acad. Agr. France**, **43**: 185-196.
- VUITENEZA. 1963. Etudes sur la transmission mécanique, les propriétés physiques et serologiques du virus de la dégénérescence infectieuse, et applications possibles au diagnostic de la maladie chez la vigne. **C. R. Acad. Agr. France**, séance du 29 mai: 795-810.

- VUITTENEZ,A. 1965. The fanleaf viruses: reaction of grapevine and other experimental host infected by fanleaf virus in different transmission ways. **Proc. Int. Conf. Virus and Vector of Perennial Hosts with special reference to Vitis.** University of California, Davis, California: 139-150.
- VUITTENEZ,A. 1970. Fanleaf of grapevine. **In: Virus diseases of small fruits and grapevines.** Ed.: Frazier University of California. 217-228.
- VUITTENEZ,A. 1980. The new improvements of serological methods and their possible application to detect and identify viruses and viruslike diseases of grapevine. **Proc. 7th Int. Conf. viruses and vectors of grapevines.** Niagara falls, Canada. 225-243.
- VUITTENEZ,A. et R.LEGIN. 1964. Recherches sur les vecteurs naturels de la dégénérescence infectieuse. Confirmation de la transmission du virus par X.index (Thorne et Allen) et de l'activité parasitaire de ce nematode sur la vigne. **Comp. Rend. Hebd. Sc. L'Acad.d'Agric.de France, 50:** 286-306.
- VUITTENEZ,A.; R.LEGIN; J.KUSZALA et M.C. CARDIN-MUNK. 1972. Les virus NEPO chez la vigne et les nematodes vecteurs. **Ann.de Phytopatol., 4:** 373-392.
- WALKER,M.A.; C.P.MEREDITH and C.GOHEEN. 1985. Sources of resistance to grapevine fanleaf virus(GVC) in Vitis species. **Vitis, 24:** 218-228.
- WALKEY,D.G.A. and M.J.W.WEBB. 1970. Tubular inclusion bodies in plants infected with viruses of the nepo tipe. **J. gen. Virol., 7:** 159-166.
- WALTER,B; VUITTENEZ,A.J.; KUSZALA,J.; STOCKY,G.; BURCKARD,J. and REGENMORTE,H. Van. 1983. Serological detection of fanleaf virus of grapes by ELISA. **Agr. Sc. Prod. Veg. Environ Paris. INRA, 4:** 527-534.
- WEIER,H.U. and J.W.GRAY. 1988. A programmable system to perform the polymerase chain reaction. **DNA 7:** 441-447.
- WEISCHER,B. 1973. Recent studies on nematodes transmitting grapevine viruses. **Riv.Pat.Veg., 9:** 81-89.
- WEISCHER,B. 1975. Ecology of Xiphinema and Longidorus **In: Nematode vectors of plant viruses.** Ed.: F.Lamberti, C.E.Taylor and J.W.Seinhorst. Plenum, press. 291-306.
- YAGITA,H and Y.KAMURO. 1972. Transmission of mulberry ringspot virus by Longidorus martini Merny. **Ann. Phytopath.Soc. Japan, 38:** 275-283.



\* 5 3 0 9 5 7 5 7 3 4 \*

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

**CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE NEMATODOS TRANSMISORES DE VIRUS  
(Xiphinema spp.) Y EL VIRUS DE LA "DEGENERACION INFECCIOSA" DE LA VID -  
ENTRENUDO CORTO - (GFLV)**

## II

**Memoria que presenta  
Jesus FRESNO PEREZ  
para optar al grado de Doctor en Ciencias Biologicas  
Enero 1992**

## **.APENDICES**

**Directora: Dra. Dña. Maria ARIAS DELGADO  
Ponente: Prof. Dr. D. Benjamín FERNANDEZ RUIZ**

Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Complutense  
Madrid



ARCHIVO

**INDICE**

**TESIS DOCTORAL**

**CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE NEMATODOS TRANSMISORES DE  
VIRUS (Xiphinema spp.) Y EL VIRUS DE LA "DEGENERACION INFECCIOSA"  
DE LA VID - ENTRENUDO CORTO - (GFLV)**

Jesus FRESNO PEREZ

Enero 1992

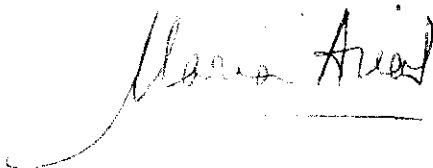
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE  
MADRID**

**CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE NEMATODOS TRANSMISORES DE VIRUS  
(Xiphinema spp.) Y EL VIRUS DE LA "DEGENERACION INFECCIOSA"  
DE LA VID - ENTRENUDO CORTO - (GFLV)**

**Jesus FRESNO PEREZ**

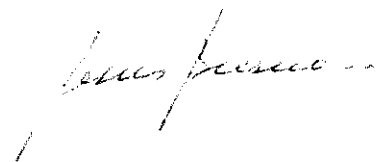
La memoria que lleva por título **CORRELACION BIOECOLOGICA ENTRE NEMATODOS TRANSMISORES DE VIRUS (Xiphinema spp.) Y EL VIRUS DE LA "DEGENERACION INFECCIOSA" DE LA VID - ENTRENUDO CORTO - (GFLV)**, que presenta **Jesús FRESNO PEREZ**, para optar al grado de DOCTOR en Ciencias Biológicas, ha sido realizada en el Departamento de Agroecología del Centro de Ciencias Medioambientales (CSIC), bajo la dirección de la Dra. Dña. María ARIAS DELGADO con la supervisión del ponente Prof. Dr. D. Benjamín FERNANDEZ RUIZ, Profesor del Departamento de Zoología de la Universidad Complutense de Madrid.

Madrid, Enero de 1992



Dra. Dña. María ARIAS DELGADO

Jesús FRESNO PEREZ



Prof. Dr. D. Benjamín FERNANDEZ RUIZ

**RESUMEN**

Se pretende contribuir con este trabajo al conocimiento de la incidencia del virus de la degeneración de la vid y de sus nematodos vectores en los viñedos españoles, así como su correlación con la sintomatología que producen y la influencia de los factores ambientales en el desarrollo de los patógenos.

Se realiza en primer lugar una recopilación de los estudios a nivel mundial sobre la virosis en el viñedo, centrándose en aquellos referentes a la "degeneración infecciosa" de la vid; de igual modo se revisan los trabajos existentes sobre la incidencia e importancia de los nematodos fitoparásitos en el viñedo, con especial énfasis en las especies transmisoras de virus. En el capítulo de material y métodos, tras la indicación de los planteamientos para la realización de las muestras, se hace una descripción detallada de la zona de estudio y de las fincas experimentales donde se llevó a cabo el trabajo. A continuación se expone la metodología utilizada en la detección del virus, estudio de la nematofauna, caracterización en el estudio de los parámetros edáficos, tratamiento estadístico y cartografiado automático de los datos.

Los resultados obtenidos indican que la incidencia del virus alcanza el 12 % y que la coincidencia del virus con los nematodos vectores es variable, puede ir de próxima al 100 % a prácticamente nula dependiendo de las zonas. Se indica la importancia de los factores medioambientales, especialmente el contenido de agua en el suelo, en el desarrollo de estos nematodos y por lo tanto la importancia de realizar los muestreos en los distintos horizontes del suelo y en épocas del año adecuadas, dada la distribución aleatoria y contagiosa de estos organismos. Se resalta, asimismo, la baja correlación entre la sintomatología que muestran algunas plantas y la presencia de virus, indicándose que, en muchos casos, se debe a la acción de otros nematodos fitoparásitos ó, incluso, algunos focos de filoxera, condiciones ambientales o a características fisiológicas de la planta, observándose que dicha sintomatología muestra una relación más clara con la presencia del virus en unas variedades que en otras.

Por último, se destaca la necesidad de tener en cuenta la presencia de ambos patógenos, puesto que aún en el caso de que la infección se haya producido a través del injerto, la existencia de un solo nematodo transmisor de virus garantiza la persistencia de la infección; así como la importancia de abordar estos problemas desde una órbita multidisciplinar profundizando en el conocimiento tanto de la morfología y fisiología de la planta como en las características agroecológicas de los patógenos implicados y de la especificidad de transmisión a fin de conseguir un control de la enfermedad que sea ecológicamente compatible.

**INDICE**

	<u>Pág.</u>
RESUMEN	VI
INTRODUCCION	1
PLAN DE TRABAJO	4
I. ANTECEDENTES	10
I.1 Enfermedades víricas de la vid	12
I.1.1. Nepovirus	13
I.1.2. Virus de la degeneracion infecciosa o del entrenudo corto de la vid (GFLV)	16
I.1.2.1. Caracteristicas generales	19
I.1.2.2. Acidos nucleicos	19
I.1.2.3. Ultraestructura	22
I.1.2.4. Mecanismos de transmision	23
I.1.2.5. Tecnicas de diagnóstico del GFLV	24
I.2. Nematodos asociados a la vid	27
I.2.1. Nematodos ectoparasitos y transmisores de virus	28
I.2.1.1. Sistemática y taxonomía de la familia <b>Longidoridae</b>	28
I.2.1.2. Características morfológicas	29
I.2.2. Nematodos de la familia <b>Longidoridae</b> asociados al viñedo	34
I.2.2.1. <u>Xiphinema index</u>	37
I.2.2.2. <u>X. italiae</u>	40
I.2.2.3. Otras especies de nematodos de la familia Longidoridae	42
I.3. Relacion virus-vector	45
I.4. Metodología para el estudio de la transmision	47
I.5. Estado actual de los estudios sobre GFLV y los nematodos asociados a la vid en España	48
I.5.1. Virus de la degeneracion infecciosa de la vid	48
I.5.2. Nematodos de la vid	49

	<u>Pág.</u>
<b>II.MATERIAL Y METODOS</b>	52
<b>II.1. Planificación de muestreos</b>	53
<b>II.2. Descripción de las zonas de estudio</b>	54
II.2.1. Zonas vitícolas. La Mancha	57
II.2.2. Fincas Experimentales	65
II.2.2.1. Finca Experimental "La Higuera"	65
II.2.2.2. Finca de La Escuela Museo de la Vid y el Vino de Madrid	67
<b>II.3. Muestreos realizados</b>	67
II.3.1. Muestreos previos	69
II.3.2. Muestreo en la región de La Mancha	70
II.3.3. Muestreos en Fincas Experimentales	71
<b>II.4. Recogida y preparación de muestras</b>	76
II.4.1. Muestras de suelo	76
II.4.2. Muestras de material vegetal	79
<b>II.5. Métodos de extracción y estudio de nematodos del suelo</b>	79
II.5.1. Preparación de muestras de suelo	80
II.5.2. Método de sedimentación-decantación	81
II.5.3. Método de centrifugación	82
II.5.4. Métodos de estudio cuantitativo y cualitativo de los nematodos	84
II.5.4.1. Recuento, aislamiento, fijación y montaje	85
II.5.4.2. Conservación del extracto de la muestra	87
II.5.4.3. Observaciones microscópicas	87
<b>II.6. Técnicas para el estudio del material vegetal</b>	89
<b>II.7. Técnicas para la detección del virus</b>	89
II.7.1. Transmisión mecánica a planta herbácea	89
II.7.2. Tinción negativa (Microscopía Electrónica)	90
II.7.3. Inmuno-electromicroscopía	91
II.7.3.1. ISEM (Inmunosorbent Electromicroscopy)	92
II.7.3.2. AVM (Antiserum Virus Mixture)	93
II.7.3.3. Decoración	94
II.7.3.4. Tampones y colorantes necesarios	95
II.7.4. Secciones ultrafinas	96
II.7.5. Métodos serológicos	97

	<u>Pág.</u>
II.7.5.1. ELISA-DAS	98
II.7.5.2. Sistemas de amplificación de ELISA	101
II.7.6. Hibridaciones de ácidos nucleicos, sondas radioactivas y colorimétricas	102
II.8. Metodología para el estudio de los virus en el interior de los nematodos	103
II.8.1. Metodología para la detección del virus en el nematodo por Microscopía Electrónica	103
II.8.2. Preparación de nematodos para la detección del virus en su interés por ELISA e ISEM	105
II.8.3. Metodología pra detectar el virus en el nematodo por la reacción en cadena de la polimerasa ("Polimerasa Chain Reaction") (PCR)	108
II.9. Metodología para el estudio de la transmisión por vectores	108
II.10. Métodos para el estudio de las características edáficas	112
II.11. Métodos estadísticos para el tratamiento y cartografiado automático	113
III. RESULTADOS	114
III.1. Muestreo previo	115
III.2. Detección del virus de la degeneración infecciosa	127
III.2.1. Comprobación de la fiabilidad del método	128
III.2.2. Comparación de tampones de extracción	131
III.2.3. Variación del pH en función del tampón utilizado	136
III.2.4. Ensayos de comprobación entre distintas partes y estados de la planta frente a diferentes tampones	141
III.2.5. Sensibilidad del test ELISA para distintas concentraciones de la muestra	144
III.3. Variación de la concentración del virus	155
III.4. Correlación entre sintomatología y virosis	180
III.4.1. Correlación sintomatología-virosis en distintas variedades	180
III.4.2. Correlación sintomatología-virosis en Garnacha	181
III.4.3. Correlación sintomatología-virosis en focos de La Mancha	191
III.5. Incidencia del GFLV en La Mancha	197
III.6. Incidencia virus-nematodos vectores	198

	<u>Pág.</u>
III.7. Estudios ultraestructurales de plantas indicadoras y de <u>X.index</u>	207
III.8. Transmisión del virus de la degeneración infecciosa por <u>X.index</u> . Detección del virus en el nematodo vector y en planta herbácea	215
V. DISCUSION	222
IV.1. Incidencia y detección del virus de la degeneracion infecciosa	223
IV.2. Incidencia de nematodos fitoparásitos y transmisores de virus	231
IV.3. Correlación bioecológica entre virus y nematodo vector	237
V. CONCLUSIONES	240
VI. BIBLIOGRAFIA	245
VII. APENDICES	
VII.1. Relación de muestreos.	
VII.2. Tablas y matrices de resultados.	



## VII.1. RELACION DE MUESTREOS.

TABLA J

RELACION DE MUESTRAS RECOGIDAS EN LAS ZONAS VITICOLAS ELEGIDAS

TABLA I.- RELACION DE MUESTRAS RECOGIDAS EN LAS ZONAS VITICOLAS ELEGIDAS

<u>Nº orden</u>	<u>Fecha</u>	<u>Nº Lab.</u>	<u>Localidad</u>	<u>UTM</u>	<u>Var. *</u>	<u>Sint. **</u>	<u>Mat. Veg.</u>
1	9-VI-1989	10263	El Toboso	VJ9772	4	15	3
2	9-VI-1989	10264	Campo de Criptana	VJ9066	1	16	3
3	9-VI-1989	10266	Campo de Criptana	WJ0063	1	15	3
4	9-VI-1989	10267	Campo de Criptana	VJ9961	1	1	2
5	9-VI-1989	10268	Campo de Criptana	VJ9859	1	12	1
6	9-VI-1989	10269	Campo de Criptana	VJ9657	1	12	2
7	10-VI-1989	10271	Torralba de Calatrava	VJ9552	1	13	1
8	10-VI-1989	10276	Torralba de Calatrava	VJ3729	1	13	2
9	10-VI-1989	10278	Fuente del Fresno	VJ3623	1	12	2
10	10-VI-1989	10279	Villarrubia de los Ojos	VJ3636	1	4	2
11	10-VI-1989	10280	Villarrubia de los Ojos	VJ4735	1	4	1
12	10-VI-1989	10281	Daimiel	VJ5445	1	1	2
13	10-VI-1989	10282	Daimiel	VJ5644	1	12	1
14	10-VI-1989	10283	Daimiel	VJ5644	1	0	3
15	10-VI-1989	10284	Daimiel	VJ5734	1	4	2
16	10-VI-1989	10285	Manzanares	VJ6035	1	14	4
17	10-VI-1989	10286	Villarta de San Juan	VJ7138	1	11	4
18	10-VI-1989	10287	Villacañas	VJ6747	1	1	2
19	14-VI-1989	10345	Ciruelo	VK4825	1	4	3
20	14-VI-1989	10346	Cabasñas de Yepes	VK5618	1	15	3
21	14-VI-1989	10347	Noblejas	VK6623	1	4	3
22	14-VI-1989	10348	km 83 Ctra. Albacete	VK7815	1	15	3
23	14-VI-1989	10349	Corral de Almaguer	VK9398	1	8	3
24	14-VI-1989	10351	km 147 Ctra. Albacete	VK1477	1	8	3
25	14-VI-1989	10352	km 157 Ctra. Albacete	WJ3073	1	13	1
26	14-VI-1989	10354	Casas de Luna	WJ 5830	1	8	3

\* Variedades:

1. Airen; 2. Albariño; 3. Alicante; 4. Cencibel; 5. Chelva; 6. Don Mariano; 7. Doña Blanca; 8. Macabeo;  
9. Monastrel del Reino; 10. Sangre de Toro.

\*\* Síntomas:

0. No síntomas; 1. Cepas muertas; 2. Cepas no productivas; 3. Cepas deprimidas, falta de vigor; 4. Clorosis;  
5. Corrimiento; 6. Entrenudo corto; 7. Fasciación; 8. Filoxera; 9. Fitotoxicidad por herbicidas; 10. Hojas de-  
formadas; 11. Madera deformada; 12. Meloidogyne; 13. Meloidogyne y clorosis; 14. Mosaico amarillo; 15. Sínto-  
mas discretos de virosis; 16. Síntomas acusados de virosis.

27	14-VI-1989	10355	Socuéllamos a Osa	WJ2513	1	8	3
28	14-VI-1989	10356	Ruidera a Carrizosa	WJ0303	1	8	3
29	14-VI-1989	10357	Carrizosa a Villahermosa	WH0992	1	8	3
30	14	10358	Juan Abad a Cozar	VH9778	1	8	3
31	14-VI-1989	10389	Manzanares a La Solana	VH9592	1	8	3
32	14-VI-1989	10360	Tomelloso a Villarrobledo	WJ0634	1	15	3
33	14-VI-1989	10361	Casas Eugenio	WJ3035	1	15	3
34	14-VI-1989	10362	Villarrobledo	WJ3443	10	15	3
35	14-VI-1989	10363	Casas de Los Arboles	WJ1050	1	15	3
36	26-VI-1989	10421	Tobarra	XH1775	1	4	1
37	26-VI-1989	10422	Tobarra	XH1775	1	12	1
38	26-VI-1989	10423	Albatana	XH3070	1	4	1
39	26-VI-1989	10424	Albatana-Jumilla	XH2968	1	1	1
40	26-VI-1989	10425	Concarix	XH2552	1	1	1
41	26-VI-1989	10426	Calasparra a Mula	XH1728	1	4	1
42	26-VI-1989	10427	La Copa de Bullas-Bullas	XH1715	1	3	1
43	26-VI-1989	10428	Cieza	XH2416	1	4	1
44	26-VI-1989	10429	Ricote	XH3024	9	0	1
45	27-VI-1989	10435	Bullas	XH1311	9	15	1
46	27-VI-1989	10436	Bullas	XH1311	9	15	1
47	27-VI-1989	10437	Bullas	XH1311	9	15	1
48	27-VI-1989	10348	Totana	XG3582	6	15	1
49	27-VI-1989	10439	Totana	XG3582	6	15	1
50	28-VI-1989	10440	Blanca	XH4430	6	15	1
51	28-VI-1989	10441	Murcia a Jumilla	XH5347	6	7	1
52	28-VI-1989	10442	Jumilla a Yecla	XH5270	9	15	1
53	28-VI-1989	10443	Yecla a Almansa	XH6289	4	15	1
54	28-VI-1989	10444	Almansa a Albacete	XJ5904	1	15	1
55	28-VI-1989	10445	Sta. M <sup>a</sup> de los Llanos	WJ1271	1	15	1
56	29-VI-1989	10446	Socuéllamos	WJ1850	1	11	1
57	29-VI-1989	10447	Socuéllamos	WJ1850	1	12	1
58	29-VI-1989	10448	Socuéllamos	WJ1850	1	0	1
59	29-VI-1989	10449	Socuéllamos	WJ2756	1	13	1
60	29-VI-1989	10450	Camino Vallas	WJ1344	1	0	2
61	29-VI-1989	10451	Osa	WJ2710	1	14	2
62	29-VI-1989	10453	Terrices	VH9774	1	15	1

63	29-VI-1989	10454	Villa Mercedes	VH9075	1	8	1
64	30-VI-1989	10455	Valdepeñas	VH6182	1	16	2
65	30-VI-1989	10456	Valdepeñas	VH6288	1	16	3
66	30-VI-1989	10457	Sta. Cruz de Mudela	VH5590	1	15	1
67	30-VI-1989	10458	Moral de Calatrava	VH5198	1	11	1
68	30-VI-1989	10459	Daimiel	VJ6202	1	7	1
69	30-VI-1989	10460	Las Aberturas	VJ6703	1	0	1
70	30-VI-1989	10461	Casa Cristales	VJ6283	1	14	1
71	30-VI-1989	10462	Valdepeñas a Daimiel	VH6295	1	14	1
72	30-VI-1989	10463	Manzanares a Bolaños de Calatrava	VJ4812	1	15	1
73	30-VI-1989	10464	Almagro a Pozuelo de Calatrava	VJ3503	1	11	1
74	30-VI-1989	10465	Aldea de Rey a Calzada de C.	VH2988	1	8	1
75	30-VI-1989	10466	Almoradiel a Castelar de Santiago	VH7162	1	0	1
76	30-VI-1989	10467	La Guadianeja	VH6466	1	14	2
77	30-VI-1989	10468	Alhambra a La Solana	VJ8906	1	12	1
78	11-VII-1989	10525	Vilanova de Arosa	NH1812	1	14	2
79	11-VII-1989	10526	Vilanova de Arosa	NH2012	2	9	2
80	11-VII-1989	10527	Solobeira	NH2111	2	15	2
81	11-VII-1989	10528	Barrantes	NH1805	0	0	1
82	11-VII-1989	10529	Prandela	NH1703	0	2	1
83	11-VII-1989	10530	Prandela	NH2003	0	11	1
84	11-VII-1989	10531	Tremoedo	NH1709	0	16	1
85	11-VI-1989	10532	Cambados	NH1308	0	16	1
86	11-VII-1989	10533	Puenteareas	NG4168	0	15	1
87	12-VII-1989	10535	Leiro	NG7992	3	3	1
88	12-VII-1989	10536	Leiro	NG7692	3	9	1
89	12-VII-1989	10537	Berán	NG6889	8	15	1
90	12-VII-1989	10538	Quinza	NG7589	7	15	1
91	12-VII-1989	10540	Arroyo Freixadura	NG7377	0	4	1
92	12-VII-1989	10541	Castrello	NG7783	0	15	1
93	12-VII-1989	10542	Trancelos	NG6983	0	0	1
94	13-VII-1989	10718	Daimiel-Malagón	VJ4527	1	16	1
95	13-VII-1989	10720	Daimiel	VJ3729	1	12	1
96	13-VII-1989	10723	Daimiel	VJ4430	1	16	1
97	13-VII-1989	10724	Los Cortijos de Abajo	VJ1552	1	1	1
98	13-VII-1989	10725	Villamayor de Calatrava	VH0698	1	11	1
99	13-VII-1989	10726	Manzanares a Bolaños	VJ6314	1	16	1

100	13-VII-1989	10727	Manzanares	VJ6520	5	12	1
101	13-VII-1989	10728	Manzanares a Villarrubia de los Ojos	VJ5622	1	1	1
102	13-VII-1989	10729	Manzanares a Villarrubia de los Ojos	VJ5626	1	15	1
103	14-VII-1989	10730	Villarrubia a Manzanares	VJ6324	1	8	1
104	14-VII-1989	10731	Santuario Ntra. Sra. Alarco	VJ1516	1	8	1
105	14-VII-1989	10732	Perales a Malagón	VJ1036	1	11	1
106	14-VII-1989	10733	Fuente del Fresno	VJ3756	1	0	1
107	14-VII-1989	10734	Fuente del Fresno - Los Yebenes	VJ3370	1	0	1
108	14-VII-1989	10735	Margaliza	VJ1875	1	0	1
109	14-VII-1989	10736	Arigoste a Casagordo	VJ1889	1	11	1
110	14-VII-1989	10737	Almonacid	VK2502	1	0	1
111	14-VII-1989	10738	Mora a Consuegra	VJ3590	1	0	1
112	14-VII-1989	10739	Mora a Turleque	VJ4788	1	8	1
113	15-VII-1989	10740	Quintanar a Los Hinojosos	WJ1285	1	4	1
114	15-VII-1989	10741	Saelices a Almonacid del Marquesado	WK1812	1	8	1
115	15-VII-1989	10742	Villarejo	WK2807	1	8	1
116	15-VII-1989	10743	La Almarcha	WJ4590	1	0	1
117	15-VII-1989	10744	Honrubia a Torrubia del Castillo	WJ6587	1	8	1
118	15-VII-1989	10745	Atalaya de Cañada a Sisante	WJ6570	1	11	1
119	15-VII-1989	10746	La Roda a Barrax	WJ7134	1	3	1
120	20-VII-1989	10747	Villarrobledo a Las Mesas	WJ3052	5	9	1
121	20-VII-1989	10750	Villarrobledo a Las Mesas	WJ3252	1	9	1
122	20-VII-1989	10751	Villarrobledo a Minaya	WJ4344	1	12	1
123	20-VII-1989	10755	San Clemente a La Alberca de Z.	WK1230	1	1	1
124	20-VII-1989	10756	Carrascosa a Villaescusa de Haro	WJ3385	1	15	1
125	20-VII-1989	10758	Tarancón a Cuenca	WK0930	1	15	1
126	20-VII-1989	10760	Tarancón	VK9525	1	8	1
127	20-VII-1989	10761	Sta. Cruz de la Zarza	VK8509	1	8	1
128	20-VII-1989	10762	Villadonfadrigue	VJ7689	1	15	1
129	20-VII-1989	10763	Villacañas	VJ5976	1	15	1
130	20-VII-1989	10765	Pedro Muñoz	VJ9855	1	13	1
131	20-VII-1989	10766	Tomelloso a Socuéllamos	WJ0942	1	8	1
132	20-VII-1989	10767	Tomelloso a Socuéllamos	WJ0942	1	8	1
133	20-VII-1989	10769	Tomelloso a Socuéllamos	WJ0446	1	12	1
134	20-VII-1989	10770	Tomelloso a Argamasilla de Alba	WJ9538	1	15	1
135	20-VII-1989	10771	Tomelloso de Alameda de Cervera	VJ9050	1	15	1
136	20-VII-1989	10772	Mora a Tembleque	WJ4898	1	12	1
137	17-VIII-1989	10785	Corral de Almaguer	VK8505	1	15	1
138	17-VIII-1989	10786	Villatobas	VK8505	1	16	1
139	17-VIII-1989	10787	Lezuza	WJ5933	1	16	1

140	17-VIII-1989	10788	El Bonillo	WJ4132	1	15	1
141	17-VIII-1989	10789	Munera	WJ4221	1	4	1
142	17-VIII-1989	10790	La Gineta	WJ8334	1	15	1
143	17-VIII-1989	10791	Buenavista	WJ8943	1	15	3
144	17-VIII-1989	10792	Casas de Guijarro	WJ7358	1	15	3
145	1-X-1989	10793	El Barco de Valdeorras	PG6598	0	1	1
146	1-X-1989	10794	A Rua	PG5697	0	15	1
147	1-X-1989	10795	Larouco	PG5391	0	15	1
148	1-X-1989	10796	Puebla de Trives	PG4688	0	15	1
149	1-X-1989	10797	Sequeiros	PH4603	0	15	1
150	1-X-1989	10798	Nogueira	PH3701	0	2	1
151	1-X-1989	10799	Tixeira	PG2894	0	0	1
152	1-X-1989	10800	Doade	PG2597	0	0	1
153	1-X-1989	10801	Sober	PG1996	0	15	1
154	1-X-1989	10802	Villaoscura	PH1501	0	15	1
155	1-X-1989	10803	Monforte	PG0396	0	15	1
156	1-X-1989	10804	Nogueira do Miño	PH0513	0	15	1
157	2-X-1989	10805	Argemil	PH0503	0	15	1
158	2-X-1989	10806	Untes	NG8689	0	2	1
159	2-X-1989	10807	Crecentes	NG6267	0	15	1
160	2-X-1989	10808	Arbó	NG5563	0	15	1
161	2-X-1989	10809	As Neves	NG4662	0	2	1
162	2-X-1989	10810	Salvatierra	NG3859	0	2	1
163	2-X-1989	10811	Paramos	NG3257	0	2	1
164	2-X-1989	10812	Salceda	NG3864	0	15	1
165	2-X-1989	10813	Ribadeouro	NG2861	0	15	1
166	2-X-1989	10814	Tomiño	NG2551	0	15	1
167	2-X-1989	10815	Infesta	PG2848	0	0	1
168	2-X-1989	10816	Ombra	PG2839	0	15	1
169	2-X-1989	10817	Mourazos	PG3335	0	15	1
170	2-X-1989	10818	Cabreiros	PG3243	0	15	1
171	9-XI-1989	10879	Madridejos	VJ5665	0	11	2
172	9-XI-1989	10880	Puerto Lápice	VJ5848	1	11	2
173	9-XI-1989	10881	Villarrubia de los Ojos	VJ4843	1	11	2
174	9-XI-1989	10882	Malagón	VJ2834	1	11	2
175	9-XI-1989	10883	Malagón	VJ3628	1	11	2
176	9-XI-1989	10884	Daimiel	VJ4025	1	11	2
177	9-XI-1989	10885	Daimiel	VJ4422	1	11	2
178	9-XI-1989	10886	Carrión de Calatrava	VJ3215	1	11	2
179	9-XI-1989	10887	Almagro	VJ3710	1	11	2
180	9-XI-1989	10888	Bolaños de Calatrava	VJ4416	1	11	2
181	9-XI-1989	10889	Daimiel	VJ5330	1	11	2

182	9-XI-1989	10890	Arenas de San Juan	VJ5535	1	11	2
183	9-XI-1989	10891	Llanos del Caudillo	VJ6032	1	11	2
184	9-XI-1989	10892	Manzanares	VJ6422	1	11	2
185	9-XI-1989	10893	Manzanares	VJ6518	1	11	2
186	9-XI-1989	10894	Manzanares	VJ5823	1	11	2
187	9-XI-1989	10895	Manzanares	VJ6315	1	11	2
188	9-XI-1989	10896	Villanueva de Franco	VJ6680	1	11	2
189	9-XI-1989	10897	Caserío Abertura Consolación	VH6892	1	11	2
190	9-XI-1989	10898	Moral de Calatrava	VH5098	1	11	2
191	9-XI-1989	10899	Sta. Cruz de Mudela	VH5286	1	11	2
192	9-XI-1989	10900	Sta. Cruz de Mudela	VH6485	1	11	1
193	9-XI-1989	10901	Valdepeñas	VH7086	1	11	2
194	9-XI-1989	10902	Valdepeñas	VH6893	4	11	2
195	9-XI-1989	10903	Valdepeñas	VH5888	1	11	2
196	9-XI-1989	10904	Valdepeñas	VH6391	1	11	2
197	9-XI-1989	10905	Valdepeñas	VH7192	1	11	2
198	9-XI-1989	10906	Pozo de la Serna	VH7692	4	11	2
199	10-XI-1989	10907	Alcubillas	VH8590	1	11	2
200	10-XI-1990	10908	Villanueva de los Infantes	VH9688	1	11	2
201	10-XI-1989	10909	Carrizosa	VH9995	1	11	2
202	10-XI-1989	10910	Alhambra	VH9804	1	11	2
203	10-XI-1989	10911	Los Almendros	VJ9007	1	11	2
204	10-XI-1989	10912	La Solana	VJ8110	1	11	2
205	10-XI-1989	10913	La Solana-Valdepeñas	VJ7403	1	11	2
206	10-XI-1989	10914	La Solana-Valdepeñas	VJ7099	1	11	2
207	10-XI-1989	10915	Membrilla	VJ6610	1	11	2
208	10-XI-1989	10916	Navaloscuertos	VJ7924	1	11	2
209	10-XI-1989	10917	Los Paquires	VJ7631	1	11	2
210	10-XI-1989	10918	Villarta de San Juan	VJ6442	1	11	2
211	10-XI-1989	10919	Llanos del Caudillo	VJ6735	1	11	2
212	10-XI-1989	10920	Llanos del Caudillo	VJ7130	1	11	2
213	10-XI-1989	10921	Argamasilla de Alba	VJ8728	1	11	2
214	10-XI-1989	10922	Tomelloso	VJ9735	1	11	2
215	10-XI-1989	10923	Tomelloso	WJ0742	1	11	2
216	10-XI-1989	10924	Socuéllamos-El Provencio	WJ2755	1	11	2
217	10-XI-1989	10925	Socuéllamos	WJ2554	1	11	2
218	10-XI-1989	10926	Las Mesas	WJ2157	1	11	2
219	10-XI-1989	10927	Laguna de Manjavacas	VJ1662	1	11	2
220	10-XI-1989	10928	Mota del Cuervo	WJ1310	1	11	2
221	10-XI-1989	10929	Pedro Muñoz	WJ0664	1	11	2
222	10-XI-1989	10930	Campo de Criptana	VJ9262	1	11	2

223	9-XI-1989	10931	Campo de Criptana	VJ9464	1	11	2
224	9-XI-1989	10932	El Toboso	VJ9672	1	11	2
225	11-XI-1989	10933	Miguel Esteban	VJ7389	1	11	2
226	11-XI-1989	10934	Alcazar de San Juan	VJ7463	1	11	2
227	11-XI-1989	10935	Herencia	VJ6577	1	11	2
228	11-XI-1989	10936	Consuegra	VJ4574	1	11	2
229	11-XI-1989	10937	Mora	VJ3389	1	11	1
230	11-XI-1989	10938	Mora	VJ3385	1	11	2
231	11-XI-1989	10939	Tembleque	VJ5392	1	11	2
232	11-XI-1989	10940	Villacañas	VJ6788	1	11	2
233	12-XI-1989	10945	Ocaña	VK6122	1	11	2
234	12-XI-1989	10946	Villatobas	VK7117	1	11	2
235	12-XI-1989	10947	Ermite de Sta. Catalina	VK7810	1	11	2
236	12-XI-1989	10948	Villatobas a Corral de Almaguer	VK8205	1	11	2
237	12-XI-1989	10949	Corral de Almaguer	VJ8692	1	11	2
238	12-XI-1989	10950	Villanueva de Alcaudete	VJ9192	1	11	2
239	12-XI-1989	10951	Quintanar de la Orden	VJ9584	1	11	2
240	12-XI-1989	10952	Quintanar de la Orden	VJ8000	1	11	1
241	12-XI-1989	10953	Venta de D. Quijote	WJ0676	1	11	2
242	12-XI-1989	10954	Mota del Cuervo	WJ1572	1	11	2
243	12-XI-1989	10955	El Pedernoso-Las Pedroñeras	WJ2470	1	11	2
244	12-XI-1989	10956	Las Pedroñeras-El Provencio	WJ3462	1	11	2
245	12-XI-1989	10957	El Provencio	WJ3657	1	11	2
246	12-XI-1989	10958	Ctra. N. 310, km 7	WJ2741	1	11	2
247	12-XI-1989	10959	Ctra. N. 310, km 17	WJ1836	1	11	2
248	12-XI-1989	10960	Ctra. R. 150, km 27	WJ0835	1	11	2
249	18-XI-1989	10988	Casa de Marta	VJ9144	1	11	2
250	18-XI-1989	10989	Alameda de Cervera	VJ8849	1	11	2
251	18-XI-1989	10990	Alcazar de San Juan	VJ8456			
252	18-XI-1989	10991	Villafranca de los Caballeros	VJ7463	1	11	2
253	18-XI-1989	10992	Villafranca de los Caballeros	VJ7070	1	11	2
254	18-XI-1989	10993	Villacañas	VJ7181	1	11	2
255	18-XI-1989	10994	Lillo	VJ7194	1	11	2
256	18-XI-1989	10995	Lillo	VJ6900	1	11	2
257	18-XI-1989	10996	La Guardia	VJ6101	1	11	2
258	18-XI-1989	10997	Tembleque	VJ5894	1	11	2
259	18-XI-1989	10998	Turleque	VJ4985	1	11	2
260	18-XI-1989	10999	Madridejos	VJ5175	1	11	2

TABLA II

RELACION DE MUESTRAS TOMADAS EN CASTILLA-LEON

TABLA II. -- RELACION DE MUESTRAS TOMADAS EN CASTILLA-LEON

<u>Denominación de origen</u>	<u>Municipio</u>	<u>UTM</u>	<u>Nº parcelas</u>	<u>Nº muestras</u>
CEBREROS	El Barraco	UK6182	2	10
"	Cebreros	UK7579	5	25
"	Hoyo de Pinares	UK7984	5	25
"	San Bartolomé de Pinares	UK6989	5	25
"	San Juan de la Nava	UK5782	3	15
"	El Tiemblo	UK6561	5	25
CIGALES	Coros del Valle	UM5930	4	50
"	Cigales	UM5824	13	132
"	Cubillas de Santa Marta	UL1490	3	30
"	Fuensaldaña	UM5318	2	15
"	Mucientes	UM7228	5	50
"	Trigueros del Valle	UM6232	5	50
EL BIERZO	Arganza	29 T -PH9023	19	19
"	Cabañas Raras	PH9823	12	13
"	Cacabelos	PH8719	55	71
"	Campelo	PH8824	6	7
"	Camponaraya	PH9117	44	68
"	Canedo	PH8824	3	4
"	Carracedelo	PH8614	2	2
"	Castropodame	QH0717	11	22
"	Cortiguera	PH9419	2	2
"	Cubillinos	PH9923	6	6
"	Cubillos del Sil	QH0022	4	4
"	Cueto	PH9223	3	4
"	Iglesia del Campo	PH8417	16	16
"	Parandones	PH8216	10	10
"	Pieros	PH8419	1	1
"	Ponferrada	PH9811	78	78
"	Quilós	PH8722	12	26
"	Saucedo	PH9426	11	12
"	San Juan	PH9124	1	1
"	San Lorenzo	PH9710	16	16
"	San Martín	PH8733	1	2
"	San Miguel	PH8924	9	9
"	Toral de los Vados	PH8212	2	2

EL BIERZO	Valtuille de Abajo	29 T - PH8319	22	22
"	Valtuille de Arriba	PH8320	22	22
"	Villadecanas	PH8316	34	38
"	Villafranca del Bierzo	PH8019	20	20
"	Villar de los Barrios	*QH0109	8	12
RIBERA DEL DUERO	Alcubilla del M	30 T - VM8811	1	6
"	Atanta	VL8229	2	5
"	Castillejo	VM5901	1	1
"	La Horra	VM2722	3	16
"	Pedrosa de Duero	VM1817	9	38
"	Peñarandade Duero	VM5915	4	1
"	Pesquera de Duero	VM0310	9	84
"	Roa	VM2316	1	6
"	San Esteban de Gormaz	VM8303	1	4
"	Sotillo	VM3125	3	12
"	Terradillos de Esgueva	VM2929	1	3
"	Valbuena de Duero	UM9211	1	10
"	Villálvaro	VM8212	1	1
RUEDA	La Seca	30 T - UL4086	18	182
"	Rodilana	UL4381	5	50
"	Rueda	UL3686	15	150
TORO	Argujillo	30 T - TL8376	6	6
"	Casaseca de las Chanas	TL7690	1	6
"	Morales de Toro	UM0701	53	54
"	El Pego	TL9378	28	42
"	El Piñero	TL8381	8	9
"	San Miguel de la Ribera	TL8479	11	13
"	Tagarabuena	UM0001	2	4
"	Toto	UL0099	36	49

TABLA III

MUESTRAS DE MATERIAL VEGETAL (SARMIENTOS) RECOGIDAS ENTRE NOVIEMBRE  
DE 1989 Y MAYO DE 1990.

TABLA III.- MUESTRAS DE MATERIAL VEGETAL (SARMIENTOS) RECOGIDAS ENTRE  
NOVIEMBRE DE 1990 y MAYO DE 1990

Nº	Fecha	Localidad	UTM	Nº	Fecha	Localidad	UTM
1	9-XI-1989	Madridejos	VJ5665	38	10-XI-1989	Navaloscuentos	VJ7924
2	"	Puerto Lápice	VJ5848	39	"	Los Paquines	VJ7631
3	"	Villarrubia de los Ojos	VJ4843	40	"	Villarta de San Juan	VJ6442
4	"	Malagón	VJ2834	41	"	Llanos del Caudillo	VJ6735
5	"	Malagón	VJ3628	42	"	Llanos del Caudillo	VJ7130
6	"	Daimiel	VJ4025	43	"	Argamasilla de Alba	VJ8728
7	"	Daimiel	VJ4422	44	"	Tomelloso	VJ9735
8	"	Carrión de Calatrava	VJ3215	45	"	Tomelloso	WJ0742
9	"	Almagro	VJ3710	46	"	Socuéllamos-El Provencio	WJ2755
10	"	Bolaños de Calatrava	VJ4416	47	"	Socuéllamos	WJ2554
11	"	Daimiel	VJ5330	48	"	Las Mesas	WJ2157
12	"	Arenas de San Juan	VJ5535	49	"	Laguna de Manjavacas	WJ1562
13	"	Llanos del Caudillo	VJ6032	50	"	Mota del Cuervo	WJ1370
14	"	Manzanares	VJ6422	51	"	Pedro Muñoz	WJ0664
15	"	Manzanares	VJ6518	52	"	Campo de Criptana	VJ9262
16	"	Manzanares	VJ5823	53	"	Campo de Criptana	VJ9464
17	"	Manzanares	VJ6315	54	"	El Toboso	VJ9672
18	"	Villanueva de Franco	VJ6680	55	"	Miguel Esteban	VJ7489
19	"	Casero Abertura Consolación	VH6892	56	"	Alcazar de San Juan	VJ7463
20	"	Moral de Calatrava	VH5098	57	"	Herencia	VJ6577
21	"	Santa Cruz de Mudela	VH5286	58	"	Consuegra	VJ4574
22	"	Santa Cruz de Mudela	VH6485	59	"	Mora	VJ3389
23	"	Valdepeñas	VH7086	60	"	Mora	VJ3385
24	"	Valdepeñas	VH6893	61	"	Tembleque	VJ5392
25	"	Valdepeñas	VH5888	62	"	Villacañas	VJ6788
26	"	Valdepeñas	VH6391	63	11-XI-1989	Ocaña	VK6122
27	"	Valdepeñas	VH7192	64	"	Villatobas	VK7117
28	"	Pozo de la Serna	VH7692	65	"	Ermite de Santa Catalina	VK7810
29	"	Alcubillas	VH8590	66	"	Villatobas-Corral de Almaguer	VK8205
30	"	Villanueva de los Infantes	VH9688	67	"	Corral de Almaguer	VJ8692
31	"	Carrizosa	VH9995	68	"	Villanueva de Alcardete	VJ9192
32	10-XI-1989	Alhambra	VJ9804	69	"	Quintanar de la Orden	VJ9584
33	"	Los Almendros	VJ9007	70	"	Quintanar de la Orden	VJ8000
34	"	La Solana	VJ8110	71	"	Venta de Don Quijote	WJ0676
35	"	La Solana-Valdepeñas	VJ7403	72	"	Mota del Cuervo	WJ1572
36	"	La Solana-Valdepeñas	VJ7099	73	"	El Pedernoso	WJ2470
37	"	Membrilla	VJ6610	74	"	Las Pedroñeras	WJ7462

75	11-XI-1989	El Provencio	WJ3657	224	17-XI-1989	Valdepeñas	VH6686
76	"	km 7 Ctra. N 310	WJ2741	225	"	Valdepeñas	VH6496
77	"	km 17 Ctra. N 310	WJ1836	226	"	La Peana	VJ6300
78	"	km 27 Ctra. R 150	WJ0835	227	"	Daimiel	VJ4933
79-105	"	Tomelloso	VJ9937	228	"	Daimiel	VJ3827
106	"	Casa de Marta	VJ9144	229	"	Arenas de San Juan	VJ5136
107	"	Alameda de Cervera	VJ8849	230	"	Casas Altas	VJ5829
108	"	Alcazar de San Juan	VJ8456	231	"	Manzanares	VJ6223
109	"	Villafranca de los Caballeros	VJ7463	232	"	La Solana	VJ7811
110	"	Villafranca de los Caballeros	VJ7070	233	"	La Solana	VJ7904
111	"	Villacañas	VJ7181	234	"	San Carlos del Valle	VH7898
112	"	Lillo	VJ7494	235	"	Valdepeñas	VH6991
113	"	Lillo	VJ6900	236	"	Valdepeñas	VH6693
114	"	La Guardia	VJ6101	237	"	Villanueva de Franco	VJ6604
115	"	Tembleque	VJ5894	238	"	Manzanares	VJ6825
116	"	Turleque	VJ4985	239	"	Monjas	VJ6538
117	"	Madridejos	VJ5175	240	"	Herencia	VJ6857
118-199	"	Tomelloso	VJ9937	241	"	Villarta de San Juan	VJ6847
200	16-XI-1989	Casa de Marta	VJ9443	242	"	Los Taguines	VJ6538
201	"	Casa de Angora	VJ8850	243	"	Llanos del Caudillo	VJ7329
202	"	Alcazar de San Juan	VJ8555	244	"	Llanos del Caudillo	VJ7225
203	"	Villafranca de los Caballeros	VJ7366	245	"	Tomelloso	VJ9835
204	"	Quero	VJ7170	246	18-XI-1989	Tomelloso	WJ0541
205	"	Villacañas	VJ7280	247	"	Socuéllamos	WJ1448
206	"	Villacañas	VJ7392	248	"	Casas de los Arboles	WJ0349
207	"	Lillo	VJ7099	249	"	Arenales de la Moscarda	VJ9951
208	"	La Guardia	VK6202	250	"	Campo de Criptana	VJ9161
209	"	Romeraí	VJ5992	251	"	Campo de Criptana	VJ8969
210	"	Turleque	VJ4984	252	"	Villa de Don Fadrique	VJ8684
211	"	Ventas de Pando	VJ5274	253	"	El Toboso	WJ0171
212	"	Madridejos	VJ5764	254	"	Pedro Muñoz	WJ0462
213	"	Puerto Lápice	VJ5851	255	"	Las Mesas	WJ1462
214	"	Las Labores	VJ5347	256	"	Las Mesas	WJ1855
215	"	Villarrubia de los Ojos	VJ4641	257	"	Socuéllamos	WJ1951
216	"	Villarrubia de los Ojos	VJ3940	258	"	Socuéllamos	WJ1541
217	"	Malagón	VJ2940	259	18-XI-1989	Tomelloso	WJ1432
218	"	Estación FernánCaballero	VJ2424	260	"	Casas de Eugenio	WJ2540
219	"	Carrión de Calatrava	VJ2918	261	"	Villarrobledo	WJ3245
220	"	Almagro	VJ3902	262	"	Villarrobledo	WJ4153
221	17-XI-1989	Moral de Calatrava	VH4897	263	"	El Provencio	WJ3363
222	"	Valdepeñas	VH5892	264	"	El Pedernoso	WJ2072
223	"	Valdepeñas	VH6391	265	"	Mota del Cuervo	WJ0974

266	18-XI-1989	Quintanar de la Orden	VJ9980	309	28-V-1990	San Carlos del Valle	VH7998
267	"	Villanueva de Alcardete	VJ9888	310	"	San Carlos del Valle	VH7904
268	"	Villanueva de Alcardete	VJ9290	311	"	Membrilla	VJ7112
269	"	Cornal de Almaguer	VJ8898	312	"	Manzanares	VJ6820
270	"	Ermita de Santa Catalina	VK7810	313	"	Manzanares	VJ6519
271	28-V-1990	Dos Barrios	VK6018	314	"	Manzanares	VJ6514
272	"	La Guardia	VK5910	315	"	Manzanares	VJ6610
273	"	Tembleque	VJ5899	316	"	Caserío Abertura	VJ6602
274	"	Ventas de Pando	VJ5082	317	"	Caserío Abertura	VJ6598
275	"	Ventas de Pando	VJ5577	318	"	Valdepeñas	VH6791
276	"	Madrirdejos	VJ5566	319	"	La Peana	VH6397
277	"	Puerto Lápice	VJ5760	320	"	La Peana	VJ6201
278	"	Puerto Lápice	VJ5858	321	"	Villanueva de Franco	VJ6105
279	"	Puerto Lápice	VJ5953	322	"	Villanueva de Franco	VJ5809
280	"	Puerto Lápice	VJ5850	323	"	Daimiel	VJ4922
281	"	Las Labores	VJ5549	324	"	Daimiel	VJ5029
282	"	Villarrubia de los Ojos	VJ5044	325	"	Casas Altas	VJ5035
283	"	Villarrubia de los Ojos	VJ4541	326	"	Villarrubia de los Ojos	VJ4938
284	"	Villarrubia de los Ojos	VJ4040	327	"	Casas Altas	VJ5532
285	"	Malagón	VJ2939	328	"	Casas Altas	VJ5926
286	"	Fernáncaballero	VJ2329	329	"	Manzanares	VJ6223
287	"	Carrión de Calatrava	VJ2625	330	"	Manzanares	VJ6420
288	"	Torrálba de Calatrava	VJ3319	331	"	Manzanares	VJ6626
289	"	Torrálba de Calatrava	VJ3715	332	"	Llanos del Caudillo	VJ6811
290	"	Bolaños de Calatrava	VJ4505	333	"	Villarta de San Juan	VJ6440
291	"	Moral de Calatrava	VH5098	334	"	Villarta de San Juan	VJ6347
292	"	Moral de Calatrava	VH5397	335	"	Herencia	VJ6751
293	"	Valdepeñas	VH5893	336	"	Herencia	VJ6955
294	"	Valdepeñas	VH6192	337	"	Herencia	VJ6950
295	"	Valdepeñas	VH6291	338	"	Villarta de San Juan	VJ7045
296	"	Valdepeñas	VH6389	339	"	Los Paquines	VJ7538
297	"	Valdepeñas	VH6395	340	"	Nava	VJ8535
298	"	Caserío Corral Rubio	VH6182	341	"	Navaloscuentos	VJ8227
299	"	Caserío Corral Rubio	VH6481	342	"	Manzanares	VJ7824
300	"	Caserío Encomienda	VH6784	343	"	Manzanares	VJ8222
301	"	Caserío Encomienda	VH5685	344	"	La Solana	VJ7914
302	"	Caserío Encomienda	VH6383	345	"	Argamasilla de Alba	VJ9128
303	"	Caserío Encomienda	VH6484	346	"	Tomelloso	VJ9635
304	"	Caserío Encomienda	VH6383	347	"	Tomelloso	VJ0736
305	"	Valdepeñas	VH6794	348	"	Tomelloso	VJ9838
306	"	Caserío Encomienda	VH6981	349	"	Casa de Marta	VJ9442
307	"	Valdepeñas	VH7191	350	"	Alameda de Cervera	VJ8946
308	"	Pozo de la Serna	VH7892	351	"	Alcazar de San Juan	VJ8553

352	29-V-1990	Alcazar de San Juan	VJ8456	395	29-V-1990	El Provencio	WJ3660
353	"	Alcazar de San Juan	VJ7861	396	"	El Provencio	WJ4351
354	"	Villafranca de los Caballeros	VJ7268	397	"	San Clemente	WJ4954
355	"	Quero	VJ7772	398	"	La Alberca de Zancara	WJ4573
356	"	El Calaminar	VJ7175	399	"	La Alberca de Zancara	WJ4176
357	"	Villacañas	VJ7182	400	"	Rada de Haro	WJ3579
358	"	Villacañas	VJ7288	401	"	Rada de Haro	WJ3182
359	"	Lillo	VJ7393	402	"	Belmonte	WJ2580
360	"	Lillo	VJ7399	403	"	Osa de la Vega	WJ2387
361	"	Ermita Santa Catalina	VK7211	404	"	Osa de la Vega	WJ1888
362	"	Ocaña	VK6421	405	"	Los Hinojosos	WJ1889
363	"	Villatobas	VK7316	406	"	Villamayor de Santiago	WK0601
364	"	Corral de Almaguer	VK7918	407	"	Pozorrubio	WK0308
365	"	Corral de Almaguer	VK8503	408	"	Cabezamesada	VK9509
366	"	Corral de Almaguer	VK8802	409	"	Cueva de Plaza	VK8912
367	"	Quintanar de la Orden	VJ9291	410	"	Santa Cruz de la Zarza	VK8621
368	"	Quintanar de la Orden	VJ9684	411	"	Santa Cruz de la Zarza	VK8325
369	"	Villa de Don Fadrique	VJ8584	412	"	Santa Cruz de la Zarza	VK7822
370	"	Quero	VJ7978	413	"	Villarrubia de Santiago	VK7224
371	"	Miguel Esteban	VJ8574	414	"	Villarrubia de Santiago	VK6929
372	"	Miguel Esteban	VJ8970	415	"	Noblejas	VK6425
373	"	Campo de Criptana	VJ9463	416	"	Ocaña	VK5925
374	"	El Toboso	VJ9870	417	"	Cabañas de Yepes	VK5519
375	"	Venta de El Toboso	WJ0276	418	"	Huerta de Valdecarábanos	VK5014
376	"	Mota del Cuervo	WJ0173	419	"	Yepes	VK4715
377	"	Pedro Muñoz	WJ0666	420	"	Ciruelos	VK4722
378	"	Estación de Rio Zancara	WJ0456				
379	"	Arenales de la Moscarda	VJ9871				
380	"	Tomelloso	WJ0244				
381	"	Tomelloso	WJ1236				
382	"	Casa de Eugenio	WJ2238				
383	"	Villarrobledo	WJ3244				
384	"	Villarrobledo	WJ3750				
385	"	Villarrobledo	WJ3149				
386	"	Socuéllamos	WJ2152				
387	"	Socuéllamos	WJ1951				
388	"	Socuéllamos	WJ1950				
389	"	Socuéllamos	WJ1114				
390	"	Tomelloso	WJ0541				
391	"	Las Mesas	WJ1958				
392	"	Las Mesas	WJ2166				
393	"	Las Pedroñeras	WJ2668				
394	"	Las Pedroñeras	WJ3065				

TABLA IV

RELACION DE MUESTRAS DE SARMIENTOS Y SUELOS RECOGIDAS EN INVIERNO DE 1990

TABLA IV.- RELACION DE MUESTRAS DE SARMIENTOS Y SUELOS RECOGIDAS  
EN EL INVIERNO DE 1990

<u>Nº</u>	<u>Fecha</u>	<u>Localidad</u>	<u>UTM</u>	<u>Suelo</u>
1	12-XII-1990	Cabañas de Yepes	VK5918	
2	"	Dosbarrios	VK5912	
3	"	La Guardia	VK5903	
4	"	Tembleque	VJ5792	
5	"	Ventas de Pando	VJ5683	
6	"	Madridejos	VJ5672	
7	"	Camuñas	VJ5762	
8	"	Puerto Lápice	VJ5955	
9	"	Puerto Lápice	VJ5851	
10	"	Las Labores	VJ5357	
11	"	Villarrubia de los Ojos	VJ4541	
12	"	Fuente El Fresno	VJ3241	
13	"	Fernáncaballero	VJ2332	
14	"	Carrión de Calatrava	VJ2818	
15	"	Carrión de Calatrava	VJ3215	
16	"	Almagro	VJ1808	
17	"	Moral de Calatrava	VH4898	
18	"	Moral de Calatrava	VH5199	
19	"	Valdepeñas	VH5794	
20	"	Valdepeñas	VH6392	
21	"	Valdepeñas	VH6492	
22	"	Valdepeñas	VH6490	
23	"	Caserío Encomienda	VH6385	
24	"	Corral Rubio	VH6281	
25	"	Caserío Encomienda	VH6485	
26	"	Caserío Encomienda	VH6884	
27	"	Valdepeñas	VH6495	
28	"	Valdepeñas	VH6498	
29	"	La Peana	VH6399	
30	"	La Peana	VJ6202	
31	"	Caserío Abertura	VJ6301	
32	"	Daimiel	VJ5119	
33	"	Daimiel	VJ5026	
34	"	Arenas de San Juan	VJ5634	
35	"	Arenas de San Juan	VJ6142	
36	"	Villarta de San Juan	VJ6342	

37	12-XII-1990	Llanos del Caudillo	VJ6629
38	"	Manzanares	VJ6515
39	"	Membrilla	VJ6610
40	"	Valdepeñas	VH6597
41	"	Valdepeñas	VH6692
42	"	Valdepeñas	VH7091
43	"	Pozo de la Serna	VH7893
44	"	San Carlos del Valle	VH7897
45	"	San Carlos del Valle	VJ7904
46	"	La Solana	VJ7911
47	"	La Solana	VJ8219
48	"	Navaloscuentos	VJ8326
49	"	Argamasilla de Alba	VJ8930
50	"	Tomelloso	VJ9634
51	"	Tomelloso	VJ9638
52	"	El Minguillo	VJ9045
53	"	Casa de Bailio	VJ8854
54	"	Alcazar de San Juan	VJ8456
55	"	Alcazar de San Juan	VJ7959
56	"	Herencia	VJ7059
57	"	Villafranca de los Caballeros	VJ6963
58	"	Villafranca de los Caballeros	VJ6968
59	"	Villacañas	VJ7079
60	"	Villacañas	VJ7287
61	"	Lillo	VJ7497
62	"	Lillo	VJ7693
63	"	Villa de Don Fadrique	VJ8185
64	"	Villa de Don Fadrique	VJ8183
65	"	Puebla de Almoradief	VJ9084
66	"	Quintanar de la Orden	VJ9281
67	"	Miguel Esteban	VJ9377
68	"	El Toboso	VJ9876
69	"	El Toboso	VJ9973
70	"	Campo de Criptana	VJ9463
71	"	Pedro Muñóz	VJ9862
72	"	Pedro Muñóz	WJ0558
73	"	Casas de los Arboles	WJ0351
74	"	Tomelloso	WJ0140
75	"	Tomelloso	WJ0338
76	"	Tomelloso	WJ0844
77	"	Socuéllamos	WJ1648

78	12-XII-1990	Socuéllamos	WJ1847
79	"	Socuéllamos	WJ1851
80	"	Socuéllamos	WJ2251
81	"	Socuéllamos	WJ2186
82	"	Socuéllamos	WJ2186
83	"	Las Mesas	WJ1855
84	"	Las Mesas	WJ1959
85	"	Las Pedroñeras	WJ2566
86	"	El Provencio	WJ3656
87	"	Villarrobledo	WJ3448
88	"	Villarrobledo	WJ1143
89	"	Casa de Eugenio	WJ2740
90	"	Casa de Eugenio	WJ2138
91	"	Tomelloso	WJ1536
92	"	Tomelloso	WJ0936
93	"	Tomelloso	WJ0333
94	"	Tomelloso	WJ1130
95	"	Tomelloso	WJ1629
96	"	Casa de Eugenio	WJ2226
97	"	Ossa de Monte	WJ2416
98	"	Munera	WJ3822
99	"	Munera	WJ4222
100	"	Moharras	WJ5335
101	"	La Roca	WJ7234
102	"	La Roca	WJ7141
103	"	La Roca	WJ7141
104	"	Santa Marta	WJ6445
105	"	Casas de Roldán	WJ5550
106	"	Los Estesos	WJ4953
107	"	El Provencio	WJ4356
108	"	El Provencio	WJ3959
109	"	Las Pedroñeras	WJ2964
110	"	Las Pedroñeras	WJ2867
111	"	Santa María de los Llanos	WJ1872
112	"	Mota del Cuervo	WJ1174
113	"	Mota del Cuervo	WJ0576
114	"	Venta de El Toboso	WJ0378
115	"	Quintanar de la Orden	VJ7683
116	"	Villanueva de Alcardete	VJ9290

117	12-XII-1990	Corral de Almaguer	VJ9095
118	"	Corral de Almaguer	VK8402
119	"	Corral de Almaguer	VK8107
120	"	Ermita de Santa Catalina	VK7711
121	"	Villatobas	VK7317
122	"	Ocaña	VK6420
123	"	Ocaña	VK6319

## **VII.2. TABLAS Y MATRICES DE RESULTADOS.**

TABLA V

RESULTADOS DEL MUESTREO PREVIO: NEMATODOS ENCONTRADOS, PRESENCIA/AUSENCIA DE GFLV Y CARACTERISTICAS DEL SUELO.

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arct.	Lino	Text	CO <sub>3</sub>
1	F C	-	5	-	-	-	-	-	5	10	20	-	-	+	8,01	45,6	21,2	33,2	Franco	27,4
		-	-	-	-	15	30	-	-	5	25	30	-	-						
2	-	20	15	-	-	25	25	-	5	15	10	-	15	-	8,06	58,0	19,2	22,8	Franco Arc.	39,2
	-	-	-	-	-	130	40	-	5	125	-	40	-	-						
3	-	-	-	-	-	55	5	-	-	-	-	-	-	-	8,09	52,0	21,2	26,8	Franco Arc.-Ar.	35,3
	-	-	15	-	85	90	-	-	-	-	-	-	-	-						
4	-	-	15	-	-	20	-	-	5	5	10	5	-	-	7,93	30,0	41,2	28,8	Arc.	13,7
	-	5	5	-	-	35	-	-	-	10	-	5	-	-						
5	-	-	10	-	-	85	25	-	-	15	-	-	-	-	8,07	74,0	15,2	10,8	Franco Ar.	17,6
	-	-	5	-	5	60	-	-	-	20	-	-	-	-						
6	-	10	10	+	-	-	-	-	10	10	-	-	-	-	8,03	80,0	11,2	8,8	Franco Ar.	19,6
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5	15	-	-						
7	-	-	15	+	-	-	-	-	-	65	20	-	5	-	8,09	80,0	11,2	8,8	Franco Ar.	19,6
	-	-	-	-	-	15	-	-	-	5	-	-	-	-						
8	-	-	5	+	-	-	-	-	-	35	245	250	10	-	8,06	70,0	17,2	12,8	Franco Ar.	25,5
	-	-	-	-	-	-	5	-	-	65	-	-	-	-						
9	-	-	80	+	-	5	5	-	-	25	-	-	-	-	8,02	57,0	15,2	30,8	Franco Ar.	0,8
	-	-	20	-	-	10	-	-	-	25	25	-	-	-						
10	-	-	20	+	-	-	-	-	-	5	15	-	-	-	7,90	50,0	19,2	30,8	Franco	45,1
	-	-	20	-	-	5	-	-	-	35	5	-	-	-						
11	-	-	105	-	-	-	50	-	-	10	5	-	-	-						
	-	-	100	-	-	5	-	-	-	55	5	-	-	-						
12	-	-	25	-	-	5	-	-	-	30	-	-	-	+						
	-	-	10	-	-	40	-	15	-	-	5	-	-	-						
13	-	-	255	-	-	-	50	-	-	60	15	-	-	-	8,13	46,0	12,8	41,2	Franco	13,7
	-	-	35	-	-	5	30	20	-	115	45	30	-	-						
14	-	-	220	-	-	-	-	-	-	5	5	-	-	-	8,12	60,0	14,8	25,2	Franco Ar.	8,6
	-	-	85	+	-	-	-	10	-	10	-	-	-	-						
15	-	45	90	-	-	-	20	-	-	35	-	-	-	-	8,13	74,0	12,8	23,2	Franco Ar.	7,0
	-	110	215	-	-	-	30	-	10	70	45	-	-	-						
16	-	-	20	-	-	-	-	-	-	50	-	-	-	-						
	-	-	10	-	-	-	-	-	-	60	15	-	-	-						

(\*) En cada muestra la primera fila corresponde a los datos obtenidos por el método de Flegg, la segunda por centrifugación

N°	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylosus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylosid.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub>
17	-	-	70 40	-	-	-	-	-	-	20 50	- 10	- 5	-	-						
18	-	-	80	-	-	-	15	-	-	5 515	5 580	-	-	-						
19	-	-	40 10	-	-	40 25	-	-	-	15 20	95 5	- 20	-	-	7,93	46,0	22,8	31,2	Franco	27,4
20	-	-	35 30	-	-	-	5	5	-	5 15	30 15	- 25	- 20	-	7,93	34,0	26,8	39,2	Franco Arc.	6,2
21	5	-	45	-	-	105 115	15	-	-	-	50	20	-	+	7,65	25,0	26,0	49,0	Franco	19,5
22	-	-	10 50	-	85 360	500 90	25	-	-	-	500	105	-	+	7,97	51,2	22,0	28,8	Franco Arc.-Ar	23,5
23	-	-	- 5	-	-	- 30	5	-	-	-	10	5	-	-	7,87	31,0	32,0	37,0	Franco Arc.	11,8
24	-	-	40 80	-	-	10 120	-	-	10	-	70 15	- 5	- 20	-	8,04	53,2	17,6	29,2	Franco Ar.	27,4
25	-	-	40 180	-	-	40 60	-	-	-	15 25	40 20	- -	- 5	-	7,91	31,2	29,6	39,2	Franco Arc.	31,4
26	-	-	5	-	-	-	45	-	-	30 10	125 35	- 20	-	+	8,15	51,2	21,6	27,2	Franco Arc.-Ar.	39,2
27	-	-	25 20	-	-	5 60	-	-	20 5	90 65	25 15	- 60	-	-	8,13	41,2	29,6	29,2	Franco Arc.	41,2
28	-	-	5	-	-	95 50	30	-	-	800 30	120 10	35 -	- 10	-	8,14	21,2	41,6	37,2	Arc.	37,2
29	10	-	20	-	-	50 100	-	-	10 65	20 80	15 5	10 5	-	-	8,04	29,2	35,6	35,2	Franco Arc.	37,2
30	-	-	40	-	-	5	15	-	110	85 25	1.250	- 5	-	-	8,06	33,6	35,0	31,4	Franco Arc.	29,4
31	-	15	60	-	-	25	170	-	-	-	170	40	-	-	8,20	57,6	19,0	23,4	Franco Ar.	37,6
32	-	40 25	125 5	-	-	-	10	10	-	75 10	-	-	-	-	8,07	43,6	21,0	35,4	Franco	43,1
33	30	-	-	-	-	5 5	20	-	-	-	-	-	-	+	8,17	41,6	43,0	15,4	Arc.	11,8

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub>
34	-	-	60	-	5	25	40	-	-	-	-	-	-	-	6,30	57,6	19,0	23,4	Franco	35,3
	-	-	85	-	-	20	-	-	-	-	-	-	-	-					Ar.	
35	-	35	-	-	-	-	5	-	-	45	10	-	-	-	7,98	60,0	10,8	29,2	Franco	65,3
	-	-	-	-	-	-	-	225	-	25	5	-	-	-					Ar.	
36	95	105	70	-	-	10	-	-	-	35	50	-	10	+	8,18	72,0	12,8	15,2	Franco	27,7
	-	-	5	-	55	-	-	-	-	60	15	100	-	-					Ar.	
37	-	35	20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,17	56,0	8,8	35,2	Franco	72,9
	-	-	10	-	-	-	-	-	-	20	30	-	-	-					Ar.	
38	-	125	110	-	60	-	-	-	-	105	20	-	-	+	7,97	64,0	12,8	23,2	Franco	35,9
	-	-	10	-	-	-	-	-	-	60	5	-	-	-					Ar.	
39	-	10	320	-	-	-	-	-	-	25	5	-	-	-	8,25	70,0	12,8	17,2	Franco	16,3
	-	-	65	-	-	-	-	-	-	20	10	-	-	-					Ar.	
40	-	-	340	-	-	-	-	-	-	160	10	-	-	-	8,02	24,0	42,8	32,2	Arc.	75,9
	-	-	30	-	-	-	-	-	-	35	-	-	-	-						
41	-	15	115	-	-	40	-	-	-	80	65	-	-	-	8,01	26,4	36,4	37,2	Franco	44,9
	-	5	15	-	-	5	-	-	-	15	-	-	-	-					Arc.	
42	-	10	60	-	-	15	-	-	-	15	-	-	25	+	8,04	28,4	42,4	29,2	Arc.	64,5
	-	5	10	-	-	5	-	-	-	-	5	-	-	-						
43	-	-	70	-	-	20	-	-	-	45	-	-	-	-	8,09	26,4	36,8	36,8	Franco	48,1
	-	-	-	-	-	25	-	-	-	-	-	5	-	-					Arc.	
44	-	-	45	-	-	10	-	-	-	10	-	-	-	+	7,86	14,8	52,0	33,2	Arc.	23,5
	-	-	20	-	-	65	-	-	-	30	30	-	-	-						
45	-	-	170	-	-	50	-	-	-	90	25	-	-	-	7,92	20,4	44,2	35,4	Arc.	30,8
	-	-	35	-	-	10	-	10	-	20	5	-	15	-						
46	-	-	140	-	-	15	-	-	-	55	20	-	-	-	7,90	16,0	50,4	33,6	Arc.	27,3
	-	-	5	-	-	20	-	-	-	5	-	-	-	-						
48	-	-	40	-	-	245	-	-	-	65	25	-	5	+	7,98	64,8	20,4	14,8	Franco	25,7
	-	-	15	-	-	460	-	5	-	60	5	-	-	-					Arc.-Ar.	
49	-	30	-	-	-	1.680	40	-	-	290	45	25	-	+	7,99	52,8	18,4	26,8	Franco	30,5
	-	-	-	-	-	1.200	-	10	-	15	20	10	-	-					Arc.-Ar.	
50	-	-	-	-	-	8.000	-	-	-	25	-	-	-	+	7,87	42,4	24,4	33,2	Franco	46,6
	-	-	-	-	-	2.000	-	50	-	35	-	-	-	-						

N <sup>o</sup>	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylcus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GVV	pH	Are.	Arci.	Liso	Text	CO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
51	-	-	-	-	-	70	-	-	-	55	10	-	-	+	8,14	64,4	14,4	21,2	Franco	55,3
	-	-	-	-	-	15	-	-	-	85	30	-	-						Ar.	
52	-	-	65	-	-	40	-	-	-	95	75	10	10	+	8,15	76,4	14,4	9,2	Franco	30,8
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	25	15	-	-						Ar.	
53	-	15	65	-	-	-	35	-	-	85	25	10	-	+	8,11	62,4	20,4	17,2	Franco	45,0
	-	-	-	-	-	-	5	-	-	5	-	-	-						Arc.-Ar.	
54	-	5	25	-	-	10	-	-	-	350	85	5	-	+	8,08	56,4	24,4	19,2	Franco	22,1
	-	-	-	-	-	15	-	-	-	90	50	5	-						Arc.-Ar.	
55	-	-	20	-	-	5	-	-	-	190	-	-	-	+	7,82	34,8	28,0	37,2	Franco	57,4
	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-						Arc.	
56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	190	-	-	-	+	8,28	88,4	6,4	5,2	Ar.	7,6
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						Franco	
57	-	-	40	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	+	8,09	66,4	16,4	17,2	Franco	10,8
	-	-	25	+	-	15	40	-	-	5	15	10	-						Ar.	
58	15	10	5	5	-	10	-	-	-	95	10	-	5	+	8,11	76,8	12,4	10,8	Franco	7,6
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	20	-	-						Ar.	
59	20	-	-	-	-	5	-	-	-	50	5	5	-	-	8,19	72,4	14,4	13,2	Franco	4,9
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	30	-	-						Ar.	
60	-	-	-	-	5	290	-	-	-	30	-	20	-	+	8,08	60,8	20,0	19,2	Franco	24,3
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						Arc.-Ar.	
61	5	-	15	-	-	-	-	-	-	60	5	-	-	+	8,06	32,4	36,4	31,2	Franco	44,4
	-	-	10	-	70	65	-	-	-	5	-	5	-						Arc.	
62	20	-	5	-	-	125	-	-	-	75	-	20	-	+	8,11	34,0	44,4	21,6	Arc.	11,6
	-	-	-	-	-	140	-	-	5	15	-	30	-							
63	-	-	15	-	-	30	-	-	-	45	-	-	10	-	8,09	32,0	46,4	21,6	Franco	13,0
	-	-	5	-	140	45	-	-	-	-	-	5	-						Arc.	
64	-	-	5	-	-	20	-	-	-	25	-	-	-	+	8,14	46,0	28,4	21,6	Franco	49,1
	-	-	10	-	5	10	-	-	-	20	-	5	-						Arc.-Ar.	
65	5	-	15	-	-	10	-	-	-	15	5	-	-	+	8,15	50,0	24,4	25,6	Franco	14,3
	10	-	10	-	-	15	-	5	-	5	5	-	-						Arc.-Ar.	
66	-	5	20	-	-	10	-	-	-	20	10	5	-	+	7,71	36,0	32,4	31,6	Franco	29,6
	-	-	15	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-						Arc.	
67	5	-	-	-	-	-	10	-	-	5	-	-	-	-	7,74	48,0	22,4	29,6	Franco	8,9
	-	-	5	-	-	5	-	-	-	5	20	-	-							

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arce.	Limo	Text	CO <sub>3</sub>
68	30	-	20	-	-	160	15	-	-	5	-	-	10	+	7,94	42,4	30,4	27,2	Franco	1,5
	-	-	-	-	-	35	-	-	-	15	-	-	-						Arc.	
69	-	-	15	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	8,05	56,4	20,4	23,2	Franco	45,0
	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	25	5	-						Arc.-Ar.	
70	-	-	20	-	-	40	-	-	-	30	15	-	-	+	7,98	60,4	26,4	23,2	Franco	17,8
	-	-	10	-	-	60	-	-	-	-	5	5	-						Arc.-Ar.	
71	20	-	10	-	-	65	-	-	-	25	15	-	-	+	8,03	54,0	26,4	19,6	Franco	15,6
	-	-	10	-	-	10	-	-	-	-	15	-	5						Arc.-Ar.	
72	-	-	20	-	-	60	-	-	-	20	-	-	-	+	8,03	56,0	18,4	25,6	Franco	11,0
	-	-	-	+	10	15	-	-	-	15	-	-	-						Ar.	
73	-	-	10	-	-	-	-	-	-	15	5	-	-	+	8,06	64,0	20,4	15,6	Franco	30,5
	-	-	5	-	-	80	-	-	5	15	5	-	-						Arc.-Ar.	
74	-	-	5	-	20	50	15	-	-	15	20	-	-	+	7,93	58,0	24,4	17,6	Franco	20,5
	-	-	-	-	-	30	-	-	-	10	10	10	-						Arc.-Ar.	
75	-	-	70	-	-	85	-	-	-	40	15	-	-	-	7,79	34,0	38,4	27,6	Franco	19,7
	-	-	45	-	-	100	-	-	-	45	35	-	-						Arc.	
76	-	-	-	-	-	105	-	-	-	20	-	-	-	+	7,93	46,4	28,4	25,2	Franco	30,3
	-	-	35	-	-	350	-	-	-	35	-	-	-						Arc.-Ar.	
77	-	-	5	-	-	30	-	-	-	-	-	-	-	+	7,81	30,4	2,4	67,2	Franco	28,4
	-	-	15	+	-	45	-	-	-	15	-	-	-						Lim.	
78	-	-	-	-	5	410	460	5	5	70	20	-	15	+	4,71	71,6	9,6	18,8	Franco	-
	-	-	-	-	90	165	-	-	10	55	5	5	-						Ar.	
79	-	55	150	-	15	185	-	-	30	95	40	-	-	+	4,58	69,6	9,6	20,8	Franco	-
	-	-	640	-	440	200	-	-	10	180	-	10	-						Ar.	
80	-	-	10	-	-	5	-	-	20	50	10	-	-	+	6,45	75,6	6,0	18,4	Ar.	-
	-	-	5	10	5	-	-	-	15	35	-	10	-						Franco	
81	-	-	50	-	100	455	-	-	20	75	20	-	-	-	4,89	57,6	18,0	24,4	Franco	-
	-	-	5	-	100	150	-	5	15	40	45	-	-						Ar.	
82	10	5	20	-	-	505	315	-	10	45	25	-	-	+	6,90	67,6	8,0	24,4	Franco	-
	5	-	15	-	5	240	-	-	-	100	-	-	20						Ar.	
83	125	-	-	-	5	500	-	-	15	80	-	-	-	-	7,01	61,6	8,0	30,4	Franco	-
	120	-	25	-	20	200	-	-	20	220	-	-	15						Ar.	
84	40	-	55	-	-	55	70	-	-	20	20	-	-	+	5,93	65,6	10,0	24,4	Franco	-
	50	-	20	-	-	125	-	-	-	-	-	5	-						Ar.	

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub>
85	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	50 10	-	-	-	4,69	59,6	6,0	34,4	Franco Ar.	-
86	-	-	40 10	-	-	55 10	-	-	10	5	10	-	-	-	5,28	55,6	16,0	28,4	Franco Ar.	-
87	-	-	-	-	-	20	-	-	25	5	25	5	-	-	-	-	-	-	-	-
88	-	-	25	-	-	5	-	-	-	30	-	-	-	-	3,98	55,6	22,0	22,4	Franco Arc.-Ar.	-
89	-	-	-	-	-	45 15	-	5	5	-	-	5	-	-	4,84	75,2	10,0	14,8	Franco Ar.	-
90	-	-	-	-	15 70	175 120	15	-	-	35	25	-	-	-	5,23	55,2	6,8	38,0	Franco Ar.	-
91	-	-	45	-	65 110	-	-	20	-	45	20	-	5	-	4,81	65,2	12,0	22,8	Franco Ar.	-
92	-	-	-	-	-	40 30	-	-	-	25	-	-	-	+	4,13	55,2	12,8	32,0	Franco Ar.	-
93	-	-	10	-	-	15	-	-	-	10	-	5	-	+	4,90	73,6	8,4	18,0	Franco Ar.	-
94	-	-	35 80	-	-	25 30	-	-	-	10	10	-	-	-	7,92	48,0	28,4	23,6	Franco Arc.-Ar.	44,5
95	-	-	15 10	5 +	-	10	-	-	-	70	5	5	-	-	8,08	61,6	20,4	18,0	Franco Arc.-Ar.	22,9
96	-	-	- 20	-	-	60 55	20	-	-	40	20	-	-	-	8,12	52,0	28,4	19,6	Franco Arc.-Ar.	22,0
97	-	-	-	-	-	15	-	5	30	30	10	15	-	-	6,25	46,4	22,4	31,2	Franco	-
98	-	-	5 25	-	-	-	10	-	5	75	35	15	-	-	5,76	60,0	16,4	23,6	Franco Ar.	-
99	10	-	5	-	-	45 200	-	-	-	25	-	-	-	+	7,98	22,4	20,0	27,6	Franco Arc.-Ar.	54,7
100	-	-	5 5	- +	-	25	-	-	5	35	10	-	-	-	7,86	48,8	21,6	29,6	Franco	62,4

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
101	-	-	5	-	-	55	-	-	-	15	5	-	-	-	7,79	27,2	49,6	33,2	Arc.	23,9
	-	-	5	-	-	160	-	-	-	10	-	-	-	-						
102	-	-	-	-	-	55	-	-	-	10	5	-	-	-	7,98	35,2	35,2	29,6	Franco	52,5
	-	-	15	-	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-					Ar.	
103	75	-	75	-	-	10	-	-	-	25	-	-	-	-	8,03	71,2	15,6	13,2	Franco	18,2
	15	-	15	-	-	15	-	-	-	10	10	-	-	-					Ar.	
104	5	-	-	-	-	95	-	-	-	15	-	-	-	-	7,81	45,6	33,2	21,2	Franco	8,4
	5	-	-	-	-	240	-	-	-	5	5	-	-	-					Arc.-Ar.	
105	-	-	5	-	-	5	-	-	-	25	10	-	-	-	5,41	73,6	11,6	14,8	Franco	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	35	-	-	-	-					Ar.	
106	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,65	48,4	27,6	24,0	Franco	Ind.
	-	-	-	-	-	15	-	-	-	25	-	-	-	-					Arc.-Ar.	
107	-	-	-	-	-	30	-	-	-	55	5	-	10	-	6,61	50,4	17,6	32,0	Franco	-
	-	-	5	-	-	-	-	-	-	20	5	-	-	-						
108	-	-	20	-	-	-	-	-	-	15	-	-	5	-	7,72	32,8	47,6	19,6	Arc.	3,3
	-	-	55	-	-	-	-	-	-	40	40	-	-	-						
109	-	-	-	-	-	55	-	-	-	5	15	-	-	-	7,88	32,8	47,2	20,0	Arc.	29,2
	-	-	-	-	-	1.850	-	20	-	15	15	15	-	-						
110	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	8,01	55,8	19,2	22,0	Franco	14,5
	-	-	5	-	5	150	-	30	-	30	30	125	-	-					Ar.	
111	-	-	10	-	-	5	-	-	-	5	30	-	-	-	7,98	56,8	27,2	16,0	Franco	3,5
	-	-	25	-	5	110	-	5	-	30	10	-	-	-					Arc.-Ar.	
112	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	8,01	25,2	21,2	53,6	Franco	23,2
	-	-	-	+	-	10	-	-	-	-	10	-	-	-					Lim.	
113	-	-	-	-	-	25	-	-	-	10	5	-	-	-	8,01	32,8	37,2	30,0	Franco	56,1
	-	-	-	-	10	60	-	-	-	5	15	-	-	-					Ar.	
114	-	-	-	-	-	30	-	-	-	70	-	-	-	-	7,94	35,2	33,2	31,6	Franco	50,5
	-	-	5	-	20	45	-	-	-	45	10	20	-	-					Ar.	
115	-	-	-	-	-	175	-	-	5	5	15	-	-	-	7,72	59,2	27,2	13,6	Franco	7,4
	-	-	15	-	10	100	-	15	20	60	40	80	-	-					Arc.-Ar.	
116	-	-	-	-	-	135	-	-	-	-	-	-	-	-	7,98	40,8	35,6	23,6	Franco	57,8
	-	-	45	-	-	140	-	-	-	-	-	-	-	-					Ar.	

N°	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylcus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pff	Are.	Arcl.	limo	Text	CO <sub>3</sub>
117	-	-	-	-	-	5 15	10 20	-	-	-	-	-	-	-	8,07	38,8	47,2	14,0	Arc.	46,1
118	-	-	- 35	-	-	25 75	-	-	-	-	-	-	-	-	8,09	40,8	31,2	28,0	Franco Arc.	36,3
119	-	-	- 25	-	-	55 70	-	-	-	-	-	-	-	-	7,92	47,2	21,2	31,6	Franco	48,3
120	-	-	-	-	-	55 125	-	-	-	60 10	40 55	5	-	+	7,37	75,2	11,2	13,6	Franco Ar.	6,3
121	5	-	10	-	-	- 25	-	-	-	45 15	20 105	5	-	-	7,73	69,6	13,2	17,2	Franco Ar.	10,7
122	-	-	10	+	-	15	-	-	-	40	10	-	10	+	7,79	57,6	21,2	21,2	Franco Arc.-Ar.	28,3
123	-	-	10 5	-	-	55 40	-	-	-	75 55	5 10	10 15	-	-	7,96	74,8	10,0	7,2	Franco Ar.	1,2
124	-	-	10	-	-	20 125	-	-	-	25 25	5 40	5 30	-	+	7,95	38,8	28,0	33,2	Franco Arc.	54,8
125	-	-	- 5	-	-	130 1.200	-	-	-	35 40	20 10	-	-	+	7,89	26,8	44,0	29,2	Arc.	54,8
126	-	-	5 10	-	-	55 20	-	-	-	15 15	20 5	-	-	+	8,05	29,2	33,6	37,2	Franco Arc.	36,8
127	-	-	5 10	-	-	15	-	-	-	-	20 40	-	5	-	8,00	55,2	17,6	27,2	Franco Ar.	37,1
128	-	-	10	-	-	5 10	-	-	-	30	-	10	-	-	8,12	59,2	21,6	19,2	Franco Arc.-Ar.	21,9
129	-	-	105 110	-	-	5	-	-	-	10 75	15 5	5	-	-	8,10	39,2	23,6	37,2	Franco	46,4
130	-	-	15	+	-	10	-	-	-	20	35	-	-	-	7,99	69,2	11,6	19,2	Franco Ar.	36,8
131	-	-	-	-	-	35	-	-	-	10 35	5 60	-	-	+	8,09	45,2	27,6	27,2	Franco Arc.-Ar.	43,5
132	-	-	5 10	-	-	-	-	-	-	55 60	10 30	-	-	-	7,91	68,8	13,6	17,6	Franco Ar.	46,9

N°	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylcus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GrV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub>
133	-	-	10	+	-	-	-	-	-	25	20	-	-	-	8,07	68,8	15,2	16,0	Franco Ar.	46,9
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-						
134	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	5	-	-	-	8,15	60,8	17,2	22,0	Franco Ar.	64,0
	-	-	-	-	-	85	-	-	-	20	35	-	-	-						
135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	20	-	-	-	8,24	67,2	17,2	15,6	Franco Ar.	56,0
	-	-	-	-	15	25	-	-	-	15	25	-	-	-						
136	10	-	-	+	-	5	-	-	-	20	-	-	-	+	7,43	8,92	5,2	5,6	Ar.	Ind.
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
136	-	-	5	-	15	-	-	-	-	40	10	-	-	+	7,88	73,6	13,2	13,2	Franco Ar.	2,1
	-	-	-	-	315	-	5	-	-	-	-	-	-	-						
137	-	-	-	-	-	65	-	-	10	65	35	5	-	-	7,75	39,6	35,2	25,2	Franco Arc.	21,6
	-	-	-	-	-	55	-	-	-	-	-	-	-	-						
138	-	10	5	-	-	20	-	-	20	120	30	-	5	+	8,11	41,6	27,2	31,2	Franco Arc.	59,0
	-	-	20	-	40	70	-	45	-	-	-	-	-	-						
139	-	-	-	-	-	5	5	-	-	40	15	5	-	-	7,65	26,0	41,6	32,4	Arc.	52,9
	-	-	5	-	30	5	-	10	-	-	-	-	-	-						
140	-	-	-	-	-	80	-	-	35	60	-	15	10	-	7,63	42,0	29,6	28,4	Franco Arc.	60,8
	-	-	25	-	-	15	-	20	-	-	-	-	-	-						
141	-	-	15	-	5	250	5	-	-	75	5	55	-	+	7,97	79,8	9,6	10,6	Ar. Franca	15,7
	-	-	-	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-						
142	-	-	5	-	-	205	-	-	-	45	25	5	15	+	7,33	37,8	37,6	24,6	Franco Arc.	19,6
	-	-	5	-	10	215	-	10	-	10	10	10	-	-						
143	5	5	50	-	-	10	-	-	-	-	15	-	-	-	7,91	45,8	21,6	32,6	Franco	49,0
	-	5	100	-	-	20	-	-	-	30	5	15	-	-						
144	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	40	30	-	-	4,44	21,8	21,6	56,6	Franco Lim.	-
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-						
145	-	-	-	-	-	220	-	-	5	55	65	10	-	-	5,76	21,8	25,6	52,6	Franco Lim.	-
	-	-	-	-	-	10	-	75	-	-	10	-	-	-						
146	-	-	5	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	4,26	53,8	17,6	28,6	Franco Ar.	-
	-	-	-	-	25	5	-	-	-	-	-	-	-	-						
147	-	15	-	-	-	105	-	-	20	80	-	-	-	+	5,29	57,6	9,6	32,8	Franco Ar.	-
	-	-	-	-	5	65	-	-	15	25	25	10	-	-						



Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylcus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arcl.	Limo	Text	CO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	
165	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-	35	5	-	-	5,19	51,6	9,6	38,8	Franco Ar.	-	
166	-	-	130	-	-	-	-	-	-	30	15	10	-	-	4,16	45,8	9,6	44,6	Franco	-	
167	-	-	30	-	-	5	-	-	5	15	15	-	-	-	4,82	31,8	17,6	50,6	Franco Lim.	-	
168	-	-	25	-	25	15	-	-	10	40	-	-	-	-	5,08	45,6	17,6	36,8	Franco	-	
170	-	-	25	-	-	-	-	-	25	85	-	-	-	-	4,92	61,6	9,6	28,8	Franco Ar.	-	
171	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	20	-	-	-	7,82	55,6	21,6	22,8	Franco Arc.-Ar.	18,4	
	-	-	45	-	80	85	-	-	-	25	-	25	-	-							
172	-	-	-	-	-	10	-	-	-	5	-	-	-	-	7,89	51,6	18,0	30,4	Franco Ar.	-	
	-	-	50	-	-	275	-	25	-	40	20	20	-	-							
173	-	-	-	-	-	-	-	-	5	40	5	-	-	-							
	-	-	15	-	-	15	-	-	10	15	-	-	-	-							
174	-	-	30	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	8,05	47,6	21,6	30,8	Franco	33,3	
	-	-	30	-	-	15	-	-	-	25	40	-	-	-							
175	20	10	15	-	-	10	-	-	-	65	-	10	-	-	8,04	71,6	12,0	8,4	Franco Ar.	7,8	
	5	-	-	-	5	-	-	-	-	15	-	500	-	-							
176	-	-	35	-	-	5	-	-	-	-	25	-	-	-	8,05	53,6	22,0	24,4	Franco Arc.-Ar.	19,6	
	-	50	100	-	-	70	-	-	5	145	45	35	-	-							
177	-	-	5	-	-	65	-	-	-	25	15	-	-	-	8,18	51,6	22,0	20,4	Franco Arc.-Ar.	17,6	
	-	-	130	-	130	15	-	155	-	200	70	30	-	-							
178	-	-	10	-	-	10	-	-	-	35	15	5	-	-	8,06	55,6	22,0	22,4	Franco Arc.-Ar.	39,2	
	-	25	10	-	165	35	-	40	-	360	15	25	-	-							
179	-	-	-	-	-	5	-	-	-	5	-	-	-	-	8,15	59,6	18,0	22,4	Franco Ar.	16,9	
	-	-	30	-	-	35	5	-	10	180	5	10	-	-							
180	-	-	-	-	-	15	-	-	-	35	25	-	5	-	8,17	19,6	16,0	24,4	Franco Ar.	25,4	
	-	-	5	-	-	15	-	580	-	200	60	30	-	-							
181	-	-	25	-	-	-	-	-	-	35	10	-	-	-	8,07	55,6	20,0	24,4	Franco Arc.-Ar.	50,9	
	-	10	30	-	-	-	-	170	-	600	-	-	-	-							

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	CFV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub>
182	-	-	15	-	-	5	-	-	-	-	15	-	-	-	8,16	53,6	18,0	28,4	Franco	11,8
	-	-	150	-	-	15	-	-	-	280	45	20	-	-					Ar.	
183	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	8,20	61,6	18,0	20,4	Franco	19,6
	-	-	10	-	-	-	-	-	-	40	65	10	-	-					Ar.	
184	-	85	165	-	-	10	-	10	-	35	20	-	5	-	8,10	53,2	20,0	26,8	Franco	43,1
	-	-	360	-	-	-	-	-	-	300	10	-	-	-					Arc.-Ar.	
185	-	-	10	-	-	65	-	-	-	10	5	-	-	-	8,14	51,2	22,0	26,8	Franco	39,2
	-	-	10	-	-	105	-	-	-	140	-	-	-	-					Arc.-Ar.	
186	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	10	-	-	-	8,10	57,2	20,0	22,8	Franco	47,0
	-	15	55	-	-	-	-	-	-	35	45	-	-	-					Arc.-Ar.	
187	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	10	-	-	-	8,30	53,2	20,0	26,8	Franco	45,1
	-	5	135	-	-	125	-	-	-	145	-	-	-	-					Arc.-Ar.	
188	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,01	51,2	28,0	20,8	Franco	31,4
	-	-	65	-	-	15	-	-	-	45	5	-	-	-					Arc.-Ar.	
189	-	15	10	-	-	-	-	-	-	10	10	-	-	-	8,21	47,2	24,0	28,8	Franco	25,5
	-	-	65	-	-	25	-	5	-	80	50	-	-	-						
190	-	-	5	-	-	5	-	-	-	10	5	-	-	-	8,24	49,2	26,0	24,8	Franco	3,9
	-	-	30	-	-	15	-	-	-	5	15	-	-	-					Arc.-Ar.	
191	-	-	-	-	-	20	-	-	-	5	-	-	-	-	8,21	51,2	26,0	22,8	Franco	15,7
	-	-	160	-	35	200	-	-	-	180	130	-	5	-					Arc.-Ar.	
192	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	5	-	-	-	8,15	49,2	30,0	20,8	Franco	3,1
	-	-	30	-	-	25	-	10	-	110	40	15	-	-					Arc.-Ar.	
193	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	25	-	-	-	7,84	45,2	34,4	20,4	Arc.	12,5
	-	-	15	-	-	45	-	-	10	40	40	-	-	-					Ar.	
194	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	5	-	-	+	7,82	53,2	24,4	22,4	Franco	21,6
	-	-	20	-	-	35	-	-	-	60	30	-	-	-					Arc.-Ar.	
195	-	-	-	-	-	50	-	-	-	40	15	-	5	-	7,85	51,0	30,4	18,6	Franco	18,4
	-	-	380	-	-	340	-	-	20	380	25	20	-	-					Arc.-Ar.	
196	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	+	7,85	51,2	26,4	22,4	Franco	24,3
	-	15	130	-	-	10	-	-	-	290	25	-	-	-					Arc.-Ar.	
197	-	-	10	-	-	-	-	-	-	45	5	-	-	-	7,92	51,2	22,4	26,4	Franco	23,5
	-	-	40	-	-	5	-	-	-	460	5	-	-	-					Arc.-Ar.	

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tyicus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub> <sup>--</sup>
198	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15	-	-	-	6,63	77,2	12,4	10,4	Franco Arc.	-
	-	-	10	-	-	20	-	35	10	230	70	-	-	-						
199	-	-	20	-	-	-	-	-	5	5	-	-	-	-	7,85	39,2	36,0	24,8	Franco Arc.	21,6
	-	-	400	-	-	-	-	-	340	25	-	-	-	-						
200	10	-	20	-	-	10	-	-	10	5	-	-	-	-	7,77	35,2	34,0	30,8	Franco Arc.	43,1
	-	-	-	-	-	-	-	-	340	-	-	-	-	-						
201	-	-	15	-	-	45	-	-	5	40	10	-	-	-	7,92	43,2	40	16,8	Arc.	1,9
	-	-	20	-	-	20	-	-	-	55	20	-	-	-						
202	-	-	5	-	-	65	-	-	-	-	-	-	-	-	7,89	33,2	38,0	28,8	Franco Arc.	25,5
	-	-	-	-	5	30	-	-	5	45	15	-	-	-						
203	-	-	5	-	-	15	-	-	-	20	-	-	-	-	7,78	18,0	52,4	29,6	Arc.	17,6
	-	-	-	-	-	40	-	-	-	90	-	-	-	-						
204	-	15	10	-	-	-	-	-	-	5	5	-	-	-	7,76	40,4	30,4	29,2	Franco Arc.	58,8
	-	10	10	-	-	-	-	-	-	25	5	-	-	-						
205	-	-	15	-	-	45	-	-	-	45	-	-	-	-	8,05	48,4	30,4	21,2	Franco Arc.-Ar.	31,4
	-	-	40	-	65	40	-	25	-	70	30	5	-	-						
206	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	7,68	54,4	28,4	17,2	Franco Arc.-Ar.	-
	-	-	40	-	-	35	-	-	10	55	30	5	-	-						
207	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,04	38,4	22,4	29,2	Franco Arc.	39,2
	-	-	55	-	-	-	-	-	-	95	-	5	-	-						
208	-	-	-	-	-	15	-	-	-	5	-	-	-	-	8,04	42,4	28,4	29,2	Franco Arc.	43,1
	-	-	350	-	-	180	-	5	-	60	-	-	20	-						
209	-	-	-	-	-	10	-	-	-	15	10	-	-	-	8,11	60,4	20,4	19,2	Franco Arc.-Ar.	21,6
	-	-	70	-	-	20	-	60	-	60	85	-	-	-						
210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	8,06	60,4	20,4	19,2	Franco Arc.-Ar.	19,6
	-	15	-	-	-	-	-	-	-	10	5	5	-	-						
211	-	-	10	-	-	5	-	-	-	10	-	-	-	-	8,17	50,4	30,4	19,2	Franco Arc.-Ar.	11,8
	-	-	5	-	-	20	-	-	-	25	20	-	-	-						
212	-	-	5	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	7,79	62,8	20,0	17,2	Franco Arc.-Ar.	16,6
	-	65	80	-	-	15	-	-	-	165	10	-	-	-						
213	-	-	5	-	-	15	-	-	-	10	5	-	-	-	7,95	65,0	24,0	11,0	Franco Arc.-Ar.	62,4
	-	-	20	-	-	60	-	-	-	60	40	-	-	-						

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub>
214	-	35	125	-	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	7,86	57,0	26,0	17,0	Franco	74,9
	-	30	85	-	-	40	5	-	-	90	75	200	-	-					Arc.-Ar.	
215	-	-	5	-	-	5	-	-	-	20	-	-	5	-	7,99	68,8	20,0	11,2	Franco	31,2
	-	-	-	-	-	65	-	-	-	10	25	-	-	-					Arc.-Ar.	
216	-	-	-	-	-	20	-	-	-	100	20	-	-	-	8,09	79,0	14,0	7,0	Franco	< 1%
	-	-	-	-	-	5	-	-	-	195	90	-	-	-					Ar.	
217	5	-	5	-	-	-	-	-	-	15	25	-	-	+	7,98	63,0	18,0	19,0	Franco	5,5
	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	35	-	-	-					Ar.	
218	5	25	10	-	-	-	-	-	-	80	15	-	-	-	7,90	61,0	24,0	15,0	Franco	47,8
	-	-	10	-	-	-	-	5	-	45	5	-	-	-					Arc.-Ar.	
219	-	5	15	-	-	5	-	-	-	20	-	-	-	-	7,77	77,0	20,0	3,0	Franco	12,5
	5	-	5	-	-	30	-	-	-	80	10	-	-	-					Arc.-Ar.	
220	-	-	10	-	-	5	-	-	-	30	10	-	-	-	7,86	49,0	34,0	17,0	Franco	31,2
	-	-	20	-	-	15	-	10	-	55	-	-	-	-					Arc.-Ar.	
221	5	-	15	-	-	5	-	-	-	15	-	-	-	+	8,11	67,0	22,0	11,0	Franco	16,6
	-	-	60	-	30	-	-	15	-	220	25	190	5	-					Arc.-Ar.	
222	-	20	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	7,93	49,0	24,0	27,0	Franco	43,7
	-	120	-	-	-	-	-	-	-	85	35	-	-	-					Arc.-Ar.	
223	-	5	-	-	-	5	-	-	-	50	10	-	-	-	7,98	50,8	22,0	27,2	Franco	58,2
	-	-	70	-	-	30	-	10	-	170	-	-	-	-					Arc.-Ar.	
224	-	-	-	-	-	-	-	-	-	45	10	-	-	-	7,99	50,8	30,0	19,2	Franco	33,3
	-	-	25	-	15	40	-	5	-	100	50	-	-	-					Arc.-Ar.	
225	-	5	15	-	-	-	-	-	-	25	-	-	-	-	8,01	54,8	24,0	21,2	Franco	22,9
	-	5	50	-	-	60	-	100	-	125	-	-	-	-					Arc.-Ar.	
226	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	7,97	79,0	20,0	1,0	Franco	< 1%
	-	-	-	-	5	5	-	10	-	45	14	-	-	-					Arc.-Ar.	
227	-	25	30	-	-	10	-	-	-	40	-	-	-	-	8,00	31,0	30,0	39,0	Franco	54,1
	-	5	15	-	-	25	-	85	-	145	15	-	-	-					Ar.	
228	-	-	65	-	-	5	-	-	-	25	-	-	-	-	7,96	33,0	30,0	37,0	Franco	25,0
	-	-	600	-	-	180	-	35	-	100	100	60	-	-					Ar.	
229	-	30	20	-	-	-	-	-	-	30	5	-	-	-	8,03	53,0	22,0	25	Franco	6,2
	-	20	50	-	-	25	-	-	-	65	25	-	10	-					Arc.-Ar.	
230	-	10	35	-	-	-	-	-	-	25	-	-	-	-	8,01	63,0	20,0	17,0	Franco	16,6
	-	15	30	-	-	10	-	35	-	65	5	-	-	-					Arc.-Ar.	

Nº	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylcus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Are.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub>
231	-	20 15	30 75	-	-	- 10	-	- 5	-	15 65	10 5	5	-	-	8,03	33,0	30,0	37,0	Franco Arc.	45,8
232	-	-	50 140	-	-	-	-	-	-	80 65	- 25	-	-	-	7,99	35,0	26,0	39,0	Franco	35,4
233	-	- 5	35 90	-	- 45	- 55	-	-	- 15	40 120	10 45	-	-	-	7,49	36,0	26,4	37,6	Franco	25,0
234	-	-	- 5	-	-	20 45	-	-	-	45 30	- 25	-	-	-	7,50	32,2	26,4	41,4	Franco Arc.	45,8
235	-	-	50 75	-	-	- 5	-	-	-	10 45	10 15	-	-	-	7,65	74,8	14,4	10,8	Franco Ar.	12,5
236	-	- 15	15 55	-	5	40 170	-	-	-	15 15	- 140	-	-	-	7,62	41,0	32,0	27,0	Franco Arc.	1,7
237	-	-	30 40	-	-	15 55	-	-	-	55 70	-	-	-	-	7,70	43,0	32,0	25,0	Franco Arc.	56,2
238	-	-	420 105	-	-	-	15 5	-	-	70 80	20 20	-	-	-	7,68	45,0	24,0	31	Franco	25,0
239	-	-	20	-	-	30 5	-	-	-	60 50	5 5	5	-	+	7,72	35,0	38,0	27,0	Franco Arc.	25,0
240	-	- 40	-	-	20 45	- 35	-	-	-	195 320	20 30	25	-	-	7,70	61,0	24,0	15,0	Franco Arc.-Ar.	54,0
241	-	-	60 10	-	-	55 15	-	-	20	90 30	10	-	-	-	7,71	63,0	20,0	17,0	Franco Arc.-Ar.	18,7
242	-	-	70 5	-	-	100 40	-	-	15	105 40	50	- 70	-	-	7,71	69,0	16,0	15,0	Franco Ar.	16,6
243	-	- 10	5 10	-	-	10 160	-	- 5	-	10 60	- 20	- 5	-	-	7,71	44,8	30,0	25,2	Franco Arc.-Ar.	37,4
244	-	20 20	20 25	-	-	5 15	-	-	-	35 75	25	-	-	-	7,80	70,8	16,0	13,2	Franco Ar.	12,5
245	130 620	45 5	-	-	-	-	-	-	- 5	10 30	- 15	-	-	+	7,75	79,0	12,0	9,0	Franco Ar.	3,3
246	-	-	145 1.700	-	-	-	-	-	-	30 360	5	-	-	-	7,71	65,0	20,0	15,0	Franco Arc.-Ar.	43,7
247	-	-	5 45	-	-	-	-	-	-	15 65	5 10	- 10	-	-	7,62	54,8	20,0	25,2	Franco Arc.-Ar.	62,4

N°	X. ind.	X. it.	X. pach.	Mel.	Cri.	Hopl.	Tylcus.	Para.	Mon.	Dor.	Rh.	Tylus.	Aph.	GFV	pH	Arc.	Arci.	Limo	Text	CO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
248	-	-	20	-	-	75	-	-	-	20	-	-	-	-	7,74	41,0	30,0	29,0	Franco	27,0
		5	20	-	-	185	-	-	5	25	10	-	-	-					Arc.	
249	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5	-	-	-	8,20	64,8	15,2	20,0	Franco	56,2
										15	75	-	-	-					Arc.	
250	5	-	20	-	-	-	-	-	10	10	20	-	-	+	8,17	76,8	13,2	10,0	Franco	22,9
			5	-	-	-	-	10	-	10	75	-	-	-					Arc.	
251	-	-	15	-	-	-	-	-	-	20	25	-	5	-	8,13	52,8	21,2	26,0	Franco	27,0
			210	-	-	-	-	20	-	25	100	15	-	-					Arc.-Ar.	
252	-	-	5	-	-	-	-	-	-	10	5	-	-	+	7,84	80,8	11,2	8,0	Franco	14,6
			5	-	-	-	-	-	-	10	15	-	-	-					Arc.	
253	-	20	20	-	-	-	-	-	-	10	-	-	-	-	8,12	44,8	19,2	36,0	Franco	60,3
		25	75	-	-	-	-	-	-	10	35	5	-	-						
254	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,16	39,2	25,2	35,6	Franco	47,8
			130	-	-	-	100	-	-	100	280	15	-	-						
255	-	10	25	-	-	-	5	-	-	35	40	-	-	-	7,75	51,2	3,2	45,6	Franco	64,5
		45	50	-	-	-	5	-	-	45	70	-	-	-					Arc.	
256	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7,66	39,2	3,2	57,6	Franco	56,2
		5	55	-	5	-	5	-	-	15	95	5	-	-					Lim.	
257	-	35	35	-	-	-	-	-	-	5	10	-	-	-	8,17	38,8	29,6	31,6	Franco	29,5
		55	100	-	-	-	-	-	-	100	5	-	-	-					Arc.	
258	-	-	-	-	-	-	15	-	-	10	5	-	-	-	7,90	40,8	27,6	31,6	Franco	12,5
			30	15	10	170	25	30	-	20	10	10	-	-					Arc.	
259	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8,19	39,2	37,6	33,2	Franco	49,9
			75	-	-	60	-	10	5	50	30	-	-	-					Arc.	
260	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	8,27	39,2	31,6	29,2	Franco	16,6
			10	-	-	105	-	-	-	40	30	10	-	-					Arc.	

TABLA VI

RESULTADOS DEL MUESTREO GENERAL. VALORES DE ELISA TOMADOS A 1 HORA.  
FONDO DE PLACA ENTRE 0,070 y 01,100. TESTIGO NEGATIVO ENTRE 0,086  
Y 0,120.

Resultados del muestreo general. Valores de ELISA tomados a 1 hora. Fondo de placa entre 0,070 y 0,100. Testigo negativo entre 0,086 y 0,120.

Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)
1- 1	0,030	0,023	<b>21- 1</b>	<b>0,402</b>	0,023	32- 1	0,015	0,013
- 2	0,030	0,023	21- 2	0,015	0,023	- 2	0,011	0,013
- 3	0,002	0,023	- 3	0,018	0,023	- 3	0,020	0,013
2- 1	0,010	0,023	22-	0,023	0,023	33-	0,020	0,013
- 2	0,015	0,023	23- 1	0,015	0,023	35- 1	0,006	0,013
- 3	<b>0,871</b>	0,023	- 2	0,021	0,023	- 2	0,004	0,013
4- 1	0,020	0,023	- 3	0,018	0,023	- 3	0,007	0,013
- 2	0,030	0,023	- 4	<b>0,550</b>	0,023	36- 1	0,018	0,013
- 3	<b>0,615</b>	0,023	24- 1	0,020	0,023	- 2	0,218	0,013
5- 1	0,010	0,023	- 2	<b>0,450</b>	0,023	- 3	0,020	0,013
6- 1	0,010	0,023	- 3	0,017	0,023	37- 1	0,019	0,013
7- 1	0,015	0,023	- 4	0,025	0,023	- 2	0,010	0,013
7- 2	<b>0,618</b>	0,023	25- 1	0,010	0,023	- 3	0,012	0,013
7- 3	0,012	0,023	- 2	0,029	0,023	38- 1	0,010	0,013
- -	---	---	- 3	0,018	0,023	- 2	0,015	0,013
8- 1	0,020	0,023	26- 1	0,010	0,013	- 3	0,012	0,013
9- 1	0,025	0,023	- 2	0,015	0,013	39- 1	0,010	0,013
9- 2	0,021	0,023	- 3	0,010	0,013	- 2	0,009	0,013
- -	---	---	27- 1	0,012	0,013	- 3	0,015	0,013
13	0,010	0,023	- 2	0,018	0,013	40- 1	0,012	0,013
14- 1	0,010	0,023	- 3	0,015	0,013	- 2	0,020	0,013
- 2	0,010	0,023	<b>28- 1</b>	<b>0,415</b>	0,013	- 3	<b>0,355</b>	0,013
- 3	0,007	0,023	- 2	0,012	0,013	41- 1	0,014	0,013
- 4	0,006	0,023	- 3	0,018	0,013	- 2	0,020	0,013
<b>16-</b>	<b>0,425</b>	0,023	29- 1	0,020	0,013	- 3	0,021	0,013
17- 1	0,020	0,023	- 2	0,025	0,013	42- 1	0,010	0,013
- 2	0,020	0,023	- 3	0,019	0,013	- 2	0,010	0,013
<b>18-</b>	<b>1,200</b>	0,023	30- 1	0,012	0,013	- 3	0,015	0,013
19-	0,025	0,023	- 2	0,018	0,013	<b>43- 1</b>	<b>0,612</b>	0,011
20-	0,018	0,023	- 3	0,020	0,013	- 2	0,010	0,011

Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)
43- 3	0,013	0,011	60- 1	0,014	0,011	71- 2	0,012	0,021
44- 1	0,011	0,011	- 2	0,018	0,011	- 3	0,010	0,021
- 2	0,015	0,011	- 3	0,013	0,011	72- 1	0,021	0,016
- 3	0,010	0,011	61- 1	0,010	0,011	- 2	<b>0,450</b>	0,016
45- 1	0,015	0,011	- 2	0,016	0,011	- 3	0,009	0,016
- 2	0,018	0,011	- 3	0,004	0,011	73- 1	0,250	0,016
- 3	0,010	0,011	<b>62- 1</b>	<b>0,612</b>	0,011	- 2	0,012	0,016
<b>46- 1</b>	<b>0,515</b>	0,011	- 2	0,026	0,011	- 3	0,019	0,016
- 2	0,030	0,011	- 3	0,018	0,021	74- 1	0,036	0,016
- 3	0,026	0,011	<b>63- 1</b>	<b>0,312</b>	0,021	- 2	0,019	0,016
47- 1	0,012	0,011	- 2	0,018	0,021	- 3	0,021	0,016
- 2	0,014	0,011	- 3	0,011	0,021	<b>75- 1</b>	<b>0,610</b>	0,016
- 3	0,011	0,011	64- 1	0,027	0,021	- 2	<b>0,821</b>	0,016
48- 1	0,015	0,011	- 2	0,028	0,021	- 3	<b>0,341</b>	0,016
- 2	0,012	0,011	- 3	<b>0,650</b>	0,021	<b>77- 1</b>	<b>0,612</b>	0,016
- 3	0,016	0,011	65- 1	0,046	0,021	- 2	0,011	0,021
49- 1	0,012	0,011	- 2	0,042	0,021	- 3	0,015	0,021
- 2	0,014	0,011	- 3	0,032	0,021	78- 1	0,021	0,021
- 3	0,011	0,011	66- 1	0,013	0,021	- 2	0,027	0,021
50- 1	0,011	0,011	- 2	<b>0,314</b>	0,021	- 3	0,017	0,021
- 2	0,013	0,011	- 3	0,029	0,021	<b>79- 1</b>	<b>0,914</b>	0,016
- 3	0,015	0,011	67- 1	0,175	0,021	- 2	0,012	0,016
51- 1	0,020	0,011	- 2	0,016	0,021	- 3	0,017	0,016
- 2	0,032	0,011	- 3	0,012	0,021	80- 1	0,021	0,016
- 3	0,019	0,011	68- 1	0,011	0,021	- 2	<b>0,809</b>	0,016
52- 1	0,011	0,011	- 2	0,009	0,021	- 3	<b>0,312</b>	0,016
- 2	0,009	0,011	- 3	0,003	0,021	81- 1	0,013	0,016
- 3	0,013	0,011	69- 1	0,016	0,021	- 2	0,017	0,016
53- 1	0,014	0,011	- 2	0,012	0,021	- 3	0,012	0,016
- 2	0,010	0,011	- 3	0,013	0,021	<b>82- 1</b>	<b>0,803</b>	0,016
- 3	0,018	0,011	<b>70- 1</b>	<b>0,216</b>	0,021	- 2	<b>0,313</b>	0,016
<b>59- 1</b>	<b>0,714</b>	0,011	- 2	0,012	0,021	- 3	<b>0,905</b>	0,016
- 2	<b>0,325</b>	0,011	- 3	0,003	0,021	83- 1	0,051	0,016
- 3	0,040	0,011	<b>71- 1</b>	<b>0,318</b>	0,021	- 2	0,040	0,016

Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)
83- 3	0,027	0,016	97- 1	<b>0,800</b>	0,024	111- 3	0,011	0,024
84- 1	0,026	0,024	- 2	<b>0,950</b>	0,024	112- 1	0,020	0,016
- 2	0,022	0,024	- 3	<b>0,247</b>	0,024	- 2	0,041	0,016
- 3	0,019	0,024	98- 1	0,020	0,024	- 3	0,022	0,016
85- 1	0,011	0,024	- 2	0,010	0,024	111'-1	0,019	0,016
- 2	0,016	0,024	- 3	0,017	0,024	-2	0,019	0,016
- 3	0,015	0,024	99- 1	<b>0,750</b>	0,024	-3	0,017	0,016
86- 1	0,014	0,024	- 2	<b>0,760</b>	0,024	112'-1	0,026	0,016
- 2	0,021	0,024	- 3	<b>0,350</b>	0,024	-2	0,027	0,016
- 3	<b>1,215</b>	0,024	100- 1	0,021	0,024	-3	0,018	0,016
87- 1	0,010	0,024	101- 1	<b>0,850</b>	0,024	113- 1	0,030	0,016
88- 1	<b>0,883</b>	0,024	- 2	<b>0,375</b>	0,024	- 2	0,027	0,016
- 2	<b>1,512</b>	0,024	- 3	0,010	0,024	- 3	0,030	0,016
- 3	<b>0,615</b>	0,024	102- 1	0,012	0,024	116- 1	0,013	0,016
89- 1	0,041	0,024	- 2	0,016	0,024	- 2	0,012	0,016
- 2	0,027	0,024	- 3	0,017	0,024	- 3	0,027	0,016
- 3	0,036	0,024	103- 1	<b>0,450</b>	0,024	117- 1	0,051	0,016
90- 1	<b>0,400</b>	0,024	- 2	0,010	0,024	- 2	0,020	0,016
- 2	0,018	0,024	- 3	0,010	0,024	- 3	0,029	0,016
- 3	0,022	0,024	105- 1	0,006	0,024	118- 1	0,041	0,016
91- 1	0,015	0,024	- 2	0,009	0,024	- 2	0,023	0,016
- 2	<b>0,621</b>	0,024	- 3	0,010	0,024	- 3	0,017	0,016
- 3	0,017	0,024	106- 1	0,020	0,024	119- 1	<b>1,171</b>	0,016
92- 1	0,031	0,024	- 2	0,025	0,024	- 2	0,027	0,016
- 2	0,031	0,024	- 3	0,030	0,024	- 3	0,017	0,016
- 3	0,022	0,024	107- 1	0,010	0,024	120- 1	<b>0,570</b>	0,016
93- 1	<b>0,415</b>	0,024	- 2	<b>0,325</b>	0,024	- 2	0,012	0,016
- 2	0,037	0,024	- 3	0,015	0,024	- 3	0,017	0,016
- 3	0,035	0,024	108- 1	0,004	0,024	121- 1	0,006	0,114
94- 1		0,024	- 2	0,010	0,024	- 2	0,006	0,114
95- 1	<b>0,361</b>	0,024	- 3	0,010	0,024	- 3	0,004	0,114
- 2	<b>0,355</b>	0,024	110- 1	0,015	0,024	122- 1	0,002	0,114
- 3	<b>0,402</b>	0,024	- 2	0,022	0,024	- 2	0,001	0,114
96- 1	0,035	0,024	- 3	0,022	0,024	- 3	0,010	0,114
- 2	0,010	0,024	111- 1	<b>0,556</b>	0,024	123- 1	0,009	0,114
- 3	<b>0,370</b>	0,024	- 2	0,012	0,024	- 2	0,012	0,014

Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)
123-3	0,010	0,114	135-2	0,005	0,016	151-2	0,019	0,016
124-1	0,007	0,114	-3	0,006	0,016	-3	0,027	0,016
-2	0,009	0,114	136-1	0,017	0,016	<b>151-4</b>	<b>0,251</b>	0,016
-3	0,012	0,114	-2	0,013	0,016	153-1	0,010	0,016
125-1	0,012	0,114	-3	0,017	0,016	-2	<b>0,425</b>	0,016
-2	0,026	0,114	137-1	0,012	0,016	-3	0,012	0,016
-3	0,010	0,114	-2	0,019	0,016	-4	0,016	0,016
126-1	0,013	0,114	-3	0,004	0,016	154-1	0,010	0,016
-2	0,012	0,114	138-1	0,003	0,016	-2	0,012	0,016
-3	0,014	0,114	-2	0,003	0,016	-3	<b>1,119</b>	0,016
127-1	0,010	0,118	-3	0,006	0,016	-4	0,016	0,016
-2	0,010	0,118	139-1	0,012	0,016	155-1	0,018	0,016
-3	0,011	0,118	-2	0,012	0,016	-2	0,013	0,016
128-1	0,012	0,118	-3	0,012	0,016	-3	0,017	0,016
-2	0,011	0,118	<b>140-1</b>	<b>0,482</b>	0,016	-4	0,012	0,016
128-3	0,011	0,118	-2	0,010	0,016	156-1	0,020	0,016
129-1	0,019	0,118	-3	0,012	0,016	-2	0,020	0,016
-2	0,017	0,118	-4	0,013	0,016	-3	0,012	0,016
-3	0,017	0,118	<b>143-1</b>	<b>0,631</b>	0,016	-4	0,015	0,016
130-1	0,012	0,118	-2	<b>0,450</b>	0,016	157-1	0,021	0,016
-2	0,012	0,118	-3	0,016	0,016	-2	0,026	0,016
-3	0,017	0,118	-4	0,016	0,016	-3	0,025	0,016
131-1	0,015	0,118	144-1	0,023	0,016	-4	0,016	0,016
-2	0,016	0,118	-2	0,019	0,016	158-1	0,019	0,016
-3	0,023	0,118	-3	0,020	0,016	-2	0,013	0,016
132-1	0,019	0,016	-4	0,020	0,016	-3	0,023	0,016
-2	0,014	0,016	148-1	0,019	0,016	-4	0,023	0,016
-3	0,014	0,016	-2	0,019	0,016	159-1	0,029	0,016
133-1	0,013	0,016	-3	0,020	0,016	-2	0,023	0,016
-2	0,017	0,016	-4	0,017	0,016	-3	0,041	0,016
-3	0,017	0,016	<b>149-1</b>	<b>0,612</b>	0,016	-4	<b>0,267</b>	0,016
134-1	0,013	0,016	-2	0,010	0,016	160-1	0,010	0,012
-2	0,013	0,016	-3	0,010	0,016	-2	0,010	0,012
-3	0,011	0,016	-4	0,009	0,016	-3	0,009	0,012
135-1	0,006	0,016	151-1	0,030	0,016	-4	0,007	0,012

Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)	Nº de Muestra	Valor ELISA	Valor vid(-)
162-1	0,019	0,012	170- 4	0,021	0,018	182 <sup>a</sup> -3	0,003	0,118
-2	0,017	0,012	171- 1	0,017	0,018	-4	0,010	0,118
-3	0,014	0,012	- 2	0,017	0,018	<b>182<sup>b</sup>-1</b>	<b>0,740</b>	0,118
-4	0,013	0,012	- 3	0,011	0,018	-2	<b>1,230</b>	0,118
163-1	0,018	0,012	- 4	0,016	0,018	-3	0,020	0,118
-2	0,017	0,012	172- 1	0,014	0,018	-4	0,020	0,118
-3	0,017	0,012	- 2	0,013	0,018	<b>183 -1</b>	<b>0,600</b>	0,118
-4	0,021	0,012	- 3	0,022	0,018	-2	0,007	0,118
164-1	0,015	0,012	- 4	0,019	0,018	-3	<b>0,807</b>	0,118
-2	0,015	0,012	<b>173- 1</b>	<b>1,512</b>	0,018	-4	0,012	0,118
-3	0,022	0,012	- 2	0,013	0,018	184 -1	0,014	0,118
-4	0,017	0,012	- 3	0,013	0,018	-2	0,014	0,118
<b>165-1</b>	<b>0,375</b>	0,012	- 4	0,047	0,018	-3	0,021	0,118
-2	0,016	0,012	<b>177- 1</b>	<b>0,232</b>	0,018	-4	0,015	0,118
-3	0,016	0,012	- 2	0,017	0,018	185 -1	0,005	0,118
-4	0,015	0,012	- 3	0,021	0,018	-2	0,003	0,118
166-1	0,023	0,012	- 4	0,021	0,018	-3	0,004	0,118
-2	0,022	0,012	178- 1	0,020	0,018	-4	0,010	0,118
-3	0,026	0,012	- 2	0,020	0,018	186 -1	0,015	0,118
-4	0,019	0,012	- 3	0,019	0,018	-2	0,012	0,118
167-1	0,015	0,012	- 4	0,016	0,018	-3	0,013	0,118
-2	0,025	0,012	179- 1	0,010	0,018	-4	0,017	0,118
-3	0,016	0,012	- 2	0,010	0,018	187 -1	0,023	0,118
-4	0,012	0,012	- 3	<b>0,315</b>	0,018	-2	0,022	0,118
168-1	0,017	0,012	- 4	0,012	0,018	-3	0,018	0,118
-2	0,021	0,012	180- 1	0,025	0,018	-4	0,023	0,118
-3	0,020	0,012	- 2	0,019	0,018	188 -1	0,018	0,118
-4	0,019	0,012	- 3	0,019	0,018	-2	0,031	0,118
169-1	0,022	0,018	- 4	0,021	0,018	-3	0,017	0,118
-2	0,022	0,018	181- 1	0,006	0,118	-4	0,023	0,118
-3	0,019	0,018	- 2	0,003	0,118			
-4	0,025	0,018	- 3	0,002	0,118			
170-1	0,029	0,018	- 4	0,004	0,118			
-2	0,020	0,018	182 <sup>a</sup> -1	0,002	0,118			
-3	0,031	0,018	-2	0,009	0,118			

TABLA VII.- RESULTADOS DE LOS MUESTREOS REALIZADOS EN  
CASTILLA-LEON

Denominación de origen	Municipio	Nº de muestras estudiadas	Nº de muestras positivas	Porcentaje	Presencia de X. index
<b>CEBREROS</b>					
	El Barraco	10	2		-
	Cebreros	25	2		+
	Moyo de Pinares	25	6		-
	San Bartolomé de Pinares	25	1		-
	San Juan de la Nava	15	6		+
	El Tiemblo	25	5		-
		<u>125</u>	<u>22</u>	<u>17,6</u>	
<b>CIGALES</b>					
	Coros del Valle	40	8		+
	Cigales	132	8		-
	Cubillos de Santa Marta	30	2		+
	Fuensaldaña	15	1		-
	Mucientes	50	5		-
	Trigueros del Valle	50	3		-
		<u>317</u>	<u>28</u>	<u>8,8</u>	
<b>EL BIERZO</b>					
	Arganza	19	2		-
	Cabañas Raras	13	0		-
	Cacabelos	71	6		-
	Campelo	7	0		-
	Camponaraya	68	2		-
	Canedo	4	0		-
	Carracedelo	2	1		-
	Castropodame	22	0		-
	Cortiguera	2	0		-
	Cortigosa	2	0		-
	Cubillinos	6	0		-
	Cubillos del Sil	4	0		-
	Cueto	4	0		-
	Iglesia del Campo	16	0		-
	Parandones	10	0		-
	Pieros	1	0		-
	Ponferrada	78	0		-
	Quilós	26	0		-
	Sancedo	12	0		-
	San Juan	1	0		-
	San Lorenzo	16	1		-
	San Martín	2	1		-
	San Miguel	9	0		-
	Toral de los Vados	2	1		-

TABLA VII (Continuación)

Denominación de origen	Municipio	Nº de muestras estudiadas	Nº de muestras positivas	Porcentaje	Presencia de X. index
<b>EL BIERZO</b>					
	Valtuille de Arriba	22	0		-
	Valtuille de Abajo	22	0		-
	Villadecanes	38	0		-
	Villafranca del Bierzo	20	0		-
	Villar de los Barrios	12	0		-
		<u>501</u>	<u>13</u>	<u>2,59</u>	
<b>RIBERA DEL DUERO</b>					
	Alcubilla del Marqués	6	0		-
	Atauta	5	0		-
	Castillejo	1	0		-
	La Horra	16	8		+
	Pedrosa de Duero	38	1		-
	Peñaranda de Duero	1	0		-
	Pesquera de Duero	84	16		-
	Roa	6	0		-
	San Esteban de Gormaz	4	0		-
	Sotillo	12	7		-
	Terradillos de Esgueva	3	3		-
	Valbuena de Duero	10	0		-
	Villálvaro	1	0		-
		<u>187</u>	<u>35</u>	<u>18,7</u>	
<b>RUEDA</b>					
	La Seca	182	35		-
	Rodilana	50	12		-
	Rueda	150	27		-
		<u>382</u>	<u>74</u>	<u>19,3</u>	
<b>TORO</b>					
	Argujillo	6	2		+
	Caaseca de las Chanas	6	0		-
	Morales de Toro	54	8		+
	El Pego	42	10		+
	El Piñero	9	1		+
	San Miguel de la Rivera	13	5		+
	Tagarabuena	4	4		+
	Toro	49	2		-
		<u>183</u>	<u>32</u>	<u>13,4</u>	

TABLA VII. - MATRIZ Y TRATAMIENTO DE DATOS PARA EL ANALISIS DE  
CORRESPONDENCIAS MULTIPLES, CONSIDERANDO TODAS LAS  
MUESTRAS

CARACTERISTIQUES DU FICHIER : A:JESUS  
TITRE :

NOMBRE D'OBSERVATIONS : 251 NOMBRE DE VARIABLES : 14

FICHIER DE DONNEES : A:JESUSR

CARACTERISTIQUES DU FICHIER : A:JESUS  
TITRE :

NOMBRE D'OBSERVATIONS : 251

NOMBRE DE VARIABLES : 14

FICHIER DE DONNEES : A:JESUSR

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
	VAR	SIN	XIN	XIT	XSP	MEL	CRI	NEN	GFV	PH	ARE	LIM	ARC	CAR	
1	4.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	45.00	1.00	8.01	45.60	1	33.20	21.20	27.40
2	1.00	16.00	0.00	20.00	15.00	2.00	0.00	170.00	2.00	8.06	58.00	2	22.80	19.20	39.20
3	1.00	15.00	0.00	5.00	15.00	2.00	0.00	35.00	2.00	7.93	30.00	3	28.80	41.20	13.70
4	1.00	1.00	0.00	0.00	10.00	2.00	5.00	110.00	2.00	8.07	74.00	4	10.80	15.20	17.60
5	1.00	12.00	0.00	10.00	10.00	1.00	0.00	0.00	2.00	8.03	80.00	5	8.80	13.20	19.60
6	1.00	12.00	0.00	0.00	15.00	1.00	0.00	30.00	2.00	8.09	80.00	6	8.80	11.20	19.60
7	1.00	13.00	0.00	0.00	5.00	1.00	0.00	5.00	2.00	8.06	70.00	7	12.80	17.20	25.50
8	1.00	13.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	405.00	2.00	8.26	71.60	8	17.20	11.20	11.70
9	1.00	12.00	0.00	0.00	80.00	1.00	0.00	15.00	2.00	8.02	57.00	9	30.80	15.20	0.80
10	1.00	4.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.90	50.00	10	30.80	19.20	45.10
11	1.00	12.00	0.00	0.00	255.00	1.00	0.00	55.00	2.00	8.13	46.00	11	41.20	12.80	13.70
12	1.00	0.00	0.00	0.00	220.00	1.00	0.00	10.00	2.00	8.12	60.00	12	25.20	14.80	8.60
13	1.00	4.00	0.00	110.00	215.00	2.00	0.00	30.00	2.00	8.13	64.00	13	23.20	12.80	7.00
14	1.00	4.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	30.00	2.00	7.93	46.00	14	31.20	22.80	27.40
15	1.00	15.00	0.00	0.00	35.00	1.00	0.00	10.00	2.00	7.93	34.00	15	39.20	26.80	6.20
16	1.00	4.00	5.00	0.00	45.00	2.00	0.00	115.00	1.00	7.65	25.00	16	49.00	28.00	19.50
17	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	35.00	1.00	7.87	31.00	17	37.00	32.00	11.80
18	1.00	8.00	0.00	0.00	80.00	2.00	10.00	120.00	2.00	8.04	53.20	18	29.20	17.60	27.40
19	1.00	13.00	0.00	0.00	180.00	1.00	0.00	60.00	2.00	7.91	31.20	19	39.20	29.40	31.40
20	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	45.00	1.00	8.15	51.20	20	27.20	21.60	39.20
21	1.00	8.00	0.00	0.00	55.00	2.00	0.00	115.00	2.00	8.13	41.20	21	29.20	29.60	41.20
22	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	125.00	2.00	8.14	21.20	22	37.20	41.60	37.20
23	1.00	8.00	10.00	0.00	20.00	2.00	0.00	100.00	2.00	8.04	29.20	23	35.20	35.60	37.20
24	1.00	8.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	100.00	2.00	8.06	33.60	24	31.40	35.00	29.40
25	1.00	8.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	5.00	2.00	8.09	49.60	25	27.40	23.00	21.60
26	1.00	15.00	0.00	15.00	60.00	2.00	0.00	25.00	2.00	8.20	57.60	26	23.40	19.00	37.60
27	1.00	15.00	0.00	40.00	125.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.07	43.60	27	35.40	21.00	43.10
28	10.00	15.00	30.00	0.00	0.00	2.00	0.00	5.00	1.00	8.17	41.60	28	15.40	43.00	11.80
29	1.00	15.00	0.00	0.00	85.00	2.00	5.00	25.00	2.00	6.30	57.60	29	23.40	19.00	33.30
30	1.00	4.00	0.00	35.00	0.00	2.00	0.00	230.00	2.00	7.98	60.00	30	29.20	10.80	45.30
31	1.00	12.00	95.00	105.00	70.00	2.00	55.00	10.00	1.00	8.18	72.00	31	15.20	12.80	27.70
32	1.00	4.00	0.00	35.00	20.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.17	56.00	32	35.20	8.80	72.50
33	1.00	1.00	0.00	125.00	110.00	2.00	60.00	0.00	1.00	7.97	64.00	33	23.20	12.80	35.90
34	1.00	1.00	0.00	10.00	320.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.25	70.00	34	17.20	12.80	16.30
35	1.00	4.00	0.00	0.00	340.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.20	24.00	35	32.20	42.80	75.90
36	1.00	3.00	0.00	15.00	115.00	2.00	0.00	40.00	2.00	8.01	26.40	36	37.20	36.40	44.90
37	1.00	4.00	0.00	10.00	60.00	2.00	0.00	15.00	1.00	8.04	28.40	37	29.20	42.40	64.50
38	9.00	0.00	0.00	0.00	70.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.09	26.40	38	36.80	36.80	48.10
39	9.00	15.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	65.00	1.00	7.86	14.80	39	33.20	52.00	23.50
40	9.00	15.00	0.00	0.00	170.00	2.00	0.00	60.00	2.00	7.92	20.40	40	35.40	44.20	30.80
41	9.00	15.00	0.00	0.00	140.00	2.00	0.00	20.00	2.00	7.90	16.00	41	33.60	50.40	27.30
42	6.00	15.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	465.00	2.00	7.98	64.80	42	14.80	20.40	25.70
43	6.00	15.00	0.00	30.00	0.00	2.00	0.00	1210.00	1.00	7.99	52.80	43	26.80	18.40	30.50
44	6.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	8050.00	1.00	7.87	42.40	44	33.20	24.40	46.60
45	6.00	7.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	70.00	1.00	8.14	64.40	45	21.20	14.40	55.30
46	9.00	15.00	0.00	0.00	65.00	2.00	0.00	40.00	1.00	8.15	76.40	46	9.20	14.40	36.80
47	4.00	15.00	0.00	15.00	65.00	2.00	0.00	35.00	1.00	8.11	62.40	47	17.20	20.40	45.00
48	1.00	15.00	0.00	5.00	25.00	2.00	0.00	15.00	1.00	8.08	56.40	48	19.20	24.40	22.10
49	1.00	15.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	15.00	1.00	7.92	34.80	49	37.20	28.00	57.40
50	1.00	11.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	1.00	8.28	88.40	50	5.20	6.40	7.60
51	1.00	12.00	0.00	0.00	40.00	1.00	0.00	55.00	1.00	8.09	64.40	51	17.20	16.40	10.80
52	1.00	0.00	15.00	10.00	5.00	1.00	0.00	10.00	1.00	8.11	76.80	52	10.80	12.40	7.60
53	1.00	13.00	20.00	0.00	0.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.19	72.40	53	13.20	14.40	4.90
54	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	5.00	290.00	1.00	8.08	60.80	54	19.20	20.00	24.30
55	1.00	14.00	5.00	0.00	15.00	2.00	70.00	65.00	1.00	8.06	32.40	55	31.20	36.40	44.40
56	1.00	15.00	20.00	0.00	5.00	2.00	0.00	140.00	1.00	8.11	34.00	56	21.60	44.40	11.60
57	1.00	8.00	0.00	0.00	15.00	2.00	440.00	45.00	2.00	8.09	32.00	57	21.60	46.40	13.00
58	1.00	16.00	0.00	0.00	10.00	2.00	5.00	20.00	1.00	8.14	46.00	58	21.60	28.40	49.10
59	1.00	16.00	10.00	8.00	15.00	2.00	0.00	20.00	1.00	8.15	50.00	59	25.60	24.40	14.30
60	1.00	15.00	0.00	5.00	20.00	2.00	0.00	10.00	1.00	7.71	36.00	60	31.60	32.40	29.60
61	1.00	11.00	5.00	0.00	5.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.74	48.00	61	29.60	24.40	8.90
62	1.00	7.00	30.00	0.00	20.00	2.00	0.00	160.00	1.00	7.94	42.40	62	27.20	30.40	1.50
63	1.00	0.00	0.00	0.00	15.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.05	56.40	63	23.20	20.40	45.00
64	1.00	14.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	60.00	1.00	7.98	60.40	64	23.20	26.40	17.80
65	1.00	14.00	20.00	0.00	10.00	2.00	0.00	65.00	1.00	8.03	54.00	65	19.60	26.40	15.60
66	1.00	15.00	0.00	0.00	20.00	1.00	10.00	60.00	1.00	8.03	56.00	66	25.60	18.40	11.00
67	1.00	11.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	80.00	1.00	8.06	64.00	67	15.60	20.40	30.50
68	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	20.00	30.00	1.00	7.93	58.00	68	17.60	24.40	20.50
69	1.00	0.00	0.00	0.00	70.00	2.00	0.00	100.00	2.00	7.79	34.00	69	27.60	38.40	19.70
70	1.00	14.00	0.00	0.00	35.00	2.00	0.00	350.00	1.00	7.93	46.40	70	25.20	28.40	30.30
71	1.00	12.00	0.00	0.00	15.00	1.00	0.00	45.00	1.00	7.81	30.40	71	67.20	2.40	28.40
72	2.00	14.00	0.00	0.00	0.00	2.00	90.00	415.00	1.00	4.71	71.60	72	18.80	9.60	0.00
73	2.00	9.00	0.00	55.00	640.00	2.00	440.00	200.00	1.00	4.58	69.60	73	20.80	9.60	0.00
74	2.00	15.00	0.00	0.00	10.00	1.00	5.00	5.00	1.00	6.45	75.60	74	28.40	6.00	0.00
75	0.00	0.00	0.00	0.00	50.00	2.00	100.00	460.00	2.00	4.89	57.60	75	24.40	18.00	0.00
76	0.00	2.00	10.00	5.00	20.00	2.00	5.00	505.00	1.00	6.90	67.60	76	24.40	8.00	0.00

TABLA VIII (Continuación)

77	0.00	11.00	125.00	0.00	35.00	2.00	20.00	500.00	2.00	7.01	61.60	77	30.40	8.00	0.00
78	0.00	16.00	40.00	0.00	35.00	2.00	0.00	125.00	1.00	5.93	65.60	78	24.40	10.00	0.00
79	0.00	16.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	5.00	2.00	4.69	59.60	79	34.40	6.00	0.00
80	0.00	15.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	55.00	2.00	5.28	55.60	80	28.40	16.00	0.00
81	3.00	9.00	0.00	0.00	25.00	2.00	0.00	5.00	2.00	3.98	55.60	81	22.40	22.00	0.00
82	8.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	15.00	65.00	2.00	4.84	75.20	82	14.80	10.00	0.00
83	7.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	70.00	175.00	2.00	5.23	55.20	83	38.00	6.80	0.00
84	0.00	4.00	0.00	0.00	50.00	2.00	110.00	20.00	2.00	4.81	65.20	84	22.60	12.00	0.00
85	0.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	40.00	1.00	4.13	55.20	85	32.00	12.80	0.00
86	0.00	0.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	15.00	1.00	4.90	73.60	86	18.00	8.40	86.00
87	1.00	16.00	0.00	0.00	80.00	2.00	0.00	30.00	2.00	7.92	48.00	87	23.60	28.40	44.50
88	1.00	1.00	0.00	0.00	15.00	1.00	0.00	10.00	2.00	8.08	61.60	88	18.00	20.40	22.90
89	1.00	16.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	60.00	2.00	8.12	52.00	89	19.60	28.40	22.00
90	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	20.00	2.00	6.25	46.40	90	31.20	22.40	0.00
91	1.00	11.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	15.00	2.00	5.76	60.00	91	23.60	16.40	0.00
92	1.00	16.00	10.00	0.00	5.00	2.00	0.00	200.00	1.00	7.98	52.40	92	27.60	20.00	54.70
93	3.00	12.00	0.00	0.00	5.00	1.00	0.00	25.00	2.00	7.86	48.80	93	29.60	21.60	62.40
94	1.00	1.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	160.00	2.00	7.79	27.20	94	23.20	49.60	21.90
95	1.00	15.00	0.00	0.00	15.00	2.00	0.00	55.00	2.00	7.98	35.20	95	29.60	35.20	52.50
96	1.00	8.00	75.00	0.00	75.00	2.00	30.00	10.00	2.00	8.03	71.20	96	13.20	15.60	18.20
97	1.00	8.00	5.00	0.00	0.00	2.00	0.00	240.00	2.00	7.81	45.60	97	21.20	33.20	8.40
98	1.00	11.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	5.00	2.00	5.41	73.60	98	14.80	11.60	0.00
99	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	15.00	2.00	6.65	48.40	99	24.00	27.60	0.00
100	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	30.00	2.00	6.61	50.40	100	32.00	17.60	0.00
101	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.72	32.80	101	19.60	47.60	3.30
102	1.00	11.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	1870.00	2.00	7.88	32.80	102	20.00	47.20	39.20
103	1.00	0.00	0.00	0.00	5.00	2.00	5.00	180.00	2.00	8.01	58.80	103	22.00	19.20	14.50
104	1.00	0.00	0.00	0.00	25.00	2.00	5.00	115.00	2.00	7.98	56.80	104	16.00	27.20	3.50
105	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	1.00	0.00	10.00	2.00	8.01	25.20	105	53.60	21.20	23.20
106	1.00	4.00	0.00	0.00	5.00	2.00	10.00	60.00	2.00	8.01	32.80	106	30.00	37.20	56.10
107	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	20.00	45.00	2.00	7.94	35.20	107	31.60	33.20	50.50
108	1.00	8.00	0.00	0.00	15.00	2.00	10.00	190.00	2.00	7.72	59.20	108	13.60	27.20	7.40
109	1.00	0.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	150.00	2.00	7.98	40.80	109	23.60	35.60	57.80
110	1.00	8.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.07	38.80	110	14.00	47.20	46.10
111	1.00	11.00	0.00	0.00	35.00	2.00	0.00	75.00	2.00	8.09	40.80	111	28.00	31.20	36.30
112	1.00	3.00	0.00	0.00	25.00	2.00	0.00	70.00	2.00	7.92	47.20	112	31.60	21.20	48.30
113	5.00	9.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	125.00	1.00	7.37	75.20	113	13.60	11.20	6.30
114	1.00	9.00	5.00	0.00	10.00	2.00	0.00	35.00	2.00	7.73	69.60	114	17.20	13.20	10.70
115	1.00	12.00	0.00	0.00	10.00	1.00	0.00	15.00	1.00	7.79	57.60	115	21.20	21.20	29.30
116	1.00	1.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	55.00	2.00	7.96	74.80	116	7.20	18.00	1.20
117	1.00	15.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	125.00	1.00	7.95	38.80	117	33.20	28.00	54.80
118	1.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	5.00	1200.00	1.00	7.89	26.80	118	29.20	44.00	54.80
119	1.00	8.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	60.00	1.00	8.05	29.20	119	37.20	33.60	36.80
120	1.00	8.00	0.00	5.00	10.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.00	55.20	120	27.20	17.60	37.10
121	1.00	15.00	0.00	5.00	10.00	2.00	25.00	35.00	2.00	8.12	59.20	121	19.20	21.60	21.90
122	1.00	15.00	0.00	0.00	110.00	2.00	0.00	5.00	2.00	8.10	39.20	122	37.20	23.60	46.40
123	1.00	13.00	0.00	0.00	15.00	1.00	0.00	10.00	2.00	7.99	69.20	123	19.20	11.60	36.80
124	1.00	8.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	35.00	1.00	8.09	45.20	124	27.20	27.60	43.50
125	1.00	8.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.91	68.80	125	17.60	13.60	46.90
126	1.00	12.00	0.00	0.00	10.00	1.00	0.00	0.00	2.00	8.07	68.80	126	16.00	15.20	46.90
127	1.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	85.00	2.00	8.15	60.80	127	22.00	17.20	64.00
128	1.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	15.00	25.00	2.00	8.24	67.20	128	15.60	17.20	56.00
129	1.00	12.00	10.00	0.00	0.00	1.00	0.00	5.00	1.00	7.43	89.20	129	5.60	5.20	0.00
130	1.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	315.00	0.00	1.00	7.88	73.60	130	13.20	13.20	2.10
131	1.00	16.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	65.00	2.00	7.75	39.60	131	25.20	35.20	21.60
132	1.00	16.00	0.00	10.00	20.00	2.00	40.00	115.00	1.00	8.11	41.60	132	31.20	27.20	59.00
133	1.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	30.00	15.00	2.00	7.65	26.00	133	32.40	41.60	52.90
134	1.00	4.00	0.00	0.00	25.00	2.00	0.00	100.00	2.00	7.63	42.00	134	28.40	29.60	60.80
135	1.00	15.00	0.00	0.00	75.00	2.00	5.00	250.00	1.00	7.97	39.80	135	10.60	9.60	15.70
136	1.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	10.00	225.00	1.00	7.33	37.80	136	24.60	37.60	19.60
137	1.00	15.00	5.00	5.00	100.00	2.00	0.00	20.00	2.00	7.91	45.80	137	32.60	21.60	49.00
138	0.00	1.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	5.00	2.00	4.44	21.80	138	56.60	21.60	0.00
139	0.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	295.00	2.00	5.76	21.80	139	52.60	25.60	0.00
140	0.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	25.00	10.00	2.00	4.24	53.80	140	28.60	17.60	0.00
141	0.00	15.00	0.00	15.00	8.00	2.00	5.00	105.00	1.00	5.29	57.60	141	32.80	9.60	0.00
142	0.00	15.00	0.00	15.00	35.00	2.00	0.00	215.00	2.00	4.67	73.20	142	7.20	19.60	0.00
143	0.00	2.00	0.00	0.00	4.00	2.00	10.00	20.00	2.00	4.81	45.00	143	42.20	12.80	0.00
144	0.00	0.00	0.00	0.00	25.00	2.00	15.00	0.00	2.00	5.21	55.60	144	34.20	10.80	0.00
145	0.00	0.00	0.00	0.00	15.00	2.00	110.00	0.00	2.00	4.31	59.00	145	32.20	8.80	0.00
146	0.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	45.00	2.00	5.11	79.00	146	20.20	0.80	0.00
147	0.00	15.00	0.00	0.00	50.00	2.00	150.00	15.00	2.00	4.50	85.00	147	28.20	16.80	0.00
148	0.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	35.00	420.00	2.00	4.57	72.80	148	16.40	10.80	0.00
149	0.00	15.00	0.00	0.00	340.00	2.00	195.00	640.00	2.00	4.58	53.00	149	34.20	12.80	0.00
150	0.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	50.00	10.00	2.00	3.95	61.00	150	30.20	8.80	0.00
151	0.00	2.00	0.00	0.00	15.00	2.00	0.00	330.00	2.00	5.70	79.00	151	16.20	4.80	0.00
152	0.00	15.00	0.00	0.00	25.00	2.00	100.00	2210.00	2.00	5.83	75.00	152	18.20	6.80	0.00
153	0.00	15.00	0.00	0.00	10.00	1.00	25.00	35.00	2.00	5.49	81.00	153	14.20	4.80	0.00
154	0.00	2.00	100.00	0.00	5.00	1.00	5.00	280.00	2.00	5.25	67.00	154	26.20	6.80	0.00
155	0.00	2.00	0.00	25.00	25.00	2.00	40.00	5.00	2.00	5.23	59.00	155	26.20	14.80	0.00
156	0.00	2.00	0.00	55.00	55.00	2.00	0.00	105.00	2.00	5.80	49.00	156	34.20	16.80	0.00
157	0.00	15.00	0.00	0.00	5.00	1.00	20.00	45.00	2.00	5					

TABLA VIII (Continuación)

165	1.00	11.00	0.00	0.00	50.00	2.00	0.00	300.00	2.00	7.89	51.60	165	30.40	18.00	0.00
166	1.00	11.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.05	47.60	166	30.80	21.60	33.30
167	1.00	11.00	20.00	10.00	15.00	2.00	5.00	10.00	2.00	8.04	79.60	167	8.40	12.00	7.80
168	1.00	11.00	0.00	50.00	100.00	2.00	0.00	70.00	2.00	8.05	53.60	168	24.40	22.00	19.60
169	1.00	11.00	0.00	0.00	130.00	2.00	130.00	220.00	2.00	8.18	51.60	169	26.40	22.00	17.60
170	1.00	11.00	0.00	25.00	10.00	2.00	165.00	75.00	2.00	8.06	55.60	170	22.40	22.00	39.20
171	1.00	11.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	35.00	2.00	8.15	59.60	171	22.40	18.00	16.90
172	1.00	11.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	595.00	2.00	8.17	59.60	172	24.40	16.00	25.40
173	1.00	11.00	0.00	10.00	30.00	2.00	0.00	170.00	2.00	8.07	55.60	173	24.40	20.00	50.90
174	1.00	11.00	0.00	0.00	150.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.16	53.60	174	28.40	18.00	11.80
175	1.00	11.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.20	61.60	175	20.40	18.00	19.60
176	1.00	11.00	0.00	85.00	360.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.10	53.20	176	26.80	20.00	43.10
177	1.00	11.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	105.00	2.00	8.14	51.20	177	26.80	22.00	39.20
178	1.00	11.00	0.00	15.00	55.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.10	57.20	178	22.80	20.00	47.00
179	1.00	11.00	0.00	5.00	135.00	2.00	0.00	125.00	2.00	8.30	53.20	179	26.80	20.00	45.10
180	1.00	11.00	0.00	0.00	65.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.01	51.20	180	20.80	28.00	31.40
181	1.00	11.00	0.00	15.00	65.00	2.00	0.00	30.00	2.00	8.21	47.20	181	28.80	24.00	25.50
182	1.00	11.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.24	49.20	182	24.80	26.00	3.90
183	1.00	11.00	0.00	0.00	160.00	2.00	35.00	220.00	2.00	8.21	51.20	183	22.80	26.00	13.70
184	1.00	11.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	35.00	2.00	8.15	49.20	184	20.80	30.00	3.10
185	1.00	11.00	0.00	0.00	15.00	2.00	0.00	45.00	2.00	7.84	45.20	185	20.40	34.40	12.50
186	1.00	11.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	35.00	1.00	7.82	53.20	186	22.40	24.40	21.60
187	1.00	11.00	0.00	0.00	380.00	2.00	0.00	240.00	2.00	7.85	51.00	187	18.60	30.40	18.40
188	1.00	11.00	0.00	15.00	130.00	2.00	0.00	10.00	1.00	7.85	51.20	188	22.40	26.40	24.30
189	1.00	11.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.92	51.20	189	26.40	22.40	23.50
190	1.00	11.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	55.00	2.00	6.63	77.20	190	10.40	12.40	0.00
191	1.00	6.00	0.00	0.00	400.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.85	39.20	191	24.80	36.00	21.60
192	1.00	6.00	10.00	0.00	20.00	2.00	0.00	10.00	2.00	7.77	35.20	192	30.80	34.00	43.10
193	1.00	6.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	45.00	2.00	7.92	43.20	193	16.80	40.00	1.90
194	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	5.00	65.00	2.00	7.89	33.20	194	28.80	38.00	25.50
195	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	40.00	2.00	7.78	18.00	195	29.60	52.40	17.60
196	1.00	6.00	0.00	15.00	10.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.76	40.40	196	25.20	30.40	58.80
197	1.00	6.00	0.00	0.00	40.00	2.00	65.00	70.00	2.00	8.05	48.40	197	21.20	30.40	31.40
198	1.00	6.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	35.00	1.00	7.68	54.40	198	17.20	28.40	0.00
199	1.00	6.00	0.00	0.00	55.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.04	38.40	199	29.20	32.40	39.20
200	1.00	6.00	0.00	0.00	350.00	2.00	0.00	185.00	2.00	8.04	42.40	200	29.20	28.40	43.10
201	1.00	6.00	0.00	0.00	70.00	2.00	0.00	80.00	2.00	8.11	60.40	201	19.20	20.40	21.60
202	1.00	6.00	0.00	15.00	0.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.06	60.40	202	19.20	20.40	19.60
203	1.00	6.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.17	50.40	203	19.20	30.40	11.80
204	1.00	6.00	0.00	65.00	80.00	2.00	0.00	15.00	2.00	7.79	62.80	204	17.20	20.00	16.60
205	1.00	6.00	0.00	0.00	25.00	2.00	0.00	60.00	2.00	7.95	65.00	205	11.00	24.00	62.40
206	1.00	6.00	0.00	40.00	125.00	2.00	0.00	45.00	2.00	7.86	57.00	206	17.00	26.00	74.90
207	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	60.00	2.00	7.99	68.80	207	11.20	20.00	31.20
208	1.00	6.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.09	79.00	208	7.00	14.00	0.80
209	1.00	6.00	5.00	0.00	10.00	2.00	0.00	0.00	1.00	7.98	63.60	209	19.00	18.00	5.50
210	1.00	6.00	5.00	25.00	10.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.90	61.00	210	15.00	24.00	47.80
211	1.00	6.00	5.00	5.00	15.00	2.00	0.00	30.00	2.00	7.77	77.00	211	3.00	20.00	12.50
212	1.00	6.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	25.00	2.00	7.86	49.00	212	17.00	34.00	31.20
213	1.00	6.00	5.00	0.00	60.00	2.00	30.00	30.00	1.00	8.11	67.00	213	11.00	22.00	16.60
214	1.00	6.00	0.00	120.00	0.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.93	49.00	214	27.00	24.00	43.70
215	1.00	6.00	0.00	5.00	70.00	2.00	0.00	40.00	2.00	7.98	50.80	215	27.20	22.00	58.20
216	1.00	6.00	0.00	0.00	25.00	2.00	15.00	45.00	2.00	7.99	50.80	216	19.20	30.00	33.30
217	1.00	6.00	0.00	5.00	50.00	2.00	0.00	160.00	2.00	8.01	54.80	217	21.20	24.00	22.90
218	1.00	6.00	0.00	0.00	0.00	2.00	5.00	15.00	2.00	7.97	79.00	218	1.00	20.00	0.80
219	1.00	6.00	0.00	25.00	30.00	2.00	0.00	110.00	2.00	8.00	31.00	219	39.00	30.00	54.10
220	1.00	6.00	0.00	0.00	600.00	2.00	0.00	215.00	2.00	7.96	33.00	220	37.00	30.00	25.00
221	1.00	6.00	0.00	30.00	50.00	2.00	0.00	25.00	2.00	8.03	53.00	221	25.00	22.00	6.20
222	1.00	6.00	0.00	15.00	35.00	2.00	0.00	45.00	2.00	8.01	63.00	222	17.00	20.00	16.60
223	1.00	6.00	0.00	20.00	75.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.03	33.00	223	37.00	30.00	45.80
224	1.00	6.00	0.00	0.00	140.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.99	35.00	224	39.00	26.00	35.40
225	1.00	6.00	0.00	0.00	90.00	2.00	45.00	55.00	2.00	7.49	36.00	225	37.60	26.40	25.00
226	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	45.00	2.00	7.50	32.20	226	41.40	26.40	45.80
227	1.00	6.00	0.00	0.00	75.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.65	74.80	227	10.80	14.40	12.50
228	1.00	6.00	0.00	15.00	55.00	2.00	5.00	170.00	2.00	7.62	41.00	228	27.00	32.00	1.70
229	1.00	6.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	55.00	2.00	7.70	43.00	229	25.00	32.00	56.20
230	1.00	6.00	0.00	0.00	420.00	2.00	0.00	15.00	2.00	7.68	45.00	230	31.00	24.00	25.00
231	1.00	6.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	30.00	1.00	7.72	35.00	231	27.00	36.00	25.00
232	1.00	6.00	0.00	40.00	0.00	2.00	45.00	80.00	2.00	7.70	61.00	232	15.00	24.00	54.00
233	1.00	6.00	0.00	0.00	60.00	2.00	0.00	55.00	2.00	7.71	63.00	233	17.00	20.00	18.70
234	1.00	6.00	0.00	0.00	70.00	2.00	0.00	100.00	2.00	7.71	69.00	234	15.00	16.00	16.60
235	1.00	6.00	0.00	10.00	10.00	2.00	0.00	165.00	2.00	7.71	44.80	235	25.20	30.00	37.40
236	1.00	6.00	0.00	20.00	25.00	2.00	0.00	15.00	2.00	7.80	70.80	236	13.20	16.00	12.50
237	1.00	6.00	620.00	45.00	0.00	2.00	0.00	0.00	1.00	7.75	79.00	237	9.00	12.00	3.30
238	1.00	6.00	0.00	0.00	1700.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.71	65.00	238	15.00	20.00	43.70
239	1.00	6.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.62	54.80	239	25.20	20.00	62.40
240	1.00	6.00	0.00	5.00	20.00	2.00	0.00	185.00	1.00	7.74	41.00	240	29.00	30.00	27.00
241	1.00	6.00	5.00	0.00	20.00	2.00	0.00	10.00	1.00	8.17	76.80	241	10.00	13.20	22.90
242	1.00	6.00	0.00	0.00	210.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.13	52.80	242	26.00	21.20	27.00
243	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	0.00	1.00	7.84	80.80	243	8.00	11.20	14.60
244	1.00	6.00	0.00	25.00	75.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.12	44.80	244	36.00	19.20	60.30
245	1														

TABLA VIII (Continuación)

\*\*\*\*\* ANALYSE DES CORRESPONDANCES MULTIPLES \*\*\*\*\*

CARACTERISTIQUES DU FICHER : A:JESUSCH  
TITRE : VARIABLES A CLASES

NOMBRE D'OBSERVATIONS : 251 NOMBRE DE VARIABLES : 14

\*\*\*\*\* NO DES VARIABLES ET NOMS \*\*\*\*\*

1. VAR / 2. SIN / 3. XIN / 4. XIT / 5. XSP / 6. MEL / 7. CRI / 8. NEM / 9. GFV / 10. PH /  
11. ARE / 12. LIM / 13. ARC / 14. CAR /

VARIABLE	Nb de CLASSES CREES	.....		CLASSES	
		No	Définition	Libellé	Nb.individus
VAR	11	1	VARIEDAD NO CON.	AA1	35
		2	AIREN	AA2	196
		3	ALBARTAD	AA3	3
		4	ALICANTE	AA4	1
		5	CENCIBEL	AA5	2
		6	CHELVA	AA6	2
		7	DON MARIANO	AA7	4
		8	DOÑA BLANCA	AA8	1
		9	MACABEO	AA9	1
		10	MONASTREL	AAA	5
		11	SANGRE DE TORO	AA8	1
SIN	15	1	NO SINTOMAS	BB1	17
		2	CEPAS MUERTAS	BB2	8
		3	CEPAS IMPRODUC.	BB3	6
		4	FALTA DE VIGOR	BB4	2
		5	CLOROSIS	BB5	11
		6	ENTRENUDO CORTO	BB6	61
		7	FASCIACION	BB7	2
		8	FILOXERA	BB8	20
		9	TOX.HERBICIDAS	BB9	4
		10	MADERA DEFORME	BBA	35
		11	MELOIDOGYNE	BBB	11
		12	MEL.+ CLOROSIS	BBB	5
		13	MOSAICO AMARILLO	BBB	5
		14	SIN.DIS.VIRUS	BBE	54
		15	SIN.ACJ.VIRUS	BBF	10
XIN	6	1	XIN de 0 a 0	CC1	221
		2	XIN de 1 a 5	CC2	11
		3	XIN de 6 a 25	CC3	11
		4	XIN de 26 a 50	CC4	3
		5	XIN de 51 a 100	CC5	3
		6	XIN de 101 a 620	CC6	2
XIT	6	1	XIT de 0 a 0	DD1	191
		2	XIT de 1 a 5	DD2	13
		3	XIT de 6 a 25	DD3	28
		4	XIT de 26 a 50	DD4	10
		5	XIT de 51 a 100	DD5	5
		6	XIT de 101 a 125	DD6	4
XSP	6	1	XSP de 0 a 0	EE1	40
		2	XSP de 1 a 5	EE2	31
		3	XSP de 6 a 25	EE3	76
		4	XSP de 26 a 50	EE4	37
		5	XSP de 51 a 100	EES	36
		6	XSP de 101 a 1700	EE6	31

TABLA VIII (Continuación)

CRI	6	1	CRI de 0 a 0	GG1	187
		2	CRI de 1 a 50	GG2	46
		3	CRI de 51 a 100	GG3	9
		4	CRI de 101 a 200	GG4	6
		5	CRI de 201 a 400	GG5	1
		6	CRI de 401 a 440	GG6	2
NEM	7	1	NEM de 0 a 0	HH1	32
		2	NEM de 1 a 50	HH2	115
		3	NEM de 51 a 100	HH3	42
		4	NEM de 101 a 200	HH4	32
		5	NEM de 201 a 400	HH5	16
		6	NEM de 401 a 1000	HH6	9
		7	NEM de 1001 a 8050	HH7	5
BFV	2	1	PRESENCIA	II1	64
		2	AUSENCIA	II2	187
PH	5	1	PH de 3.95 a 4.5	JJ1	8
		2	PH > 4.5 a 5.6	JJ2	26
		3	PH > 5.6 a 6.4	JJ3	8
		4	PH > 6.4 a 7.6	JJ4	11
		5	PH > 7.6 a 8.3	JJ5	198
ARE	4	1	ARE de 14.8 a 30	KK1	19
		2	ARE > 30 a 50	KK2	87
		3	ARE > 50 a 70	KK3	110
		4	ARE > 70 a 89.2	KK4	35
LIM	3	1	LIM de 1 a 10	LL1	14
		2	LIM > 10 a 40	LL2	225
		3	LIM > 40 a 67.2	LL3	12
ARC	4	1	ARC de .8 a 10	MM1	29
		2	ARC > 10 a 20	MM2	86
		3	ARC > 20 a 35	MM3	105
		4	ARC > 35 a 52.4	MM4	31
CAR	5	1	CAR de 0 a 0	NN1	49
		2	CAR de .8 a 5	NN2	14
		3	CAR > 5 a 20	NN3	58
		4	CAR > 20 a 35	NN4	50
		5	CAR > 35 a 86	NN5	80

NOMBRE TOTAL DE CLASES = 82

TABLA VIII (Continuación)

VALEURS PROPRES ET VECTEURS PROPRES

INERTIE TOTALE 4.857147

1ere COLONNE : VALEURS PROPRES (variances sur les axes principaux)  
 2eme COLONNE : CONTRIBUTION A L'INERTIE TOTALE  
 (pourcentages expliqués par les axes principaux)  
 3eme COLONNE : CONTRIBUTION CUMULEE A L'INERTIE TOTALE  
 (pourcentages cumulés expliqués par les axes principaux)

VAL.PRD %EXP %CUM  
 0.30 6 6 / \*\*\*\*\*  
 0.19 4 10 / \*\*\*\*\*  
 0.17 3 14 / \*\*\*\*\*

VECTEURS PROPRES (coefficients des modalités des variables dans l'équation linéaire des axes principaux)

AA1	-3.667	-1.364	-0.903	EE4	0.014	-0.822	-1.322
AA2	0.754	0.303	-0.244	EE5	0.706	-0.091	-0.567
AA3	-4.791	1.500	4.910	EE6	0.581	-1.003	-1.355
AA4	-2.249	-2.361	-2.744	FF1	-0.660	2.844	-0.068
AA5	0.890	-1.314	2.194	FF2	0.071	-0.315	0.008
AA6	-0.408	4.535	2.832	GG1	0.455	0.053	-0.051
AA7	0.011	-1.500	4.790	GG2	-1.121	-0.015	0.309
AA8	-4.609	-2.418	2.531	GG3	-1.778	0.394	1.359
AA9	-4.545	0.038	2.710	GG4	-2.288	-2.618	-4.404
AAA	0.926	-2.115	3.906	GG5	-0.313	5.235	3.032
AAB	0.208	-1.208	13.434	GG6	-1.938	-1.177	3.236
BB1	-0.910	-0.394	-0.532	HH1	0.129	0.735	-1.440
BB2	-0.043	0.597	-0.479	HH2	0.006	0.270	-0.163
BB3	-4.355	-0.766	-1.095	HH3	0.801	-0.444	0.486
BB4	1.868	-2.729	0.437	HH4	0.169	-0.639	1.033
BB5	0.719	-1.454	-0.828	HH5	-0.787	-0.478	-0.779
BB6	1.077	0.343	-1.015	HH6	-3.189	0.225	-0.084
BB7	0.776	0.036	7.771	HH7	-0.600	-1.964	4.919
BB8	1.065	-0.728	1.100	II1	-0.050	0.871	2.408
BB9	-2.049	0.933	1.076	II2	0.015	-0.298	-0.824
BBA	0.461	0.039	-1.790	JJ1	-3.152	-2.748	-2.218
BBB	-0.025	5.221	0.073	JJ2	-3.840	-0.740	-0.371
BBC	0.336	3.021	-0.583	JJ3	-2.526	-1.881	0.497
BBD	-0.391	0.869	3.731	JJ4	-1.874	1.956	1.471
BBE	-1.247	-0.975	1.420	JJ5	0.836	0.176	0.036
BBF	0.132	-0.777	1.723	KK1	0.828	-2.465	2.641
CC1	0.012	-0.292	-0.241	KK2	0.812	-0.729	0.533
CC2	1.026	1.504	0.300	KK3	-0.341	-0.250	-1.105
CC3	-0.148	2.858	2.264	KK4	-1.408	3.938	0.714
CC4	-0.515	-1.082	9.437	LL1	-0.401	6.126	0.179
CC5	-2.105	3.523	-0.348	LL2	0.079	-0.323	0.010
CC6	-2.410	4.637	-1.065	LL3	-1.042	-1.091	-0.392
DD1	-0.132	-0.078	0.341	MM1	-3.289	-0.025	0.793
DD2	0.521	-0.105	-0.082	MM2	-0.459	1.395	-1.043
DD3	0.535	0.436	-1.411	MM3	0.965	-0.627	-0.254
DD4	0.618	0.071	-1.205	MM4	1.067	-1.722	3.012
DD5	-1.022	-1.111	-1.404	NN1	-3.308	-0.806	-0.408
DD6	0.504	2.250	-1.374	NN2	0.446	3.066	0.729
EE1	-1.289	0.399	1.437	NN3	0.556	1.467	-0.172
EE2	-0.023	0.003	1.392	NN4	0.897	-0.372	0.522
EE3	0.104	0.642	0.141	NN5	0.979	-0.873	-0.079

TABLA VIII (Continuación)

ETUDE DES VARIABLES

1re COLONNE : COORDONNEE  
 2e COLONNE : COSINUS CARRE (QUALITE DE LA REPRESENTATION)  
 3e COLONNE : CONTRIBUTION RELATIVE A L'INERTIE EXPLIQUEE PAR L'AXE

AXES PRINCIPAUX

	AXE 1		AXE 2		AXE 3				
VARIABLES PRISES EN COMPTE DANS L'ANALYSE									
AA1	** -2.014	0.657	13.4*	-0.591	0.057	1.9*	-0.371	0.022	0.8*
AA2	** 0.414	0.612	3.2*	0.131	0.061	0.5*	-0.100	0.036	0.3*
AA3	** -2.631	0.084	2.0*	0.650	0.005	0.2*	2.015	0.049	2.1*
AA4	** -1.235	0.006	0.1*	-1.022	0.004	0.2*	-1.126	0.005	0.2*
AA5	** 0.489	0.002	0.0*	-0.569	0.003	0.1*	0.900	0.007	0.3*
AA6	** -0.224	0.000	0.0*	1.964	0.031	1.2*	1.162	0.011	0.5*
AA7	** 0.006	0.000	0.0*	-0.650	0.007	0.3*	1.966	0.063	2.6*
AA8	** -2.531	0.026	0.6*	-1.047	0.004	0.2*	1.039	0.004	0.2*
AA9	** -2.496	0.025	0.6*	0.016	0.000	0.0*	1.112	0.005	0.2*
AAA	** 0.509	0.005	0.1*	-0.916	0.017	0.6*	1.603	0.052	2.2*
AAB	** 0.114	0.000	0.0*	-0.523	0.001	0.0*	5.514	0.122	5.1*
**			20.0 *			5.1 *			14.5 *
BB1	** -0.500	0.018	0.4*	-0.171	0.002	0.1*	-0.218	0.003	0.1*
BB2	** -0.023	0.000	0.0*	0.259	0.002	0.1*	-0.196	0.001	0.1*
BB3	** -2.391	0.140	3.2*	-0.332	0.003	0.1*	-0.450	0.005	0.2*
BB4	** 1.026	0.008	0.2*	-1.182	0.011	0.4*	0.179	0.000	0.0*
BB5	** 0.395	0.007	0.2*	-0.630	0.018	0.7*	-0.340	0.005	0.2*
BB6	** 0.591	0.112	2.0*	0.148	0.007	0.2*	-0.417	0.056	1.8*
BB7	** 0.426	0.001	0.0*	0.016	0.000	0.0*	3.190	0.082	3.4*
BB8	** 0.585	0.030	0.6*	-0.315	0.009	0.3*	0.451	0.018	0.7*
BB9	** -1.125	0.021	0.5*	0.404	0.003	0.1*	0.442	0.003	0.1*
BBA	** 0.253	0.010	0.2*	0.017	0.000	0.0*	-0.735	0.087	3.2*
BBB	** -0.014	0.000	0.0*	2.261	0.234	8.5*	0.030	0.000	0.0*
BBC	** 0.184	0.001	0.0*	1.308	0.035	1.3*	-0.239	0.001	0.0*
BBD	** -0.215	0.001	0.0*	0.376	0.003	0.1*	1.531	0.048	2.0*
BBE	** -0.685	0.128	2.4*	-0.422	0.049	1.5*	0.583	0.093	3.1*
BBF	** 0.072	0.000	0.0*	-0.336	0.005	0.2*	0.707	0.021	0.8*
**			9.8 *			13.5 *			15.8 *
CC1	** 0.006	0.000	0.0*	-0.127	0.118	0.5*	-0.099	0.072	0.4*
CC2	** 0.564	0.015	0.3*	0.651	0.019	0.7*	0.123	0.001	0.0*
CC3	** -0.081	0.000	0.0*	1.238	0.070	2.6*	0.929	0.040	1.6*
CC4	** -0.283	0.001	0.0*	-0.468	0.003	0.1*	3.873	0.181	7.6*
CC5	** -1.156	0.016	0.4*	1.526	0.028	1.1*	-0.143	0.000	0.0*
CC6	** -1.323	0.014	0.3*	2.008	0.032	1.2*	-0.445	0.002	0.1*
**			1.1 *			6.2 *			9.7 *
DD1	** -0.073	0.017	0.1*	-0.034	0.004	0.0*	0.140	0.062	0.6*
DD2	** 0.286	0.004	0.1*	-0.045	0.000	0.0*	-0.034	0.000	0.0*
DD3	** 0.294	0.011	0.2*	0.189	0.004	0.2*	-0.579	0.042	1.6*
DD4	** 0.340	0.005	0.1*	0.031	0.000	0.0*	-0.495	0.010	0.4*
DD5	** -0.561	0.006	0.1*	-0.481	0.005	0.2*	-0.576	0.007	0.3*
DD6	** 0.277	0.001	0.0*	0.974	0.015	0.6*	-0.564	0.005	0.2*
**			0.7 *			0.9 *			3.1 *
EE1	** -0.708	0.095	1.9*	0.173	0.006	0.2*	0.590	0.066	2.4*
EE2	** -0.013	0.000	0.0*	0.001	0.000	0.0*	0.571	0.046	1.7*
EE3	** 0.057	0.001	0.0*	0.278	0.034	0.9*	0.058	0.001	0.0*
EE4	** 0.008	0.000	0.0*	-0.356	0.022	0.7*	-0.543	0.051	1.8*
EE5	** 0.388	0.025	0.5*	-0.039	0.000	0.0*	-0.233	0.009	0.3*
EE6	** 0.319	0.014	0.3*	-0.434	0.027	0.9*	-0.556	0.044	1.6*
**			2.7 *			2.7 *			7.9 *

TABLA VIII (Continuación)

AXES PRINCIPAUX										
	AXE 1			AXE 2			AXE 3			
FF1	**	-0.363	0.015	0.3*	1.232	0.168	5.8*	-0.028	0.000	0.0*
FF2	**	0.039	0.014	0.0*	-0.136	0.168	0.6*	0.003	0.000	0.0*
	**			0.3 #			6.4 #			0.0 #
GG1	**	0.250	0.182	1.1*	0.023	0.002	0.0*	-0.021	0.001	0.0*
GG2	**	-0.616	0.085	1.6*	-0.006	0.000	0.0*	0.127	0.004	0.1*
GG3	**	-0.976	0.035	0.8*	0.171	0.001	0.0*	0.558	0.012	0.5*
GG4	**	-1.256	0.039	0.9*	-1.134	0.031	1.2*	-1.808	0.080	3.3*
GG5	**	-0.172	0.000	0.0*	2.267	0.021	0.8*	1.244	0.006	0.3*
GG6	**	-1.064	0.009	0.2*	-0.510	0.002	0.1*	1.328	0.014	0.6*
	**			4.7 #			2.1 #			4.8 #
HH1	**	0.071	0.001	0.0*	0.318	0.015	0.5*	-0.591	0.051	1.9*
HH2	**	0.003	0.000	0.0*	0.117	0.012	0.2*	-0.067	0.004	0.1*
HH3	**	0.440	0.039	0.8*	-0.192	0.007	0.2*	0.199	0.008	0.3*
HH4	**	0.093	0.001	0.0*	-0.277	0.011	0.4*	0.424	0.026	1.0*
HH5	**	-0.432	0.013	0.3*	-0.207	0.003	0.1*	-0.320	0.007	0.3*
HH6	**	-1.751	0.114	2.6*	0.097	0.000	0.0*	-0.035	0.000	0.0*
HH7	**	-0.330	0.002	0.1*	-0.851	0.015	0.5*	2.019	0.083	3.4*
	**			3.7 #			2.0 #			6.9 #
II1	**	-0.027	0.000	0.0*	0.377	0.049	1.4*	0.988	0.334	10.6*
II2	**	0.008	0.000	0.0*	-0.129	0.049	0.5*	-0.338	0.334	3.6*
	**			0.0 #			1.9 #			14.2 #
JJ1	**	-1.731	0.099	2.3*	-1.190	0.047	1.7*	-0.910	0.027	1.1*
JJ2	**	-2.108	0.514	10.9*	-0.321	0.012	0.4*	-0.152	0.003	0.1*
JJ3	**	-1.387	0.063	1.5*	-0.814	0.022	0.8*	0.204	0.001	0.1*
JJ4	**	-1.029	0.049	1.1*	0.847	0.033	1.2*	0.604	0.017	0.7*
JJ5	**	0.459	0.787	3.9*	0.076	0.022	0.2*	0.015	0.001	0.0*
	**			19.7 #			4.3 #			2.0 #
KK1	**	0.454	0.017	0.4*	-1.068	0.093	3.3*	1.064	0.096	3.8*
KK2	**	0.446	0.105	1.6*	-0.316	0.053	1.3*	0.219	0.025	0.7*
KK3	**	-0.187	0.027	0.4*	-0.108	0.009	0.2*	-0.453	0.160	3.8*
KK4	**	-0.773	0.097	2.0*	1.705	0.471	15.4*	0.293	0.014	0.5*
	**			4.3 #			20.2 #			8.8 #
LL1	**	-0.220	0.003	0.1*	2.653	0.416	14.9*	0.073	0.000	0.0*
LL2	**	0.043	0.016	0.0*	-0.140	0.169	0.7*	0.004	0.000	0.0*
LL3	**	-0.572	0.016	0.4*	-0.472	0.011	0.4*	-0.161	0.001	0.1*
	**			0.5 #			16.0 #			0.1 #
MM1	**	-1.806	0.426	8.9*	-0.011	0.000	0.0*	0.325	0.014	0.5*
MM2	**	-0.252	0.033	0.5*	0.604	0.190	4.8*	-0.428	0.095	2.7*
MM3	**	0.530	0.202	2.8*	-0.271	0.053	1.2*	-0.104	0.008	0.2*
MM4	**	0.586	0.048	1.0*	-0.746	0.078	2.6*	1.236	0.215	8.0*
	**			13.2 #			8.6 #			11.4 #
NN1	**	-1.817	0.800	15.3*	-0.349	0.030	0.9*	-0.167	0.007	0.2*
NN2	**	0.245	0.004	0.1*	1.328	0.104	3.7*	0.299	0.005	0.2*
NN3	**	0.305	0.028	0.5*	0.635	0.121	3.6*	-0.071	0.002	0.0*
NN4	**	0.493	0.060	1.1*	-0.161	0.006	0.2*	0.214	0.011	0.4*
NN5	**	0.538	0.135	2.2*	-0.378	0.067	1.7*	-0.033	0.000	0.0*
	**			19.2 #			10.1 #			0.9 #

# TABLA VIII (Continuación)

ETUDE DES INDIVIDUS

1re COLONNE : COORDONNEE

2e COLONNE : COSINUS CARRE (QUALITE DE LA REPRESENTATION)

3e COLONNE : CONTRIBUTION RELATIVE A L'INERTIE EXPLIQUEE PAR L'AXE

## AXES PRINCIPAUX

	AXE 1	AXE 2	AXE 3							
INDIVIDUS PRIS EN COMPTE DANS L'ANALYSE										
.1	**	0.255	0.006	0.1*	-0.261	0.006	0.1*	0.582	0.032	0.8*
.2	**	0.239	0.017	0.1*	-0.054	0.001	0.0*	-0.146	0.006	0.1*
.3	**	0.290	0.024	0.1*	-0.256	0.018	0.1*	0.392	0.043	0.4*
.4	**	-0.040	0.000	0.0*	0.468	0.054	0.5*	-0.029	0.000	0.0*
.5	**	0.032	0.000	0.0*	1.625	0.476	5.6*	-0.311	0.017	0.2*
.6	**	-0.025	0.000	0.0*	1.555	0.526	5.1*	-0.094	0.002	0.0*
.7	**	0.127	0.003	0.0*	0.461	0.039	0.5*	-0.144	0.004	0.0*
.8	**	-0.141	0.003	0.0*	0.708	0.077	1.1*	-0.142	0.003	0.0*
.9	**	0.121	0.003	0.0*	0.857	0.171	1.6*	-0.223	0.012	0.1*
.10	**	0.304	0.039	0.1*	-0.109	0.005	0.0*	-0.172	0.012	0.1*
.11	**	0.179	0.006	0.0*	0.537	0.056	0.6*	-0.209	0.009	0.1*
.12	**	0.057	0.001	0.0*	0.276	0.027	0.2*	-0.387	0.053	0.4*
.13	**	0.271	0.010	0.1*	0.141	0.003	0.0*	-0.525	0.039	0.7*
.14	**	0.393	0.057	0.2*	-0.322	0.038	0.2*	-0.177	0.012	0.1*
.15	**	0.176	0.015	0.0*	0.069	0.002	0.0*	-0.071	0.003	0.0*
.16	**	0.369	0.020	0.2*	-0.223	0.007	0.1*	0.250	0.009	0.1*
.17	**	0.386	0.068	0.2*	0.004	0.000	0.0*	0.336	0.051	0.3*
.18	**	0.182	0.012	0.0*	-0.109	0.004	0.0*	-0.047	0.001	0.0*
.19	**	0.411	0.030	0.2*	0.159	0.004	0.1*	-0.121	0.003	0.0*
.20	**	0.334	0.054	0.1*	-0.129	0.008	0.0*	0.225	0.024	0.1*
.21	**	0.485	0.104	0.3*	-0.319	0.045	0.2*	0.057	0.001	0.0*
.22	**	0.441	0.056	0.3*	-0.514	0.076	0.6*	0.581	0.097	0.8*
.23	**	0.484	0.051	0.3*	-0.230	0.012	0.1*	0.631	0.087	0.9*
.24	**	0.475	0.100	0.3*	-0.321	0.046	0.2*	0.007	0.000	0.0*
.25	**	0.418	0.088	0.2*	-0.270	0.037	0.2*	-0.039	0.001	0.0*
.26	**	0.172	0.016	0.0*	-0.056	0.002	0.0*	-0.304	0.050	0.2*
.27	**	0.353	0.040	0.2*	-0.326	0.035	0.2*	-0.172	0.010	0.1*
.28	**	0.061	0.000	0.0*	-0.228	0.002	0.1*	2.263	0.200	12.1*
.29	**	-0.229	0.014	0.1*	-0.244	0.016	0.1*	-0.120	0.004	0.0*
.30	**	0.119	0.003	0.0*	-0.135	0.003	0.0*	-0.351	0.024	0.3*
.31	**	-0.141	0.001	0.0*	1.231	0.098	3.2*	0.099	0.001	0.0*
.32	**	0.082	0.001	0.0*	-0.132	0.004	0.0*	-0.359	0.027	0.3*
.33	**	0.091	0.001	0.0*	0.262	0.007	0.1*	-0.253	0.006	0.2*
.34	**	0.227	0.012	0.1*	0.192	0.009	0.1*	-0.594	0.082	0.8*
.35	**	0.457	0.049	0.3*	-0.540	0.069	0.6*	0.070	0.001	0.0*
.36	**	0.578	0.029	0.4*	-0.627	0.034	0.8*	0.127	0.001	0.0*
.37	**	0.500	0.056	0.3*	-0.388	0.034	0.3*	0.324	0.023	0.2*
.38	**	0.361	0.019	0.2*	-0.572	0.046	0.7*	0.444	0.028	0.5*
.39	**	0.325	0.016	0.1*	-0.630	0.061	0.8*	0.941	0.136	2.1*
.40	**	0.371	0.021	0.2*	-0.727	0.082	1.1*	0.708	0.078	1.2*
.41	**	0.314	0.016	0.1*	-0.676	0.074	1.0*	0.661	0.071	1.0*
.42	**	-0.111	0.002	0.0*	-0.386	0.020	0.3*	0.232	0.007	0.1*
.43	**	-0.072	0.000	0.0*	-0.216	0.004	0.1*	0.850	0.065	1.7*
.44	**	0.064	0.000	0.0*	-0.441	0.021	0.4*	1.091	0.129	2.8*
.45	**	0.125	0.001	0.0*	-0.082	0.000	0.0*	1.055	0.076	2.6*
.46	**	0.015	0.000	0.0*	0.614	0.057	0.8*	0.534	0.043	0.7*
.47	**	0.278	0.007	0.1*	-0.232	0.005	0.1*	0.157	0.002	0.1*
.48	**	0.219	0.018	0.1*	-0.067	0.002	0.0*	0.172	0.011	0.1*
.49	**	0.260	0.056	0.1*	-0.136	0.015	0.0*	0.276	0.063	0.2*
.50	**	-0.235	0.014	0.1*	0.957	0.226	1.9*	0.141	0.005	0.0*
.51	**	0.131	0.005	0.0*	0.723	0.139	1.1*	-0.064	0.001	0.0*
.52	**	-0.031	0.000	0.0*	0.993	0.181	2.1*	0.224	0.009	0.1*
.53	**	-0.031	0.000	0.0*	1.033	0.143	2.3*	0.188	0.005	0.1*
.54	**	-0.174	0.009	0.0*	0.045	0.001	0.0*	0.081	0.002	0.0*
.55	**	0.298	0.010	0.1*	0.020	0.000	0.0*	0.860	0.086	1.7*
.56	**	0.229	0.013	0.1*	0.068	0.001	0.0*	0.856	0.183	1.7*
.57	**	0.236	0.005	0.1*	-0.200	0.004	0.1*	0.484	0.021	0.6*
.58	**	0.246	0.020	0.1*	-0.126	0.005	0.0*	0.323	0.035	0.2*
.59	**	0.317	0.023	0.1*	0.271	0.017	0.2*	0.470	0.051	0.5*

TABLA VIII (Continuación)

.60	**	0.301	0.034	0.1*	-0.102	0.004	0.0*	0.289	0.032	0.2*
.61	**	0.420	0.055	0.2*	0.103	0.003	0.0*	-0.063	0.001	0.0*
.62	**	0.341	0.007	0.2*	0.097	0.001	0.0*	1.564	0.142	5.8*
.63	**	0.215	0.022	0.1*	-0.110	0.006	0.0*	-0.302	0.043	0.2*
.64	**	0.266	0.015	0.1*	0.147	0.004	0.0*	0.364	0.028	0.3*
.65	**	0.254	0.010	0.1*	0.372	0.022	0.3*	0.543	0.047	0.7*
.66	**	-0.062	0.002	0.0*	0.380	0.058	0.3*	0.163	0.011	0.1*
.67	**	0.351	0.070	0.2*	-0.044	0.001	0.0*	0.019	0.000	0.0*
.68	**	0.216	0.019	0.1*	-0.098	0.004	0.0*	0.294	0.034	0.2*
.69	**	0.366	0.048	0.2*	-0.192	0.013	0.1*	0.128	0.006	0.0*
.70	**	0.252	0.011	0.1*	-0.126	0.003	0.0*	0.336	0.019	0.3*
.71	**	-0.094	0.002	0.0*	0.557	0.060	0.7*	0.263	0.013	0.2*
.72	**	-1.665	0.175	3.7*	0.401	0.010	0.3*	1.043	0.069	2.6*
.73	**	-1.408	0.078	2.6*	-0.241	0.002	0.1*	0.614	0.015	0.9*
.74	**	-1.263	0.152	2.1*	0.679	0.044	1.0*	0.831	0.066	1.6*
.75	**	-1.245	0.225	2.0*	-0.262	0.010	0.1*	-0.365	0.019	0.3*
.76	**	-1.469	0.190	2.9*	0.184	0.003	0.1*	0.266	0.006	0.2*
.77	**	-1.335	0.119	2.4*	0.183	0.002	0.1*	-0.328	0.007	0.3*
.78	**	-0.873	0.062	1.0*	-0.479	0.019	0.5*	0.944	0.072	2.1*
.79	**	-1.078	0.272	1.5*	-0.325	0.025	0.2*	0.018	0.000	0.0*
.80	**	-0.825	0.251	0.9*	-0.376	0.052	0.3*	-0.286	0.030	0.2*
.81	**	-0.680	0.018	0.6*	-0.443	0.008	0.4*	-0.459	0.008	0.5*
.82	**	-1.372	0.089	2.5*	0.004	0.000	0.0*	0.456	0.010	0.5*
.83	**	-1.392	0.086	2.6*	-0.455	0.009	0.4*	0.427	0.008	0.4*
.84	**	-0.937	0.132	1.2*	-0.550	0.046	0.6*	-0.804	0.097	1.5*
.85	**	-0.930	0.209	1.1*	-0.297	0.021	0.2*	-0.036	0.000	0.0*
.86	**	-0.828	0.185	0.9*	0.098	0.003	0.0*	0.148	0.006	0.1*
.87	**	0.406	0.060	0.2*	-0.257	0.024	0.1*	0.016	0.000	0.0*
.88	**	0.211	0.012	0.1*	0.189	0.010	0.1*	-0.170	0.008	0.1*
.89	**	0.332	0.039	0.1*	-0.186	0.012	0.1*	0.039	0.001	0.0*
.90	**	-0.295	0.016	0.1*	-0.266	0.013	0.2*	0.012	0.000	0.0*
.91	**	-0.350	0.033	0.2*	-0.215	0.012	0.1*	-0.453	0.055	0.5*
.92	**	0.166	0.006	0.0*	0.172	0.006	0.1*	0.478	0.046	0.5*
.93	**	0.208	0.004	0.1*	0.706	0.041	1.1*	0.253	0.005	0.2*
.94	**	0.356	0.026	0.2*	-0.384	0.030	0.3*	0.511	0.053	0.6*
.95	**	0.329	0.063	0.1*	-0.348	0.071	0.3*	0.325	0.062	0.2*
.96	**	-0.081	0.001	0.0*	0.659	0.051	0.9*	-0.060	0.000	0.0*
.97	**	0.316	0.023	0.1*	0.023	0.000	0.0*	0.103	0.002	0.0*
.98	**	-0.523	0.103	0.4*	0.225	0.019	0.1*	-0.191	0.014	0.1*
.99	**	-0.310	0.026	0.1*	-0.063	0.001	0.0*	0.077	0.002	0.0*
.100	**	-0.494	0.067	0.3*	0.116	0.004	0.0*	-0.096	0.003	0.0*
.101	**	0.167	0.007	0.0*	0.041	0.000	0.0*	0.198	0.010	0.1*
.102	**	0.251	0.012	0.1*	-0.402	0.031	0.3*	0.505	0.048	0.6*
.103	**	-0.035	0.000	0.0*	0.053	0.001	0.0*	-0.074	0.002	0.0*
.104	**	0.068	0.001	0.0*	0.068	0.001	0.0*	-0.042	0.001	0.0*
.105	**	0.284	0.017	0.1*	-0.164	0.006	0.1*	0.271	0.015	0.2*
.106	**	0.348	0.033	0.2*	-0.433	0.051	0.4*	0.279	0.021	0.2*
.107	**	0.308	0.043	0.1*	-0.252	0.028	0.1*	0.137	0.008	0.0*
.108	**	0.217	0.020	0.1*	-0.070	0.002	0.0*	0.010	0.000	0.0*
.109	**	0.301	0.032	0.1*	-0.425	0.064	0.4*	0.120	0.005	0.0*
.110	**	0.338	0.051	0.2*	-0.297	0.040	0.2*	0.348	0.055	0.3*
.111	**	0.437	0.110	0.3*	-0.302	0.053	0.2*	-0.242	0.034	0.1*
.112	**	0.544	0.030	0.4*	-0.395	0.016	0.3*	0.021	0.000	0.0*
.113	**	-0.452	0.012	0.3*	0.993	0.059	2.1*	0.702	0.029	1.2*
.114	**	0.066	0.001	0.0*	0.391	0.022	0.3*	-0.121	0.002	0.0*
.115	**	0.207	0.013	0.1*	0.603	0.112	0.8*	0.100	0.003	0.0*
.116	**	0.075	0.001	0.0*	1.062	0.194	2.4*	-0.018	0.000	0.0*
.117	**	0.272	0.046	0.1*	-0.201	0.025	0.1*	0.361	0.081	0.3*
.118	**	0.104	0.002	0.0*	-0.548	0.047	0.6*	1.138	0.201	3.1*
.119	**	0.483	0.084	0.3*	-0.293	0.031	0.2*	0.450	0.073	0.5*
.120	**	0.293	0.030	0.1*	-0.025	0.000	0.0*	-0.181	0.011	0.1*
.121	**	0.111	0.005	0.0*	-0.156	0.009	0.1*	-0.033	0.000	0.0*
.122	**	0.299	0.065	0.1*	-0.336	0.082	0.2*	-0.062	0.003	0.0*
.123	**	0.142	0.004	0.0*	0.471	0.045	0.5*	-0.277	0.016	0.2*
.124	**	0.326	0.053	0.1*	-0.135	0.009	0.0*	0.346	0.060	0.3*
.125	**	0.255	0.033	0.1*	0.010	0.000	0.0*	-0.242	0.029	0.1*
.126	**	0.125	0.005	0.0*	0.661	0.130	0.9*	-0.321	0.031	0.2*
.127	**	0.038	0.001	0.0*	-0.109	0.008	0.0*	0.011	0.000	0.0*
.128	**	-0.131	0.011	0.0*	-0.063	0.003	0.0*	-0.010	0.000	0.0*
.129	**	-0.812	0.077	0.9*	1.709	0.342	6.2*	0.625	0.046	0.9*

TABLA VIII (Continuación)

.130	**	-0.093	0.000	0.0*	0.961	0.045	2.0*	0.509	0.012	0.6*
.131	**	0.322	0.029	0.1*	-0.316	0.028	0.2*	0.482	0.066	0.5*
.132	**	0.306	0.024	0.1*	-0.154	0.006	0.1*	0.284	0.021	0.2*
.133	**	0.152	0.008	0.0*	-0.472	0.079	0.5*	0.544	0.105	0.7*
.134	**	0.462	0.082	0.3*	-0.304	0.036	0.2*	-0.069	0.002	0.0*
.135	**	-0.200	0.012	0.1*	-0.036	0.000	0.0*	0.275	0.023	0.2*
.136	**	-0.135	0.004	0.0*	-0.023	0.000	0.0*	0.676	0.094	1.1*
.137	**	0.427	0.044	0.2*	-0.145	0.005	0.0*	0.003	0.000	0.0*
.138	**	-0.734	0.067	0.7*	-0.626	0.049	0.8*	-0.108	0.001	0.0*
.139	**	-0.832	0.098	0.9*	-0.730	0.075	1.1*	0.178	0.004	0.1*
.140	**	-0.948	0.205	1.2*	-0.414	0.039	0.4*	-0.245	0.014	0.1*
.141	**	-1.235	0.360	2.0*	-0.289	0.020	0.2*	0.213	0.011	0.1*
.142	**	-1.001	0.182	1.3*	0.418	0.032	0.4*	-0.359	0.023	0.3*
.143	**	-1.307	0.251	2.3*	-0.316	0.015	0.2*	-0.201	0.006	0.1*
.144	**	-0.955	0.253	1.2*	-0.150	0.006	0.0*	-0.433	0.052	0.4*
.145	**	-1.191	0.174	1.9*	-0.581	0.041	0.7*	-0.770	0.073	1.4*
.146	**	-1.253	0.497	2.1*	-0.040	0.001	0.0*	0.126	0.005	0.0*
.147	**	-1.028	0.154	1.4*	-0.659	0.063	0.9*	-0.775	0.087	1.4*
.148	**	-1.392	0.397	2.6*	0.054	0.001	0.0*	0.026	0.000	0.0*
.149	**	-1.265	0.220	2.1*	-0.532	0.039	0.6*	-0.640	0.056	1.0*
.150	**	-1.150	0.276	1.7*	-0.515	0.056	0.6*	-0.114	0.003	0.0*
.151	**	-1.338	0.221	2.4*	-0.142	0.002	0.0*	-0.128	0.002	0.0*
.152	**	-1.262	0.162	2.1*	-0.239	0.006	0.1*	0.559	0.032	0.7*
.153	**	-1.318	0.448	2.3*	0.198	0.010	0.1*	0.054	0.001	0.0*
.154	**	-1.681	0.211	3.7*	0.088	0.001	0.0*	-0.218	0.004	0.1*
.155	**	-1.162	0.238	1.8*	-0.173	0.005	0.1*	-0.507	0.045	0.6*
.156	**	-0.930	0.082	1.1*	-0.512	0.025	0.6*	-0.318	0.010	0.2*
.157	**	-1.251	0.404	2.1*	-0.146	0.006	0.0*	0.013	0.000	0.0*
.158	**	-1.018	0.301	1.4*	0.021	0.000	0.0*	-0.232	0.016	0.1*
.159	**	-1.177	0.493	1.8*	-0.339	0.041	0.2*	-0.004	0.000	0.0*
.160	**	-0.959	0.130	1.2*	-0.597	0.050	0.8*	-0.478	0.032	0.5*
.161	**	-0.879	0.198	1.0*	-0.414	0.044	0.4*	-0.244	0.015	0.1*
.162	**	-0.905	0.325	1.1*	-0.259	0.027	0.1*	-0.085	0.003	0.0*
.163	**	-1.068	0.380	1.5*	-0.288	0.028	0.2*	-0.188	0.012	0.1*
.164	**	0.165	0.007	0.0*	-0.076	0.002	0.0*	-0.265	0.019	0.2*
.165	**	-0.166	0.011	0.0*	-0.121	0.006	0.0*	-0.529	0.109	0.7*
.166	**	0.375	0.088	0.2*	-0.215	0.029	0.1*	-0.246	0.038	0.1*
.167	**	-0.014	0.000	0.0*	1.216	0.283	3.1*	-0.143	0.004	0.0*
.168	**	0.428	0.052	0.2*	-0.038	0.000	0.0*	-0.422	0.051	0.4*
.169	**	0.056	0.001	0.0*	-0.307	0.017	0.2*	-0.770	0.109	1.4*
.170	**	0.213	0.009	0.1*	-0.317	0.021	0.2*	-0.691	0.098	1.1*
.171	**	0.166	0.018	0.0*	0.095	0.006	0.0*	-0.469	0.143	0.5*
.172	**	-0.040	0.000	0.0*	0.019	0.000	0.0*	-0.220	0.014	0.1*
.173	**	0.256	0.027	0.1*	-0.101	0.004	0.0*	-0.502	0.105	0.6*
.174	**	0.207	0.026	0.1*	0.082	0.004	0.0*	-0.471	0.136	0.5*
.175	**	0.181	0.019	0.0*	0.232	0.032	0.1*	-0.455	0.122	0.5*
.176	**	0.173	0.006	0.0*	-0.159	0.005	0.1*	-0.589	0.069	0.8*
.177	**	0.316	0.064	0.1*	-0.177	0.020	0.1*	-0.216	0.030	0.1*
.178	**	0.302	0.038	0.1*	0.050	0.001	0.0*	-0.624	0.161	0.9*
.179	**	0.295	0.027	0.1*	-0.152	0.007	0.0*	-0.409	0.052	0.4*
.180	**	0.342	0.075	0.2*	-0.129	0.011	0.0*	-0.309	0.061	0.2*
.181	**	0.472	0.103	0.3*	-0.126	0.007	0.0*	-0.317	0.047	0.2*
.182	**	0.342	0.047	0.2*	0.030	0.000	0.0*	-0.231	0.021	0.1*
.183	**	0.139	0.007	0.0*	-0.121	0.005	0.0*	-0.433	0.066	0.4*
.184	**	0.342	0.047	0.2*	0.030	0.000	0.0*	-0.231	0.021	0.1*
.185	**	0.357	0.098	0.2*	0.021	0.000	0.0*	-0.191	0.028	0.1*
.186	**	0.294	0.058	0.1*	0.007	0.000	0.0*	-0.027	0.001	0.0*
.187	**	0.252	0.025	0.1*	-0.116	0.005	0.0*	-0.459	0.082	0.5*
.188	**	0.376	0.059	0.2*	-0.074	0.002	0.0*	-0.259	0.028	0.2*
.189	**	0.292	0.055	0.1*	-0.181	0.021	0.1*	-0.363	0.085	0.3*
.190	**	-0.316	0.029	0.1*	0.412	0.048	0.4*	-0.102	0.003	0.0*
.191	**	0.475	0.099	0.3*	-0.252	0.028	0.1*	-0.051	0.001	0.0*
.192	**	0.420	0.069	0.2*	0.100	0.004	0.0*	0.050	0.001	0.0*
.193	**	0.400	0.065	0.2*	0.078	0.002	0.0*	0.162	0.011	0.1*
.194	**	0.367	0.055	0.2*	-0.269	0.030	0.2*	0.309	0.039	0.2*
.195	**	0.400	0.062	0.2*	-0.206	0.016	0.1*	0.338	0.044	0.3*
.196	**	0.487	0.122	0.3*	-0.055	0.002	0.0*	-0.345	0.061	0.3*
.197	**	0.316	0.028	0.1*	-0.220	0.014	0.1*	-0.043	0.001	0.0*

TABLA VIII (Continuación)

.198	**	0.031	0.001	0.0*	-0.107	0.007	0.0*	-0.143	0.013	0.0*
.199	**	0.483	0.140	0.3*	-0.144	0.012	0.0*	-0.271	0.044	0.2*
.200	**	0.477	0.130	0.3*	-0.307	0.054	0.2*	-0.150	0.013	0.1*
.201	**	0.443	0.121	0.3*	-0.156	0.015	0.1*	-0.207	0.026	0.1*
.202	**	0.275	0.034	0.1*	0.129	0.008	0.0*	-0.376	0.064	0.3*
.203	**	0.318	0.098	0.1*	0.076	0.006	0.0*	-0.252	0.061	0.2*
.204	**	0.196	0.008	0.1*	0.095	0.002	0.0*	-0.484	0.049	0.6*
.205	**	0.405	0.134	0.2*	-0.142	0.016	0.0*	-0.199	0.033	0.1*
.206	**	0.436	0.064	0.3*	-0.198	0.013	0.1*	-0.463	0.072	0.5*
.207	**	0.289	0.048	0.1*	-0.007	0.000	0.0*	-0.123	0.009	0.0*
.208	**	-0.001	0.000	0.0*	1.077	0.305	2.5*	-0.010	0.000	0.0*
.209	**	0.293	0.027	0.1*	0.466	0.068	0.5*	-0.130	0.005	0.0*
.210	**	0.469	0.072	0.3*	0.074	0.002	0.0*	-0.332	0.036	0.3*
.211	**	0.225	0.009	0.1*	1.107	0.225	2.6*	-0.158	0.005	0.1*
.212	**	0.425	0.160	0.2*	-0.089	0.007	0.0*	-0.086	0.007	0.0*
.213	**	0.317	0.030	0.1*	0.231	0.016	0.1*	-0.008	0.000	0.0*
.214	**	0.386	0.025	0.2*	0.057	0.001	0.0*	-0.250	0.010	0.1*
.215	**	0.438	0.077	0.3*	-0.145	0.008	0.0*	-0.327	0.043	0.3*
.216	**	0.230	0.038	0.1*	-0.060	0.003	0.0*	-0.177	0.023	0.1*
.217	**	0.395	0.051	0.2*	-0.226	0.017	0.1*	-0.252	0.021	0.2*
.218	**	-0.114	0.003	0.0*	1.073	0.280	2.4*	0.016	0.000	0.0*
.219	**	0.484	0.107	0.3*	-0.258	0.030	0.1*	-0.273	0.034	0.2*
.220	**	0.402	0.067	0.2*	-0.260	0.028	0.1*	-0.237	0.023	0.1*
.221	**	0.366	0.045	0.2*	-0.017	0.000	0.0*	-0.467	0.073	0.5*
.222	**	0.258	0.036	0.1*	0.153	0.013	0.0*	-0.538	0.155	0.7*
.223	**	0.522	0.151	0.4*	-0.140	0.011	0.0*	-0.305	0.051	0.2*
.224	**	0.474	0.129	0.3*	-0.209	0.025	0.1*	-0.327	0.061	0.3*
.225	**	0.219	0.014	0.1*	-0.070	0.001	0.0*	0.038	0.000	0.0*
.226	**	0.148	0.005	0.0*	-0.098	0.002	0.0*	0.034	0.000	0.0*
.227	**	0.183	0.020	0.0*	0.468	0.130	0.5*	-0.229	0.031	0.1*
.228	**	0.383	0.041	0.2*	0.071	0.001	0.0*	-0.136	0.005	0.0*
.229	**	0.481	0.153	0.3*	-0.281	0.052	0.2*	-0.187	0.023	0.1*
.230	**	0.459	0.143	0.3*	-0.207	0.029	0.1*	-0.193	0.025	0.1*
.231	**	0.428	0.106	0.2*	-0.084	0.004	0.0*	0.378	0.083	0.3*
.232	**	0.247	0.018	0.1*	-0.153	0.007	0.0*	-0.192	0.011	0.1*
.233	**	0.316	0.062	0.1*	0.118	0.009	0.0*	-0.313	0.061	0.2*
.234	**	0.316	0.062	0.1*	0.118	0.009	0.0*	-0.313	0.061	0.2*
.235	**	0.490	0.124	0.3*	-0.153	0.012	0.0*	-0.169	0.015	0.1*
.236	**	0.188	0.018	0.0*	0.557	0.157	0.7*	-0.304	0.047	0.2*
.237	**	-0.116	0.001	0.0*	1.557	0.162	5.1*	-0.041	0.000	0.0*
.238	**	0.290	0.048	0.1*	-0.031	0.001	0.0*	-0.500	0.144	0.6*
.239	**	0.249	0.038	0.1*	-0.018	0.000	0.0*	-0.498	0.151	0.6*
.240	**	0.479	0.076	0.3*	-0.072	0.002	0.0*	0.200	0.013	0.1*
.241	**	0.198	0.009	0.1*	1.061	0.255	2.4*	0.152	0.005	0.1*
.242	**	0.377	0.099	0.2*	-0.172	0.021	0.1*	-0.310	0.067	0.2*
.243	**	0.101	0.003	0.0*	1.052	0.311	2.3*	0.062	0.001	0.0*
.244	**	0.429	0.082	0.2*	0.037	0.001	0.0*	-0.452	0.091	0.5*
.245	**	0.522	0.169	0.4*	-0.293	0.054	0.2*	-0.189	0.022	0.1*
.246	**	0.012	0.000	0.0*	-0.196	0.008	0.1*	-0.415	0.036	0.4*
.247	**	0.024	0.000	0.0*	-0.196	0.008	0.1*	-0.138	0.004	0.0*
.248	**	0.419	0.034	0.2*	-0.218	0.009	0.1*	-0.395	0.030	0.4*
.249	**	0.173	0.009	0.0*	0.105	0.003	0.0*	-0.264	0.022	0.2*
.250	**	0.531	0.184	0.4*	-0.228	0.034	0.1*	-0.133	0.012	0.0*
.251	**	0.408	0.100	0.2*	0.061	0.002	0.0*	0.181	0.020	0.1*

TABLA IX.— MATRIZ Y TRATAMIENTO DE DATOS EN EL ANALISIS DE  
CORRESPONDENCIAS MULTIPLES, CONSIDERANDO LAS MUES  
TRAS CORRESPONDIENTES A LA VARIEDAD AIREN

CARACTERISTIQUES DU FICHIER : A:JESUS  
 TITRE :

NOMBRE D'OBSERVATIONS : 196 NOMBRE DE VARIABLES : 14

FICHIER DE DONNEES : A:JESUSR

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
	VAR	SIN	XIN	XIT	XSP	MEL	CR1	NEH	GFV	PH	ARE	LIN	ARC	CAR
1	1.00	16.00	0.00	20.00	15.00	2.00	0.00	170.00	2.00	8.06	58.00	22.80	19.20	39.20
2	1.00	15.00	0.00	5.00	15.00	2.00	0.00	35.00	2.00	7.93	30.00	28.80	41.20	13.70
3	1.00	1.00	0.00	0.00	10.00	2.00	5.00	110.00	2.00	8.07	74.00	10.80	15.20	17.60
4	1.00	12.00	0.00	10.00	10.00	1.00	0.00	0.00	2.00	8.03	80.00	8.80	11.20	19.60
5	1.00	12.00	0.00	0.00	15.00	1.00	0.00	30.00	2.00	8.09	80.00	8.80	11.20	19.60
6	1.00	13.00	0.00	0.00	5.00	1.00	0.00	5.00	2.00	8.06	70.00	12.80	17.20	25.50
7	1.00	13.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	405.00	2.00	8.26	71.60	17.20	11.20	11.70
8	1.00	12.00	0.00	0.00	80.00	1.00	0.00	15.00	2.00	8.02	57.00	30.80	15.20	0.80
9	1.00	4.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.90	50.00	30.80	19.20	45.10
10	1.00	12.00	0.00	0.00	255.00	1.00	0.00	55.00	2.00	8.13	46.00	41.20	12.80	13.70
11	1.00	0.00	0.00	0.00	220.00	1.00	0.00	10.00	2.00	8.12	60.00	25.20	14.80	8.60
12	1.00	4.00	0.00	110.00	215.00	2.00	0.00	30.00	2.00	8.13	64.00	23.20	12.80	7.00
13	1.00	4.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	30.00	2.00	7.93	46.00	31.20	22.80	27.40
14	1.00	15.00	0.00	0.00	35.00	1.00	0.00	10.00	2.00	7.93	34.00	39.20	26.80	6.20
15	1.00	4.00	5.00	0.00	45.00	2.00	0.00	115.00	1.00	7.65	25.00	49.00	26.00	19.50
16	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	35.00	1.00	7.87	31.00	37.00	32.00	11.80
17	1.00	8.00	0.00	0.00	80.00	2.00	10.00	120.00	2.00	8.04	53.20	29.20	17.60	27.40
18	1.00	13.00	0.00	0.00	180.00	1.00	0.00	60.00	2.00	7.91	31.20	39.20	29.60	31.40
19	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	45.00	1.00	8.15	51.20	27.20	21.60	39.20
20	1.00	8.00	0.00	0.00	55.00	2.00	0.00	115.00	2.00	8.13	41.20	29.20	29.60	41.20
21	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	125.00	2.00	8.14	21.20	37.20	41.60	37.20
22	1.00	8.00	10.00	0.00	20.00	2.00	0.00	100.00	2.00	8.04	29.20	35.20	35.60	37.20
23	1.00	8.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	100.00	2.00	8.06	33.60	31.40	35.00	29.40
24	1.00	8.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	5.00	2.00	8.09	49.60	27.40	23.00	21.60
25	1.00	15.00	0.00	15.00	60.00	2.00	0.00	25.00	2.00	8.20	57.60	23.40	19.00	37.60
26	1.00	15.00	0.00	40.00	125.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.07	43.60	35.40	21.00	43.10
27	1.00	15.00	0.00	0.00	85.00	2.00	5.00	25.00	2.00	6.30	57.60	23.40	19.00	35.30
28	1.00	4.00	0.00	35.00	0.00	2.00	0.00	230.00	2.00	7.98	60.00	29.20	10.80	65.30
29	1.00	12.00	95.00	105.00	70.00	2.00	55.00	10.00	1.00	8.18	72.00	15.20	12.80	27.70
30	1.00	4.00	0.00	35.00	20.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.17	56.00	35.20	8.80	72.50
31	1.00	1.00	0.00	125.00	110.00	2.00	60.00	0.00	1.00	7.97	64.00	23.20	12.60	35.90
32	1.00	1.00	0.00	10.00	320.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.25	70.00	17.20	12.80	16.30
33	1.00	4.00	0.00	0.00	340.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.20	24.00	32.20	42.80	75.90
34	1.00	3.00	0.00	15.00	115.00	2.00	0.00	40.00	2.00	8.01	26.40	37.20	36.40	44.90
35	1.00	4.00	0.00	10.00	60.00	2.00	0.00	15.00	1.00	8.04	28.40	29.20	42.40	64.50
36	1.00	15.00	0.00	5.00	25.00	2.00	0.00	15.00	1.00	8.08	56.40	19.20	24.40	22.10
37	1.00	15.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	15.00	1.00	7.92	34.80	37.20	28.00	57.40
38	1.00	11.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	1.00	8.28	88.40	5.20	6.40	7.60
39	1.00	12.00	0.00	0.00	40.00	1.00	0.00	55.00	1.00	8.09	64.40	17.20	16.40	10.60
40	1.00	0.00	15.00	10.00	5.00	1.00	0.00	10.00	1.00	8.11	76.80	10.80	12.40	7.60
41	1.00	13.00	20.00	0.00	0.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.19	72.40	13.20	14.40	4.90
42	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	5.00	290.00	1.00	8.08	60.80	19.20	20.00	24.30
43	1.00	14.00	5.00	0.00	15.00	2.00	70.00	65.00	1.00	8.06	32.40	31.20	36.40	44.40
44	1.00	15.00	20.00	0.00	5.00	2.00	0.00	140.00	1.00	8.11	34.00	21.60	44.40	11.60
45	1.00	8.00	0.00	0.00	15.00	2.00	440.00	45.00	2.00	8.09	32.00	21.60	46.40	13.00
46	1.00	16.00	0.00	0.00	10.00	2.00	5.00	20.00	1.00	8.14	46.00	21.60	28.40	49.10
47	1.00	16.00	10.00	0.00	15.00	2.00	0.00	20.00	1.00	8.15	50.00	25.60	24.40	14.30
48	1.00	15.00	0.00	5.00	20.00	2.00	0.00	10.00	1.00	7.71	36.00	31.60	32.40	29.60
49	1.00	11.00	5.00	0.00	5.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.74	48.00	29.60	24.40	6.90
50	1.00	7.00	30.00	0.00	20.00	2.00	0.00	160.00	1.00	7.94	42.40	27.20	30.40	1.50
51	1.00	0.00	0.00	0.00	15.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.05	56.40	23.20	20.40	45.00
52	1.00	14.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	60.00	1.00	7.98	60.40	23.20	26.40	17.80
53	1.00	14.00	20.00	0.00	10.00	2.00	0.00	65.00	1.00	8.03	54.00	19.60	26.40	15.60
54	1.00	15.00	0.00	0.00	20.00	1.00	10.00	60.00	1.00	8.03	56.00	25.60	18.40	11.00
55	1.00	11.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	80.00	1.00	8.06	64.00	15.60	20.40	30.50
56	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	20.00	30.00	1.00	7.93	58.00	17.60	24.40	20.50
57	1.00	0.00	0.00	0.00	70.00	2.00	0.00	100.00	2.00	7.79	34.00	27.60	38.40	19.70
58	1.00	14.00	0.00	0.00	35.00	2.00	0.00	350.00	1.00	7.93	46.40	25.20	28.40	30.30
59	1.00	12.00	0.00	0.00	15.00	1.00	0.00	45.00	1.00	7.81	30.40	67.20	2.40	28.40
60	1.00	16.00	0.00	0.00	80.00	2.00	0.00	30.00	2.00	7.92	48.00	23.60	28.40	44.50

TABLA IX (Continuación)

61	1.00	1.00	0.00	0.00	15.00	1.00	0.00	10.00	2.00	8.08	61.60	18.00	20.40	22.90
62	1.00	16.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	60.00	2.00	8.12	52.00	19.60	28.40	22.00
63	1.00	1.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	20.00	2.00	6.25	46.40	31.20	22.40	0.00
64	1.00	11.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	15.00	2.00	5.76	60.00	23.60	16.40	0.00
65	1.00	16.00	10.00	0.00	5.00	2.00	0.00	200.00	1.00	7.98	52.40	27.60	20.00	54.70
66	1.00	1.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	160.00	2.00	7.79	27.20	23.20	49.60	23.90
67	1.00	15.00	0.00	0.00	15.00	2.00	0.00	55.00	2.00	7.98	35.20	29.60	35.20	52.50
68	1.00	8.00	75.00	0.00	75.00	2.00	30.00	10.00	2.00	8.03	71.20	13.20	15.60	18.20
69	1.00	8.00	5.00	0.00	0.00	2.00	0.00	240.00	2.00	7.81	45.60	21.20	33.20	8.40
70	1.00	11.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	5.00	2.00	5.41	73.60	14.80	11.60	0.00
71	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	15.00	2.00	6.65	48.40	24.00	27.60	0.00
72	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	30.00	2.00	6.61	50.40	32.00	17.60	0.00
73	1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.72	32.80	19.60	47.60	3.30
74	1.00	11.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	1870.00	2.00	7.88	32.80	20.00	47.20	39.20
75	1.00	0.00	0.00	0.00	5.00	2.00	5.00	180.00	2.00	8.01	58.80	22.00	19.20	14.50
76	1.00	0.00	0.00	0.00	25.00	2.00	5.00	115.00	2.00	7.98	56.80	16.00	27.20	3.50
77	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	1.00	0.00	10.00	2.00	8.01	25.20	53.60	21.20	23.20
78	1.00	4.00	0.00	0.00	5.00	2.00	10.00	60.00	2.00	8.01	32.80	30.00	37.20	56.10
79	1.00	8.00	0.00	0.00	5.00	2.00	20.00	45.00	2.00	7.94	35.20	31.60	33.20	50.50
80	1.00	8.00	0.00	0.00	15.00	2.00	10.00	190.00	2.00	7.72	59.20	13.60	27.20	7.40
81	1.00	0.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	150.00	2.00	7.98	40.80	23.60	35.60	57.80
82	1.00	8.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.07	38.80	14.00	47.20	46.10
83	1.00	11.00	0.00	0.00	35.00	2.00	0.00	75.00	2.00	8.09	40.80	28.00	31.20	36.30
84	1.00	3.00	0.00	0.00	25.00	2.00	0.00	70.00	2.00	7.92	47.20	31.60	21.20	48.30
85	1.00	9.00	5.00	0.00	10.00	2.00	0.00	35.00	2.00	7.73	69.60	17.20	13.20	10.70
86	1.00	12.00	0.00	0.00	10.00	1.00	0.00	15.00	1.00	7.79	57.60	21.20	21.20	28.30
87	1.00	1.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	55.00	2.00	7.96	74.80	7.20	18.00	1.20
88	1.00	15.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	125.00	1.00	7.95	38.80	33.20	28.00	54.60
89	1.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	5.00	1200.00	1.00	7.89	26.80	29.20	44.00	54.60
90	1.00	8.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	60.00	1.00	8.05	29.20	37.20	33.60	36.60
91	1.00	8.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.00	55.20	27.20	17.60	37.10
92	1.00	15.00	0.00	5.00	10.00	2.00	25.00	35.00	2.00	8.12	59.20	19.20	21.60	21.50
93	1.00	15.00	0.00	0.00	110.00	2.00	0.00	5.00	2.00	8.10	39.20	37.20	23.60	46.40
94	1.00	13.00	0.00	0.00	15.00	1.00	0.00	10.00	2.00	7.99	69.20	19.20	11.60	36.80
95	1.00	8.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	35.00	1.00	8.09	45.20	27.20	27.60	43.50
96	1.00	8.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.91	68.80	17.60	13.60	46.90
97	1.00	12.00	0.00	0.00	10.00	1.00	0.00	0.00	2.00	8.07	68.80	16.00	15.20	46.90
98	1.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	85.00	2.00	8.15	60.80	22.00	17.20	64.00
99	1.00	15.00	0.00	0.00	0.00	2.00	15.00	25.00	2.00	8.24	67.20	15.60	17.20	56.00
100	1.00	12.00	10.00	0.00	0.00	1.00	0.00	5.00	1.00	7.43	89.20	5.60	5.20	0.00
101	1.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	315.00	0.00	1.00	7.88	73.60	13.20	13.20	2.10
102	1.00	16.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	65.00	2.00	7.75	39.60	25.20	35.20	21.60
103	1.00	16.00	0.00	10.00	20.00	2.00	40.00	115.00	1.00	8.11	41.60	31.20	27.20	59.90
104	1.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	30.00	15.00	2.00	7.65	26.00	32.40	41.60	52.90
105	1.00	4.00	0.00	0.00	25.00	2.00	0.00	100.00	2.00	7.63	42.00	28.40	29.60	60.60
106	1.00	15.00	0.00	0.00	75.00	2.00	5.00	250.00	1.00	7.97	39.80	10.60	9.60	15.70
107	1.00	15.00	0.00	0.00	5.00	2.00	10.00	225.00	1.00	7.33	37.80	24.60	37.60	19.60
108	1.00	15.00	5.00	5.00	100.00	2.00	0.00	20.00	2.00	7.91	45.80	32.60	21.60	49.00
109	1.00	11.00	0.00	0.00	45.00	2.00	80.00	85.00	2.00	7.82	55.60	22.80	21.60	18.40
110	1.00	11.00	0.00	0.00	50.00	2.00	0.00	300.00	2.00	7.89	51.60	30.40	18.00	0.00
111	1.00	11.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.05	47.60	30.80	21.60	33.30
112	1.00	11.00	20.00	10.00	15.00	2.00	5.00	10.00	2.00	8.04	79.60	8.40	12.00	7.80
113	1.00	11.00	0.00	50.00	100.00	2.00	0.00	70.00	2.00	8.05	53.60	24.40	22.00	19.60
114	1.00	11.00	0.00	0.00	130.00	2.00	130.00	220.00	2.00	8.18	51.60	26.40	22.00	17.60
115	1.00	11.00	0.00	25.00	10.00	2.00	165.00	75.00	2.00	8.06	55.60	22.40	22.00	39.20
116	1.00	11.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	35.00	2.00	8.15	59.60	22.40	18.00	16.90
117	1.00	11.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	595.00	2.00	8.17	59.60	24.40	16.00	25.40
118	1.00	11.00	0.00	10.00	30.00	2.00	0.00	170.00	2.00	8.07	55.60	24.40	20.00	50.90
119	1.00	11.00	0.00	0.00	150.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.16	53.60	26.40	18.00	11.80
120	1.00	11.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.20	61.60	20.40	18.00	19.60
121	1.00	11.00	0.00	65.00	360.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.10	53.20	26.80	20.00	43.10
122	1.00	11.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	105.00	2.00	8.14	51.20	26.80	22.00	39.20
123	1.00	11.00	0.00	15.00	55.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.10	57.20	22.80	20.00	47.00
124	1.00	11.00	0.00	5.00	135.00	2.00	0.00	125.00	2.00	8.30	53.20	26.80	20.00	45.10
125	1.00	11.00	0.00	0.00	65.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.01	51.20	20.80	28.00	31.40

TABLA IX (Continuación)

126	1.00	11.00	0.00	15.00	65.00	2.00	0.00	30.00	2.00	8.21	47.20	25.00	24.00	25.00
127	1.00	11.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	15.00	2.00	8.24	49.20	24.50	26.00	3.90
128	1.00	11.00	0.00	0.00	160.00	2.00	35.00	220.00	2.00	8.21	51.20	22.80	26.00	15.70
129	1.00	11.00	0.00	0.00	30.00	2.00	0.00	35.00	2.00	8.15	49.20	20.80	30.00	3.10
130	1.00	11.00	0.00	0.00	15.00	2.00	0.00	45.00	2.00	7.84	45.20	20.40	34.40	12.50
131	1.00	11.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	35.00	1.00	7.82	53.20	22.40	24.40	21.60
132	1.00	11.00	0.00	0.00	380.00	2.00	0.00	240.00	2.00	7.85	51.00	18.60	30.40	18.40
133	1.00	11.00	0.00	15.00	130.00	2.00	0.00	10.00	1.00	7.85	51.20	22.40	26.40	24.30
134	1.00	11.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.92	51.20	26.40	22.40	23.50
135	1.00	11.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	55.00	2.00	6.63	77.20	10.40	12.40	0.00
136	1.00	6.00	0.00	0.00	400.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.85	39.20	24.80	36.00	21.60
137	1.00	6.00	10.00	0.00	20.00	2.00	0.00	10.00	2.00	7.77	35.20	30.80	34.00	43.10
138	1.00	6.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	45.00	2.00	7.92	43.20	16.80	40.00	1.90
139	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	5.00	65.00	2.00	7.89	33.20	28.80	38.00	25.50
140	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	40.00	2.00	7.78	18.00	29.60	52.40	17.60
141	1.00	6.00	0.00	15.00	10.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.76	40.40	29.20	30.40	56.60
142	1.00	6.00	0.00	0.00	40.00	2.00	65.00	70.00	2.00	8.05	46.40	21.20	30.40	31.40
143	1.00	6.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	35.00	1.00	7.68	54.40	17.20	26.40	0.00
144	1.00	6.00	0.00	0.00	55.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.04	38.40	29.20	32.40	39.20
145	1.00	6.00	0.00	0.00	350.00	2.00	0.00	185.00	2.00	8.04	42.40	29.20	28.40	43.10
146	1.00	6.00	0.00	0.00	70.00	2.00	0.00	80.00	2.00	8.11	60.40	19.20	20.40	21.60
147	1.00	6.00	0.00	15.00	0.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.06	60.40	19.20	20.40	19.60
148	1.00	6.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.17	50.40	19.20	30.40	11.80
149	1.00	6.00	0.00	65.00	80.00	2.00	0.00	15.00	2.00	7.79	62.80	17.20	20.00	16.60
150	1.00	6.00	0.00	0.00	25.00	2.00	0.00	60.00	2.00	7.95	65.00	11.00	24.00	62.40
151	1.00	6.00	0.00	40.00	125.00	2.00	0.00	45.00	2.00	7.86	57.00	17.00	26.00	74.90
152	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	60.00	2.00	7.99	68.80	11.20	20.00	31.20
153	1.00	6.00	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.09	79.00	7.00	14.00	0.80
154	1.00	6.00	5.00	0.00	10.00	2.00	0.00	0.00	1.00	7.98	63.00	19.00	18.00	5.50
155	1.00	6.00	5.00	25.00	10.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.90	61.00	15.00	24.00	47.80
156	1.00	6.00	5.00	5.00	15.00	2.00	0.00	30.00	2.00	7.77	77.00	3.00	20.00	12.50
157	1.00	6.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	25.00	2.00	7.86	49.00	17.00	34.00	31.20
158	1.00	6.00	5.00	0.00	60.00	2.00	30.00	30.00	1.00	8.11	67.00	11.00	22.00	16.60
159	1.00	6.00	0.00	120.00	0.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.93	49.00	27.00	24.00	43.70
160	1.00	6.00	0.00	5.00	70.00	2.00	0.00	40.00	2.00	7.98	50.80	27.20	22.00	58.20
161	1.00	6.00	0.00	0.00	25.00	2.00	15.00	45.00	2.00	7.99	50.80	19.20	30.00	33.30
162	1.00	6.00	0.00	5.00	50.00	2.00	0.00	160.00	2.00	8.01	54.80	21.20	24.00	22.90
163	1.00	6.00	0.00	0.00	0.00	2.00	5.00	15.00	2.00	7.97	79.00	1.00	20.00	0.80
164	1.00	6.00	0.00	25.00	30.00	2.00	0.00	110.00	2.00	8.00	31.00	39.00	30.00	54.10
165	1.00	6.00	0.00	0.00	600.00	2.00	0.00	215.00	2.00	7.96	33.00	37.00	30.00	25.00
166	1.00	6.00	0.00	30.00	50.00	2.00	0.00	25.00	2.00	8.03	53.00	25.00	22.00	6.20
167	1.00	6.00	0.00	15.00	35.00	2.00	0.00	45.00	2.00	8.01	63.00	17.00	20.00	16.60
168	1.00	6.00	0.00	20.00	75.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.03	33.00	37.00	30.00	45.80
169	1.00	6.00	0.00	0.00	140.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.99	35.00	39.00	26.00	35.40
170	1.00	6.00	0.00	0.00	90.00	2.00	45.00	55.00	2.00	7.49	36.00	37.60	26.40	25.00
171	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	45.00	2.00	7.50	32.20	41.40	26.40	45.80
172	1.00	6.00	0.00	0.00	75.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.65	74.80	10.80	14.40	12.50
173	1.00	6.00	0.00	15.00	55.00	2.00	5.00	170.00	2.00	7.62	41.00	27.00	32.00	1.70
174	1.00	6.00	0.00	0.00	40.00	2.00	0.00	35.00	2.00	7.70	43.00	25.00	32.00	56.30
175	1.00	6.00	0.00	0.00	420.00	2.00	0.00	15.00	2.00	7.68	45.00	31.00	24.00	25.00
176	1.00	6.00	0.00	0.00	20.00	2.00	0.00	30.00	1.00	7.72	35.00	27.00	38.00	25.00
177	1.00	6.00	0.00	40.00	0.00	2.00	45.00	80.00	2.00	7.70	61.00	15.00	24.00	54.00
178	1.00	6.00	0.00	0.00	60.00	2.00	0.00	55.00	2.00	7.71	63.00	17.00	20.00	16.70
179	1.00	6.00	0.00	0.00	70.00	2.00	0.00	100.00	2.00	7.71	69.00	15.00	16.00	16.60
180	1.00	6.00	0.00	10.00	10.00	2.00	0.00	165.00	2.00	7.71	44.80	25.20	30.00	37.40
181	1.00	6.00	0.00	20.00	25.00	2.00	0.00	15.00	2.00	7.80	70.80	13.20	16.00	12.50
182	1.00	6.00	620.00	45.00	0.00	2.00	0.00	0.00	1.00	7.75	79.00	9.00	12.00	3.30
183	1.00	6.00	0.00	0.00	1700.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.71	65.00	15.00	20.00	43.70
184	1.00	6.00	0.00	0.00	45.00	2.00	0.00	0.00	2.00	7.62	54.80	25.20	20.00	62.40
185	1.00	6.00	0.00	5.00	20.00	2.00	0.00	185.00	1.00	7.74	41.00	29.00	30.00	27.00
186	1.00	6.00	5.00	0.00	20.00	2.00	0.00	10.00	1.00	8.17	76.80	10.00	13.20	22.90
187	1.00	6.00	0.00	0.00	210.00	2.00	0.00	20.00	2.00	8.13	52.80	26.00	21.20	27.00
188	1.00	6.00	0.00	0.00	5.00	2.00	0.00	0.00	1.00	7.84	80.80	8.00	11.20	14.60
189	1.00	6.00	0.00	25.00	75.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.12	44.80	36.00	19.20	60.30
190	1.00	6.00	0.00	0.00	130.00	2.00	0.00	100.00	2.00	8.16	39.20	35.60	25.20	47.80
191	1.00	6.00	0.00	45.00	50.00	2.00	0.00	5.00	2.00	7.75	51.20	45.60	3.20	64.50
192	1.00	6.00	0.00	5.00	55.00	2.00	5.00	5.00	2.00	7.66	39.20	57.60	3.20	56.20
193	1.00	6.00	0.00	55.00	100.00	2.00	0.00	0.00	2.00	8.17	38.80	31.60	29.60	39.50
194	1.00	6.00	0.00	0.00	30.00	1.00	10.00	225.00	2.00	7.90	40.80	31.60	27.60	12.50
195	1.00	6.00	0.00	0.00	75.00	2.00	0.00	70.00	2.00	8.19	39.20	33.20	27.60	45.90
196	1.00	6.00	0.00	0.00	10.00	2.00	0.00	105.00	1.00	8.27	35.20	29.20	31.60	16.60

TABLA IX (Continuación)

\*\*\*\*\* ANALYSE DES CORRESPONDANCES MULTIPLES \*\*\*\*\*

CARACTERISTIQUES DU FICHER : A:JESUSCH

TITRE : VARIABLES EN CLASSES

NOMBRE D'OBSERVATIONS : 196 NOMBRE DE VARIABLES : 13

\*\*\*\*\* NO DES VARIABLES ET NOMS \*\*\*\*\*

1. SIN / 2. XIN / 3. XIT / 4. XSP / 5. MEL / 6. CRI / 7. NEM / 8. GFV / 9. PH / 10. ARE /  
11. LIM / 12. ARC / 13. CAR /

VARIABLE	Nb de CLASSES CREES	.....		CLASSES	.....	
		No	Définition		Libellé	Nb.individus
SIN	9	1	NO SINTOMAS	AA1	11	
		2	CEPAS MUERTAS	AA2	7	
		3	IMPRODUCTIVAS	AA3	2	
		4	SIN VIGOR	AA4	10	
		5	ENTREN.FASC.MAD.	AA5	96	
		6	FILOXERA	AA6	20	
		7	HERBICIDAS	AA7	1	
		8	MELOIDOGYNE	AA8	15	
		9	SINT.VIROSI	AA9	34	
XIN	6	1	XIN de 0 a 0	BB1	171	
		2	XIN de 1 a 5	BB2	11	
		3	XIN de 6 a 25	BB3	10	
		4	XIN de 26 a 50	BB4	1	
		5	XIN de 51 a 100	BB5	2	
		6	XIN de 101 a 620	BB6	1	
XIT	6	1	XIT de 0 a 0	CC1	144	
		2	XIT de 1 a 5	CC2	12	
		3	XIT de 6 a 25	CC3	24	
		4	XIT de 26 a 50	CC4	9	
		5	XIT de 51 a 100	CC5	3	
		6	XIT de 101 a 125	CC6	4	
XSP	6	1	XSP de 0 a 0	DD1	22	
		2	XSP de 1 a 5	DD2	25	
		3	XSP de 6 a 25	DD3	64	
		4	XSP de 26 a 50	DD4	28	
		5	XSP de 51 a 100	DD5	31	
		6	XSP de 101 a 1700	DD6	26	
MEL	2	1	PRESENCIA	EE1	19	
		2	AUSENCIA	EE2	177	
CRI	6	1	CRI de 0 a 0	FF1	156	
		2	CRI de 1 a 50	FF2	31	
		3	CRI de 51 a 100	FF3	5	
		4	CRI de 101 a 200	FF4	2	
		5	CRI de 201 a 400	FF5	1	
		6	CRI de 401 a 440	FF6	1	

TABLA IX (Continuación)

NEM	7	1	NEM de 0 a 0	GG1	26
		2	NEM de 5 a 50	GG2	91
		3	NEM de 51 a 100	GG3	37
		4	NEM de 101 a 200	GG4	26
		5	NEM de 201 a 400	GG5	12
		6	NEM de 401 a 1000	GG6	2
		7	NEM de 1001 a 1870	GG7	2
GFV	2	1	PRESENCIA	HH1	47
		2	AUSENCIA	HH2	149
PH	3	1	PH de 5.41 a 6.4	II1	4
		2	PH > 6.4 a 7.6	II2	7
		3	PH > 7.6 a 8.3	II3	185
ARE	4	1	ARE de 18 a 30	JJ1	13
		2	ARE > 30 a 50	JJ2	78
		3	ARE > 50 a 70	JJ3	82
		4	ARE > 70 a 89.2	JJ4	23
LIM	4	1	LIM de 1 a 10	KK1	12
		2	LIM > 10 a 20	KK2	53
		3	LIM > 20 a 40	KK3	124
		4	LIM > 40 a 67.2	KK4	7
ARC	5	1	ARC de 2.4 a 10	LL1	7
		2	ARC > 10 a 20	LL2	66
		3	ARC > 20 a 30	LL3	78
		4	ARC > 30 a 45	LL4	39
		5	ARC > 45 a 52.4	LL5	6
CAR	6	1	CAR de 0 a 0	MM1	9
		2	CAR de .8 a 10	MM2	25
		3	CAR > 10 a 20	MM3	45
		4	CAR > 20 a 35	MM4	43
		5	CAR > 35 a 50	MM5	45
		6	CAR > 50 a 75.9	MM6	29

NOMBRE TOTAL DE CLASES = 66

TABLA IX (Continuación)

VALEURS PROPRES ET VECTEURS PROPRES

INERTIE TOTALE 4.076922

1ere COLONNE : VALEURS PROPRES (variances sur les axes principaux)

2eme COLONNE : CONTRIBUTION A L'INERTIE TOTALE  
(pourcentages expliqués par les axes principaux)

3eme COLONNE : CONTRIBUTION CUMULEE A L'INERTIE TOTALE  
(pourcentages cumulés expliqués par les axes principaux)

VAL.PROD %EXP %CUM

0.25 6 6 / \*\*\*\*\*  
0.18 4 10 / \*\*\*\*\*  
0.16 4 15 / \*\*\*\*\*

VECTEURS PROPRES (coefficients des modalités des variables dans l'équation linéaire des axes principaux)

AA1	0.816	-1.069	2.283	FF5	4.118	-4.010	-1.602
AA2	1.446	0.979	-0.639	FF6	-1.429	-4.027	-1.451
AA3	-2.619	0.529	-0.416	GG1	1.023	1.424	0.967
AA4	-1.248	-0.361	1.643	GG2	0.348	-0.048	-0.096
AA5	-0.096	1.062	0.680	GG3	-0.624	0.074	-0.583
AA6	-0.907	-1.902	-1.187	GG4	-1.158	-0.948	-0.333
AA7	1.992	1.880	-4.592	GG5	-0.534	-0.024	1.454
AA8	3.461	-0.126	-2.717	GG6	2.350	0.675	-2.927
AA9	-0.820	-1.659	-0.954	GG7	-1.664	-5.879	1.130
BB1	-0.237	0.230	0.194	HH1	0.479	-1.776	-1.147
BB2	0.620	-0.330	-1.648	HH2	-0.151	0.560	0.362
BB3	1.896	-3.498	-0.566	II1	1.340	0.685	4.174
BB4	-1.234	-4.115	-0.280	II2	1.714	-2.678	4.005
BB5	4.373	1.958	-9.420	II3	-0.094	0.087	-0.242
BB6	7.299	-0.452	9.730	JJ1	-1.888	-3.513	-0.835
CC1	0.004	-0.528	-0.097	JJ2	-1.129	-0.610	0.373
CC2	-0.779	0.088	-1.192	JJ3	0.156	1.378	-0.185
CC3	-0.066	1.274	0.103	JJ4	4.343	-0.858	-0.132
CC4	0.457	1.529	4.601	KK1	4.999	-1.367	1.599
CC5	-0.323	4.956	0.276	KK2	1.176	0.547	-0.979
CC6	1.810	3.956	-4.113	KK3	-0.995	0.008	0.248
DD1	1.752	-1.040	3.454	KK4	0.165	-1.945	0.282
DD2	-0.090	-3.011	-0.573	LL1	2.152	-2.105	2.768
DD3	0.186	-0.383	-1.185	LL2	1.748	0.855	-0.340
DD4	-0.809	0.726	1.086	LL3	-0.851	0.659	0.131
DD5	-0.255	1.354	-0.667	LL4	-1.549	-1.930	-0.341
DD6	-0.677	2.322	0.172	LL5	-0.601	-2.965	1.022
EE1	2.335	-0.620	-1.668	MM1	2.313	-0.683	4.996
EE2	-0.250	0.067	0.179	MM2	1.881	-0.775	1.282
FF1	0.003	0.212	0.243	MM3	0.663	0.080	-1.251
FF2	-0.077	-1.446	-0.290	MM4	-0.429	0.107	-1.184
FF3	0.490	2.212	-5.345	MM5	-0.968	0.900	-0.282
FF4	-1.581	4.396	0.450	MM6	-1.227	-0.800	1.480

TABLA IX (Continuación)

ETUDE DES VARIABLES

1re COLONNE : COORDONNEE  
 2e COLONNE : COSINUS CARRE (QUALITE DE LA REPRESENTATION)  
 3e COLONNE : CONTRIBUTION RELATIVE A L'INERTIE EXPLIQUEE PAR L'AXE

AXES PRINCIPAUX

	AXE 1	AXE 2	AXE 3
VARIABLES PRISES EN COMPTE DANS L'ANALYSE			
AA1	** 0.406 0.010	0.3* -0.454 0.012	0.5* 0.927 0.051 2.2*
AA2	** 0.720 0.019	0.6* 0.416 0.006	0.3* -0.260 0.002 0.1*
AA3	** -1.304 0.018	0.5* 0.225 0.001	0.0* -0.169 0.000 0.0*
AA4	** -0.621 0.021	0.6* -0.153 0.001	0.1* 0.667 0.024 1.1*
AA5	** -0.048 0.002	0.0* 0.451 0.195	4.2* 0.276 0.073 1.7*
AA6	** -0.452 0.023	0.6* -0.807 0.074	2.8* -0.482 0.026 1.1*
AA7	** 0.992 0.005	0.2* 0.798 0.003	0.1* -1.865 0.018 0.8*
AA8	** 1.722 0.246	7.1* -0.054 0.000	0.0* -1.103 0.101 4.3*
AA9	** -0.408 0.035	0.9* -0.704 0.104	3.7* -0.387 0.032 1.2*
**		10.8 *	11.7 * 12.7 *
BB1	** -0.118 0.095	0.4* 0.097 0.065	0.4* 0.079 0.042 0.3*
BB2	** 0.309 0.006	0.2* -0.140 0.001	0.0* -0.669 0.027 1.2*
BB3	** 0.943 0.048	1.4* -1.485 0.119	4.8* -0.230 0.003 0.1*
BB4	** -0.614 0.002	0.1* -1.747 0.016	0.7* -0.114 0.000 0.0*
BB5	** 2.176 0.049	1.5* 0.831 0.007	0.3* -3.826 0.151 7.0*
BB6	** 3.633 0.068	2.1* -0.192 0.000	0.0* 3.952 0.080 3.7*
**		5.6 *	6.2 * 12.2 *
CC1	** 0.002 0.000	0.0* -0.224 0.139	1.6* -0.039 0.004 0.1*
CC2	** -0.387 0.010	0.3* 0.037 0.000	0.0* -0.484 0.015 0.7*
CC3	** -0.033 0.000	0.0* 0.541 0.041	1.5* 0.042 0.000 0.0*
CC4	** 0.227 0.002	0.1* 0.649 0.020	0.8* 1.869 0.168 7.5*
CC5	** -0.161 0.000	0.0* 2.103 0.069	2.9* 0.112 0.000 0.0*
CC6	** 0.901 0.017	0.5* 1.679 0.059	2.5* -1.671 0.058 2.7*
**		0.9 *	9.3 * 10.9 *
DD1	** 0.872 0.096	2.7* -0.441 0.025	0.9* 1.403 0.249 10.3*
DD2	** -0.045 0.000	0.0* -1.278 0.239	8.9* -0.233 0.008 0.3*
DD3	** 0.093 0.004	0.1* -0.162 0.013	0.4* -0.481 0.112 3.5*
DD4	** -0.403 0.027	0.7* 0.308 0.016	0.6* 0.441 0.032 1.3*
DD5	** -0.127 0.003	0.1* 0.575 0.062	2.2* -0.271 0.014 0.5*
DD6	** -0.337 0.017	0.5* 0.985 0.149	5.5* 0.070 0.001 0.0*
**		4.0 *	18.5 * 16.0 *
EE1	** 1.162 0.145	4.1* -0.263 0.007	0.3* -0.677 0.049 2.1*
EE2	** -0.125 0.145	0.4* 0.028 0.007	0.0* 0.073 0.049 0.2*
**		4.5 *	0.3 * 2.3 *
FF1	** 0.002 0.000	0.0* 0.090 0.031	0.3* 0.099 0.038 0.4*
FF2	** -0.038 0.000	0.0* -0.614 0.071	2.5* -0.118 0.003 0.1*
FF3	** 0.244 0.002	0.0* 0.939 0.023	1.0* -2.171 0.123 5.6*
FF4	** -0.787 0.006	0.2* 1.866 0.036	1.5* 0.183 0.000 0.0*
FF5	** 2.050 0.022	0.7* -1.702 0.015	0.6* -0.650 0.002 0.1*
FF6	** -0.711 0.003	0.1* -1.709 0.015	0.6* -0.589 0.002 0.1*
**		1.0 *	6.6 * 6.3 *
GG1	** 0.509 0.040	1.1* 0.604 0.056	2.1* 0.393 0.024 1.0*
GG2	** 0.173 0.026	0.4* -0.021 0.000	0.0* -0.039 0.001 0.0*
GG3	** -0.311 0.022	0.6* 0.031 0.000	0.0* -0.237 0.013 0.5*
GG4	** -0.576 0.051	1.4* -0.402 0.025	0.9* -0.135 0.003 0.1*
GG5	** -0.266 0.005	0.1* -0.010 0.000	0.0* 0.591 0.023 1.0*

TABLA IX (Continuación)

GG6	**	1.170	0.014	0.4*	0.287	0.001	0.0*	-1.189	0.015	0.7*
GG7	**	-0.828	0.007	0.2*	-2.495	0.064	2.7*	0.459	0.002	0.1*
	**			4.2 *			5.7 *			3.4 *
HH1	**	0.239	0.018	0.4*	-0.754	0.179	5.8*	-0.466	0.069	2.4*
HH2	**	-0.075	0.018	0.1*	0.238	0.179	1.8*	0.147	0.068	0.8*
	**			0.6 *			7.7 *			3.2 *
II1	**	0.667	0.009	0.3*	0.291	0.002	0.1*	1.695	0.060	2.7*
II2	**	0.853	0.027	0.8*	-1.136	0.048	2.0*	1.627	0.098	4.4*
II3	**	-0.047	0.036	0.1*	0.037	0.023	0.1*	-0.098	0.162	0.4*
	**			1.2 *			2.1 *			7.6 *
JJ1	**	-0.940	0.063	1.8*	-1.491	0.158	6.3*	-0.339	0.008	0.4*
JJ2	**	-0.562	0.209	3.9*	-0.259	0.044	1.1*	0.151	0.015	0.4*
JJ3	**	0.078	0.004	0.1*	0.585	0.246	6.1*	-0.075	0.004	0.1*
JJ4	**	2.161	0.621	17.0*	-0.364	0.018	0.7*	-0.054	0.000	0.0*
	**			22.8 *			14.2 *			0.9 *
KK1	**	2.488	0.404	11.8*	-0.580	0.022	0.9*	0.650	0.028	1.2*
KK2	**	0.585	0.127	2.9*	0.232	0.020	0.6*	-0.398	0.059	2.0*
KK3	**	-0.495	0.423	4.8*	0.004	0.000	0.0*	0.101	0.017	0.3*
KK4	**	0.082	0.000	0.0*	-0.826	0.025	1.0*	0.114	0.000	0.0*
	**			19.5 *			2.5 *			3.5 *
LL1	**	1.071	0.042	1.3*	-0.894	0.030	1.2*	1.124	0.047	2.1*
LL2	**	0.870	0.384	7.9*	0.363	0.067	1.9*	-0.138	0.010	0.3*
LL3	**	-0.423	0.119	2.2*	0.280	0.052	1.3*	0.053	0.002	0.1*
LL4	**	-0.771	0.148	3.7*	-0.819	0.167	5.7*	-0.138	0.005	0.2*
LL5	**	-0.299	0.003	0.1*	-1.259	0.050	2.1*	0.415	0.005	0.2*
	**			15.2 *			12.2 *			2.9 *
MM1	**	1.151	0.064	1.9*	-0.290	0.004	0.2*	2.029	0.198	8.8*
MM2	**	0.936	0.128	3.5*	-0.329	0.016	0.6*	0.521	0.040	1.6*
MM3	**	0.330	0.032	0.8*	0.034	0.000	0.0*	-0.508	0.077	2.8*
MM4	**	-0.213	0.013	0.3*	0.045	0.001	0.0*	-0.481	0.065	2.4*
MM5	**	-0.482	0.069	1.7*	0.382	0.043	1.4*	-0.115	0.004	0.1*
MM6	**	-0.611	0.065	1.7*	-0.339	0.020	0.7*	0.601	0.063	2.5*
	**			9.8 *			2.9 *			18.2 *

1re COLONNE : COORDONNEE

2e COLONNE : COSINUS CARRE (QUALITE DE LA REPRESENTATION)

3e COLONNE : CONTRIBUTION RELATIVE A L'INERTIE EXPLIQUEE PAR L'AXE

AXES PRINCIPAUX

AXE 1                      AXE 2                      AXE 3

INDIVIDUS PRIS EN COMPTE DANS L'ANALYSE

.1	**	-0.203	0.019	0.1*	0.198	0.018	0.1*	-0.169	0.013	0.1*
.2	**	-0.428	0.051	0.4*	-0.477	0.064	0.6*	-0.375	0.039	0.4*
.3	**	0.585	0.077	0.7*	-0.058	0.001	0.0*	-0.366	0.030	0.4*
.4	**	1.401	0.386	4.0*	0.105	0.002	0.0*	-0.313	0.041	0.3*
.5	**	1.354	0.442	3.8*	-0.147	0.005	0.1*	-0.410	0.041	0.5*
.6	**	0.633	0.130	0.8*	-0.028	0.000	0.0*	-0.560	0.102	1.0*
.7	**	1.016	0.105	2.1*	0.109	0.001	0.0*	-0.684	0.048	1.4*
.8	**	0.631	0.130	0.8*	0.199	0.013	0.1*	-0.283	0.026	0.2*
.9	**	-0.214	0.020	0.1*	0.076	0.002	0.0*	0.077	0.003	0.0*
.10	**	0.420	0.034	0.4*	0.045	0.000	0.0*	-0.406	0.032	0.5*
.11	**	0.395	0.044	0.3*	0.201	0.011	0.1*	0.166	0.008	0.1*
.12	**	0.176	0.005	0.1*	0.653	0.064	1.2*	-0.050	0.000	0.0*
.13	**	-0.449	0.077	0.4*	0.085	0.003	0.0*	0.218	0.018	0.1*
.14	**	-0.040	0.001	0.0*	-0.135	0.007	0.1*	0.066	0.002	0.0*
.15	**	-0.336	0.015	0.2*	-0.582	0.045	1.0*	-0.153	0.003	0.1*
.16	**	-0.289	0.036	0.2*	-0.702	0.211	1.4*	-0.284	0.035	0.3*
.17	**	-0.203	0.016	0.1*	-0.014	0.000	0.0*	-0.273	0.028	0.2*
.18	**	0.047	0.001	0.0*	0.183	0.011	0.1*	-0.367	0.043	0.4*
.19	**	-0.262	0.032	0.1*	-0.287	0.039	0.2*	-0.217	0.022	0.1*
.20	**	-0.538	0.130	0.6*	0.007	0.000	0.0*	-0.083	0.003	0.0*
.21	**	-0.637	0.116	0.8*	-0.752	0.162	1.6*	-0.205	0.012	0.1*
.22	**	-0.411	0.039	0.3*	-0.758	0.131	1.6*	-0.330	0.025	0.3*
.23	**	-0.551	0.132	0.6*	-0.223	0.022	0.1*	-0.073	0.002	0.0*
.24	**	-0.423	0.095	0.4*	-0.033	0.001	0.0*	0.001	0.000	0.0*
.25	**	-0.122	0.007	0.0*	0.401	0.079	0.5*	-0.111	0.006	0.0*
.26	**	-0.413	0.054	0.4*	0.327	0.034	0.3*	0.379	0.045	0.4*
.27	**	-0.012	0.000	0.0*	0.181	0.006	0.1*	0.173	0.005	0.1*
.28	**	-0.048	0.000	0.0*	0.208	0.008	0.1*	1.007	0.180	3.1*
.29	**	1.323	0.103	3.6*	0.641	0.024	1.2*	-2.016	0.239	12.6*
.30	**	-0.017	0.000	0.0*	0.142	0.003	0.1*	0.852	0.113	2.2*
.31	**	0.302	0.009	0.2*	0.972	0.090	2.7*	-0.810	0.062	2.0*
.32	**	0.365	0.030	0.3*	0.770	0.134	1.7*	-0.109	0.003	0.0*
.33	**	-0.560	0.071	0.6*	-0.171	0.007	0.1*	0.306	0.021	0.3*
.34	**	-0.703	0.048	1.0*	0.053	0.000	0.0*	-0.055	0.000	0.0*
.35	**	-0.537	0.062	0.6*	-0.400	0.034	0.5*	0.059	0.001	0.0*
.36	**	-0.085	0.003	0.0*	-0.038	0.001	0.0*	-0.494	0.088	0.8*
.37	**	-0.352	0.075	0.3*	-0.349	0.074	0.3*	-0.067	0.003	0.0*
.38	**	1.228	0.257	3.1*	-0.413	0.029	0.5*	0.750	0.096	1.7*
.39	**	0.636	0.116	0.8*	0.087	0.002	0.0*	-0.591	0.101	1.1*
.40	**	1.136	0.204	2.7*	-0.668	0.070	1.3*	-0.141	0.003	0.1*
.41	**	1.240	0.334	3.2*	-0.350	0.027	0.3*	0.027	0.000	0.0*
.42	**	0.347	0.027	0.2*	-0.201	0.009	0.1*	0.238	0.013	0.2*
.43	**	-0.358	0.021	0.3*	-0.298	0.015	0.3*	-0.848	0.118	2.2*
.44	**	-0.234	0.014	0.1*	-1.039	0.280	3.1*	-0.343	0.031	0.4*
.45	**	-0.353	0.007	0.3*	-0.726	0.028	1.5*	-0.241	0.003	0.2*
.46	**	-0.339	0.062	0.2*	-0.346	0.065	0.3*	-0.244	0.032	0.2*
.47	**	-0.043	0.001	0.0*	-0.569	0.112	0.9*	-0.336	0.039	0.3*
.48	**	-0.405	0.058	0.3*	-0.431	0.066	0.5*	-0.393	0.055	0.5*
.49	**	-0.061	0.001	0.0*	-0.204	0.014	0.1*	0.065	0.001	0.0*
.50	**	-0.304	0.065	0.2*	-0.741	0.032	1.6*	-0.048	0.000	0.0*
.51	**	-0.104	0.004	0.0*	0.273	0.029	0.2*	0.201	0.016	0.1*
.52	**	-0.183	0.020	0.1*	-0.119	0.008	0.0*	-0.358	0.075	0.4*
.53	**	0.148	0.007	0.0*	-0.365	0.041	0.4*	-0.511	0.079	0.8*
.54	**	0.210	0.016	0.1*	-0.285	0.029	0.2*	-0.577	0.118	1.0*
.55	**	-0.044	0.001	0.0*	0.133	0.011	0.1*	-0.321	0.065	0.3*
.56	**	-0.059	0.001	0.0*	-0.434	0.070	0.5*	-0.421	0.066	0.5*
.57	**	-0.292	0.030	0.2*	-0.113	0.004	0.0*	0.054	0.001	0.0*
.58	**	-0.435	0.066	0.4*	-0.193	0.013	0.1*	0.022	0.000	0.0*
.59	**	0.557	0.046	0.6*	-0.577	0.049	0.9*	-0.344	0.018	0.4*
.60	**	-0.415	0.115	0.4*	0.095	0.006	0.0*	-0.047	0.001	0.0*

TABLA IX (Continuación)

.61	**	0.300	0.023	0.2*	0.245	0.016	0.2*	-0.411	0.044	0.5*
.62	**	-0.148	0.013	0.0*	0.104	0.007	0.0*	-0.331	0.066	0.3*
.63	**	0.276	0.009	0.2*	0.038	0.000	0.0*	1.040	0.128	3.3*
.64	**	0.260	0.011	0.1*	0.348	0.019	0.3*	0.880	0.123	2.4*
.65	**	-0.027	0.000	0.0*	-0.740	0.141	1.5*	-0.176	0.008	0.1*
.66	**	-0.341	0.017	0.2*	-0.670	0.064	1.3*	-0.127	0.002	0.1*
.67	**	-0.529	0.150	0.6*	-0.360	0.069	0.4*	-0.025	0.000	0.0*
.68	**	0.840	0.068	1.5*	0.056	0.000	0.0*	-1.089	0.115	3.7*
.69	**	-0.104	0.002	0.0*	-0.477	0.047	0.6*	0.314	0.020	0.3*
.70	**	0.804	0.092	1.3*	-0.070	0.001	0.0*	0.662	0.063	1.4*
.71	**	0.257	0.011	0.1*	-0.379	0.024	0.4*	1.252	0.260	4.8*
.72	**	0.556	0.051	0.6*	-0.211	0.007	0.1*	1.173	0.227	4.3*
.73	**	0.323	0.018	0.2*	-0.297	0.015	0.2*	0.695	0.084	1.5*
.74	**	-0.173	0.003	0.1*	-0.566	0.028	0.9*	0.464	0.019	0.7*
.75	**	0.026	0.000	0.0*	-0.288	0.025	0.2*	-0.004	0.000	0.0*
.76	**	0.108	0.003	0.0*	-0.125	0.005	0.0*	0.086	0.002	0.0*
.77	**	-0.138	0.003	0.0*	-0.747	0.099	1.6*	-0.359	0.023	0.4*
.78	**	-0.590	0.094	0.7*	-0.589	0.094	1.0*	0.181	0.009	0.1*
.79	**	-0.489	0.089	0.5*	-0.717	0.191	1.5*	0.001	0.000	0.0*
.80	**	-0.025	0.000	0.0*	-0.189	0.013	0.1*	-0.181	0.012	0.1*
.81	**	-0.521	0.083	0.6*	-0.307	0.029	0.3*	0.418	0.053	0.5*
.82	**	-0.081	0.001	0.0*	-0.346	0.027	0.3*	0.226	0.011	0.2*
.83	**	-0.530	0.166	0.6*	0.066	0.003	0.0*	0.140	0.012	0.1*
.84	**	-0.594	0.041	0.7*	0.139	0.002	0.1*	-0.083	0.001	0.0*
.85	**	0.493	0.014	0.5*	0.337	0.007	0.3*	-0.756	0.033	1.8*
.86	**	0.336	0.041	0.2*	-0.062	0.001	0.0*	-0.593	0.128	1.1*
.87	**	1.020	0.204	2.1*	-0.065	0.001	0.0*	0.049	0.000	0.0*
.88	**	-0.468	0.106	0.5*	-0.419	0.085	0.5*	-0.086	0.004	0.0*
.89	**	-0.647	0.038	0.9*	-1.550	0.220	6.8*	-0.096	0.001	0.0*
.90	**	-0.526	0.087	0.6*	-0.651	0.133	1.2*	-0.387	0.047	0.5*
.91	**	-0.149	0.008	0.0*	0.158	0.009	0.1*	-0.268	0.026	0.2*
.92	**	-0.140	0.007	0.0*	0.014	0.000	0.0*	-0.419	0.059	0.5*
.93	**	-0.447	0.126	0.4*	0.169	0.018	0.1*	0.018	0.000	0.0*
.94	**	0.613	0.139	0.8*	0.236	0.021	0.2*	-0.538	0.107	0.9*
.95	**	-0.219	0.022	0.1*	-0.288	0.037	0.2*	0.136	0.008	0.1*
.96	**	0.130	0.008	0.0*	0.265	0.033	0.2*	-0.196	0.018	0.1*
.97	**	0.665	0.142	0.9*	0.349	0.039	0.3*	-0.456	0.067	0.6*
.98	**	-0.056	0.001	0.0*	-0.043	0.001	0.0*	0.289	0.039	0.3*
.99	**	0.179	0.013	0.1*	-0.138	0.008	0.1*	0.191	0.015	0.1*
.100	**	1.985	0.340	8.1*	-1.163	0.117	3.8*	0.819	0.058	2.1*
.101	**	1.022	0.057	2.1*	-0.724	0.029	1.5*	-0.265	0.004	0.2*
.102	**	-0.348	0.056	0.2*	-0.340	0.054	0.3*	0.127	0.008	0.0*
.103	**	-0.480	0.077	0.5*	-0.407	0.056	0.5*	-0.111	0.004	0.0*
.104	**	-0.540	0.087	0.6*	-0.922	0.254	2.4*	-0.074	0.002	0.0*
.105	**	-0.509	0.095	0.5*	-0.061	0.001	0.0*	0.211	0.016	0.1*
.106	**	0.083	0.001	0.0*	-0.445	0.037	0.6*	-0.051	0.000	0.0*
.107	**	-0.217	0.008	0.1*	-1.021	0.187	3.0*	0.138	0.003	0.1*
.108	**	-0.409	0.043	0.3*	0.099	0.002	0.0*	-0.273	0.019	0.2*
.109	**	-0.215	0.010	0.1*	0.509	0.059	0.7*	-0.371	0.031	0.4*
.110	**	0.082	0.002	0.0*	0.304	0.025	0.3*	0.660	0.117	1.3*
.111	**	-0.360	0.102	0.3*	0.195	0.030	0.1*	0.144	0.016	0.1*
.112	**	1.128	0.245	2.6*	-0.344	0.023	0.3*	0.104	0.002	0.0*
.113	**	-0.175	0.010	0.1*	0.561	0.105	0.9*	0.285	0.027	0.3*
.114	**	-0.357	0.013	0.3*	0.792	0.064	1.8*	0.161	0.003	0.1*
.115	**	-0.429	0.020	0.4*	0.793	0.069	1.8*	-0.010	0.000	0.0*
.116	**	0.022	0.000	0.0*	0.361	0.101	0.4*	0.060	0.003	0.0*
.117	**	0.148	0.002	0.0*	0.131	0.002	0.0*	-0.280	0.009	0.2*
.118	**	-0.244	0.025	0.1*	0.362	0.054	0.4*	0.267	0.030	0.2*
.119	**	0.033	0.001	0.0*	0.483	0.176	0.7*	-0.010	0.000	0.0*
.120	**	0.151	0.016	0.0*	0.388	0.108	0.4*	-0.033	0.001	0.0*
.121	**	-0.118	0.002	0.0*	0.968	0.150	2.7*	0.093	0.001	0.0*
.122	**	-0.342	0.066	0.2*	0.254	0.047	0.2*	-0.022	0.000	0.0*
.123	**	-0.014	0.000	0.0*	0.724	0.241	1.5*	0.097	0.004	0.0*
.124	**	-0.269	0.025	0.1*	0.525	0.095	0.8*	-0.038	0.001	0.0*
.125	**	-0.219	0.039	0.1*	0.396	0.129	0.4*	-0.034	0.001	0.0*
.126	**	-0.323	0.060	0.2*	0.382	0.083	0.4*	0.025	0.000	0.0*
.127	**	-0.183	0.022	0.1*	0.127	0.011	0.0*	0.334	0.073	0.3*
.128	**	-0.241	0.021	0.1*	0.343	0.042	0.3*	0.104	0.004	0.0*
.129	**	-0.183	0.022	0.1*	0.127	0.011	0.0*	0.334	0.073	0.3*
.130	**	-0.254	0.056	0.1*	-0.092	0.007	0.0*	-0.072	0.004	0.0*

TABLA IX (Continuación)

.131	**	-0.136	0.016	0.0*	0.083	0.006	0.0*	-0.189	0.030	0.1*
.132	**	-0.122	0.005	0.0*	0.312	0.036	0.3*	0.014	0.000	0.0*
.133	**	-0.208	0.021	0.1*	0.429	0.090	0.5*	-0.070	0.002	0.0*
.134	**	-0.261	0.054	0.1*	0.348	0.095	0.3*	0.101	0.008	0.0*
.135	**	0.779	0.115	1.3*	-0.117	0.003	0.0*	0.565	0.061	1.0*
.136	**	-0.352	0.064	0.3*	0.231	0.028	0.2*	0.119	0.007	0.0*
.137	**	-0.215	0.018	0.1*	-0.316	0.039	0.3*	-0.056	0.001	0.0*
.138	**	0.007	0.000	0.0*	-0.116	0.009	0.0*	0.029	0.001	0.0*
.139	**	-0.440	0.089	0.4*	-0.410	0.078	0.5*	-0.098	0.004	0.0*
.140	**	-0.260	0.015	0.1*	-0.597	0.077	1.0*	-0.013	0.000	0.0*
.141	**	-0.352	0.055	0.3*	0.092	0.004	0.0*	0.235	0.024	0.2*
.142	**	-0.451	0.044	0.4*	0.159	0.005	0.1*	-0.359	0.028	0.4*
.143	**	0.165	0.009	0.1*	0.149	0.007	0.1*	0.366	0.045	0.4*
.144	**	-0.361	0.072	0.3*	0.218	0.026	0.1*	0.124	0.009	0.0*
.145	**	-0.508	0.150	0.5*	0.309	0.056	0.3*	0.125	0.009	0.0*
.146	**	-0.127	0.010	0.0*	0.447	0.123	0.6*	-0.165	0.017	0.1*
.147	**	0.233	0.022	0.1*	0.503	0.101	0.7*	0.281	0.032	0.2*
.148	**	0.012	0.000	0.0*	0.102	0.008	0.0*	-0.209	0.034	0.1*
.149	**	0.207	0.007	0.1*	0.872	0.120	2.2*	-0.141	0.003	0.1*
.150	**	-0.154	0.015	0.0*	0.243	0.038	0.2*	-0.000	0.000	0.0*
.151	**	-0.111	0.004	0.0*	0.600	0.112	1.0*	0.503	0.079	0.8*
.152	**	0.086	0.004	0.0*	0.126	0.009	0.0*	-0.194	0.021	0.1*
.153	**	1.096	0.363	2.5*	-0.119	0.004	0.0*	0.545	0.090	0.9*
.154	**	0.526	0.083	0.6*	0.141	0.006	0.1*	-0.190	0.011	0.1*
.155	**	0.001	0.000	0.0*	0.460	0.073	0.6*	-0.225	0.017	0.2*
.156	**	0.888	0.157	1.6*	0.002	0.000	0.0*	-0.233	0.011	0.2*
.157	**	-0.171	0.022	0.1*	-0.048	0.002	0.0*	-0.161	0.020	0.1*
.158	**	0.140	0.006	0.0*	0.085	0.002	0.0*	-0.432	0.057	0.6*
.159	**	-0.014	0.000	0.0*	0.578	0.061	0.9*	0.169	0.005	0.1*
.160	**	-0.340	0.046	0.2*	0.373	0.055	0.4*	0.067	0.003	0.0*
.161	**	-0.024	0.000	0.0*	0.176	0.020	0.1*	-0.209	0.029	0.1*
.162	**	-0.438	0.068	0.4*	0.326	0.037	0.3*	-0.001	0.000	0.0*
.163	**	1.090	0.321	2.4*	-0.246	0.016	0.2*	0.504	0.069	0.8*
.164	**	-0.543	0.124	0.6*	0.194	0.016	0.1*	0.346	0.050	0.4*
.165	**	-0.418	0.073	0.4*	0.319	0.042	0.3*	0.193	0.015	0.1*
.166	**	-0.049	0.001	0.0*	0.438	0.062	0.5*	0.652	0.138	1.3*
.167	**	0.184	0.017	0.1*	0.541	0.148	0.8*	-0.019	0.000	0.0*
.168	**	-0.365	0.077	0.3*	0.442	0.113	0.6*	0.094	0.005	0.0*
.169	**	-0.340	0.067	0.2*	0.492	0.141	0.7*	0.225	0.030	0.2*
.170	**	-0.260	0.017	0.1*	-0.088	0.002	0.0*	0.258	0.017	0.2*
.171	**	-0.118	0.003	0.0*	-0.395	0.029	0.4*	0.415	0.032	0.5*
.172	**	0.554	0.164	0.6*	0.278	0.041	0.2*	-0.165	0.015	0.1*
.173	**	-0.321	0.034	0.2*	-0.082	0.002	0.0*	0.119	0.005	0.0*
.174	**	-0.550	0.161	0.6*	-0.065	0.002	0.0*	0.276	0.040	0.2*
.175	**	-0.350	0.093	0.3*	0.317	0.076	0.3*	0.074	0.004	0.0*
.176	**	-0.289	0.060	0.2*	-0.270	0.052	0.2*	-0.183	0.024	0.1*
.177	**	-0.005	0.000	0.0*	0.224	0.013	0.1*	0.677	0.116	1.4*
.178	**	0.157	0.015	0.1*	0.460	0.129	0.6*	-0.207	0.026	0.1*
.179	**	0.157	0.015	0.1*	0.460	0.129	0.6*	-0.207	0.026	0.1*
.180	**	-0.447	0.105	0.4*	0.240	0.030	0.2*	0.036	0.001	0.0*
.181	**	0.583	0.158	0.7*	0.283	0.037	0.2*	-0.190	0.017	0.1*
.182	**	1.811	0.160	6.8*	-0.080	0.000	0.0*	1.606	0.126	8.0*
.183	**	0.126	0.008	0.0*	0.701	0.258	1.4*	0.052	0.001	0.0*
.184	**	-0.071	0.003	0.0*	0.406	0.087	0.5*	0.332	0.066	0.4*
.185	**	-0.411	0.061	0.3*	-0.092	0.003	0.0*	-0.249	0.022	0.2*
.186	**	0.912	0.203	1.7*	-0.223	0.012	0.1*	-0.259	0.016	0.2*
.187	**	-0.251	0.048	0.1*	0.470	0.169	0.6*	0.031	0.001	0.0*
.188	**	0.961	0.257	1.9*	-0.271	0.020	0.2*	0.006	0.000	0.0*
.189	**	-0.133	0.007	0.0*	0.440	0.082	0.5*	0.275	0.032	0.2*
.190	**	-0.467	0.141	0.4*	0.388	0.097	0.4*	0.106	0.007	0.0*
.191	**	0.032	0.000	0.0*	0.073	0.001	0.0*	0.873	0.109	2.4*
.192	**	-0.125	0.002	0.0*	-0.270	0.011	0.2*	0.295	0.013	0.3*
.193	**	-0.333	0.017	0.2*	0.839	0.108	2.0*	0.189	0.005	0.1*
.194	**	-0.152	0.007	0.0*	0.014	0.000	0.0*	0.075	0.002	0.0*
.195	**	-0.434	0.130	0.4*	0.313	0.068	0.3*	0.041	0.001	0.0*
.196	**	-0.321	0.058	0.2*	-0.341	0.065	0.3*	-0.206	0.024	0.1*

TABLA X.- COMPARACION DE RESULTADOS DEL MUESTREO GENERAL DE MATERIAL VEGETAL CONGELADO A  $-20^{\circ}$  C. MUESTRAS PROCESADAS EN AGOSTO DE 1989 Y EN ABRIL Y NOVIEMBRE DE 1990

Nº de muestra	Agosto 1989		Abril 1990		Noviembre 1990	
	Valores de Elisa a 1 h.	Valores de control de vid ( - )	Valores de Elisa a 1 h.	Valores de control de vid ( - )	Valores de Elisa a 1 h.	Valores de control de vid ( - )
2-3	>2	0,017	0,871	0,023	0,180	0,020
4-3	0,350	0,017	0,615	0,023	0,409	0,020
7-2	0,315	0,017	0,618	0,023	0,200	0,020
16-1	0,375	0,017	0,425	0,023	0,225	0,020
18-1	>2	0,017	1,200	0,023	1,200	0,020
21-1	0,615	0,017	0,402	0,023	0,210	0,020
23-4	0,371	0,017	0,550	0,023	0,243	0,020
24-2	0,721	0,017	0,450	0,023	0,375	0,020
28-1	-	0,013	0,415	0,013	-	0,020
40-3	0,625	0,013	0,555	0,013	0,526	0,020
43-1	0,425	0,013	0,612	0,011	-	0,020
46-1	0,348	0,032	0,515	0,011	-	0,020
59-1	0,820	0,032	0,714	0,011	0,165	0,017
-2	0,286	0,032	0,325	0,011	0,155	0,017
62-2	0,230	0,032	0,612	0,011	0,139	0,017
64-1	0,315	0,032	0,650	0,011	0,128	0,017
66-2	0,231	0,032	0,314	0,021	0,134	0,017
70-1	1,122	0,006	0,216	0,021	0,821	0,012
71-2	>2	0,006	0,425	0,021	0,931	0,012
72-2	>2	0,006	0,450	0,016	1,151	0,012
75-1	>2	0,006	0,610	0,016	0,740	0,012
-2	>2	0,006	0,821	0,016	0,610	0,012
-3	1,255	0,006	0,314	0,016	0,512	0,012
80-1	0,990	0,018	0,060	0,016	0,374	0,027
-2	>2	0,018	0,809	0,016	1,615	0,027
-3	>2	0,018	0,312	0,016	0,114	0,027
82-1	>2	0,018	0,803	0,016	0,560	0,027
-2	0,590	0,018	0,313	0,016	0,281	0,027
-3	>2	0,018	0,905	0,016	0,132	0,027
86-3	>2	0,018	1,215	0,024	1,099	0,027
88-1	>2	0,013	0,383	0,024	1,099	0,023
88-2	>2	0,013	1,512	0,024	1,152	0,023
-3	0,723	0,013	0,615	0,024	0,252	0,023

TABLA X (Continuación)

Nº de muestra	Agosto 1989		Abril 1990		Noviembre 1990	
	Valores de Elisa a 1 h.	Valores de control de vid ( - )	Valores de Elisa a 1 h.	Valores de control de vid ( - )	Valores de Elisa a 1 h.	Valores de control de vid ( - )
91-2	>2	0,020	0,621	0,024	0,395	0,017
95-1	0,797	0,020	0,361	0,021	1,027	0,017
2	1,304	0,020	0,355	0,021	-	0,017
3	0,235	0,020	0,402	0,021	-	0,017
96-3	0,402	0,020	0,370	0,021	0,918	0,017
97-1	1,393	0,020	0,800	0,021	1,117	0,017
2	>2	0,020	0,950	0,021	1,800	0,017
3	0,296	0,020	0,247	0,021	0,126	0,017
101-1	>2	0,020	0,850	0,021	1,131	0,017
2	>2	0,020	0,375	0,021	0,315	0,017
103-1	0,639	0,020	0,450	0,021	0,428	0,017
107-2	0,250	0,020	0,325	0,021	-	0,017
101-1	0,750	0,020	0,850	0,021	0,655	0,017
111-1	-	0,020	0,556	0,021	-	0,017
119-1	1,287	0,016	1,771	0,016	0,242	0,019
120-1	0,805	0,016	0,570	0,016	0,640	0,019
140-1	1,144	0,021	0,482	0,016	0,643	0,010
143-1	0,557	0,021	0,631	0,016	0,631	0,010
-2	0,614	0,021	0,450	0,016	0,450	0,010
149-1	0,950	0,021	0,612	0,016	-	0,010
151-4	1,150	0,021	0,251	0,016	0,258	0,010
153-2	0,400	0,021	0,425	0,016	0,166	0,010
154-3	>2	0,021	1,119	0,016	2	0,010
159-4	0,887	0,021	0,627	0,016	0,759	0,010
161-1	0,420	0,011	0,375	0,012	-	0,014
173-1	>2	0,011	1,512	0,012	-	0,014
177-1	0,315	0,011	0,232	0,012	0,139	0,014
179-3	0,395	0,023	0,315	0,018	0,560	0,017
182-1	0,590	0,023	0,740	0,018	0,132	0,017
2	1,286	0,023	1,230	0,018	0,500	0,017
183-1	0,402	0,023	0,600	0,018	0,151	0,017
3	1,509	0,023	0,807	0,018	0,136	0,017
209	1,212	0,023	0,715	0,011	0,86	0,017

TABLA XI.— SEGUIMIENTO PERIODICO DE LAS CEPAS CONTROL To I, To II Y AMARILLA COMO CONTROL + DE LAS 5', 6', 8', 11', 15, 22, 27, 29 Y DE LAS Nº 1 y 2 NEGATIVAS



TABLA XI (Continuación)

18-7-90					25-7-90					31-7-90											
Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+		
1	0,124				1 h	0,102				26/3 h	0,118				1 h	0,089				29 h	0,245
2	0,138				1 t	0,115				26/3 t	0,135				1 t	0,088				29 t	0,250
2 <sup>5</sup>	0,114				5 h	0,131				27 h	1,218				1 r	0,093				29 r	0,225
5	0,118				5 t	0,126				27 t	1,150				2 h	0,096				15 h	1,196
5 <sup>5</sup>	0,804				5 <sup>5</sup> t	1,320				29 h	1,717				2 t	0,094				15 t	0,716
6	0,119				6/3 h	0,108				29 t	1,556				2 r	0,089				15 r	0,551
6 <sup>5</sup>	0,782				6 <sup>5</sup> h	0,132				I h	1,750				5 h	0,089				I h	0,788
VI	0,812				6 <sup>5</sup> t	0,774				I t	1,450				5 t	0,093				I t	0,400
7	0,115				6 <sup>5</sup> t	0,810				II h	1,950				5 r	0,110				I r	0,376
8	0,117				7 h	0,105				II t	1,820				5 <sup>5</sup> h	0,204				II h	1,187
8 <sup>5</sup>	1,190				7 t	0,115				Amarilla h	1,525				5 <sup>5</sup> t	0,151				II t	0,698
8 <sup>55</sup>	0,119				8/2 h	0,113				Amarilla t	1,000				6 h	0,108				II r	0,580
11	0,122				8/2 t	0,123				Amarilla h	1,612				6 t	0,092				Amarilla h	0,906
11 <sup>5</sup>	1,167				11 <sup>5</sup> h	1,316				Amarilla t	1,300				6 r	0,084				Amarilla t	0,665
15	1,315				11 <sup>5</sup> t	1,432				Vigor h	1,612				6 <sup>5</sup> h	0,362				Amarilla r	0,232
22	0,871				14 h	0,116				Vigor t	1,420				6 <sup>5</sup> t	0,109				Vigor h	0,232
24	0,113				14 h	0,122	0,109	0,130	1,950	I (b)	1,742				6 <sup>5</sup> r	0,326				Vigor t	0,139
24 <sup>5</sup>	0,121				15	1,240				I (mb)	1,704				8 <sup>5</sup> h	1,054	0,086	0,088		Vigor r	0,203
25	0,127				17 h	0,167				I (a)	1,750	0,109	0,130	1,959	8 <sup>5</sup> t	0,707				Vecinos h	0,095
26/cm	0,118				17 t	0,122				brote	1,620				8 <sup>5</sup> r	0,312				Vecinos t	0,101
26/cIV	0,123				19 h	0,117				I hoja (b)	1,500				11 h	0,398				Vecinos r	0,124
26/A	0,112	0,109	0,121	1,736	19 t	0,132				I hoja (mb)	1,250				11 t	0,106					
26/3	0,124				22 h	1,386				I hoja (a)	1,350				11 r	0,089				UVA	
27	0,929				22 t	1,430				brote	1,576				11 <sup>5</sup> h	1,165				2 piel	0,086
29	0,940				26/A h	0,151									11 <sup>5</sup> t	0,649				2 pulpa	0,086
I	1,283				26/A t	0,110									11 <sup>5</sup> r	0,635				2 pepita	0,086
II	1,060														22 h	0,396				2 raquis	0,097
Amarilla	0,940														22 t	0,635					
Vigor	0,831														22 r	0,240				8 <sup>5</sup> piel	0,784
Vecinos	0,115														26/A h	0,113				8 <sup>5</sup> pulpa	0,576
															26/A t	0,099				8 <sup>5</sup> pepita	0,830
															26/A r	0,093				8 <sup>5</sup> raquis	0,407
															26 cm h	0,088				22 piel	0,206
															26 cm t	0,100				22 pulpa	0,374
															26 cm r	0,104				22 pepita	0,881
															26/3 h	0,120				22 raquis	0,481
															26/3 t	0,104				27 piel	0,439
															26/3 r	0,131				27 pulpa	0,405
															27 h	0,219				27 pepita	0,759
															27 t	0,259				27 raquis	0,322
															27 r	0,207					









TABLA XI (Continuación)

27-9-90										10-10-90										29-10-90														
Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+					
CEPA 1					CEPA 15					AMARILLA					CEPA 1					CEPA 27					CEPA 1					CEPA 22				
h vieja	0,137				h vieja	0,728				h vieja	0,178				h vieja	0,180				h vieja	0,312				h vieja	0,300				h vieja	0,300			
h joven	0,148				h joven	2,099				h joven	0,366				h joven	0,165				h joven	1,220				h joven	0,325				h joven	0,780			
m vieja	0,161				m vieja	2,536				m vieja	0,741				m vieja	0,158				m vieja	0,654				m vieja	0,312				m vieja	0,550			
m joven	0,140				m joven	1,704				m joven	0,836				m joven	0,180				m joven	0,777				m joven	0,308				m joven	1,100			
r vieja	0,135				r vieja	1,146				r vieja	0,352				r vieja					r vieja					r vieja					r vieja				
r joven	0,127				r joven	2,131				r joven	1,008				r joven					r joven					r joven					r joven				
CEPA 2					CEPA 22					CEPA I					CEPA 2					CEPA 29					CEPA 2					CEPA 27				
h vieja	0,136				h vieja	0,225				h vieja	1,201				h vieja	0,170				h vieja	0,378				h vieja	0,320				h vieja	0,312			
h joven	0,130				h joven	0,468				h joven	2,635				h joven	0,151				h joven	0,630				h joven	0,300				h joven	0,430			
m vieja	0,211				m vieja	1,233				m vieja	1,933				m vieja	0,155				m vieja	0,470				m vieja	0,306				m vieja	0,475			
m joven	0,139				m joven	1,815				m joven	1,433				m joven	0,156				m joven	1,044				m joven	0,315				m joven	0,708			
r vieja	0,139				r vieja	2,100				r vieja	1,230				r vieja					r vieja					r vieja					r vieja				
r joven	0,141				r joven	1,440				r joven	1,185	0,157	0,194	2,115	r joven					r joven					r joven					r joven				
CEPA 5"					CEPA 27					CEPA II					CEPA 5"					AMARILLA					CEPA 5"					CEPA 29				
h vieja	0,726				h vieja	0,274				h vieja	0,756				I hoja	0,542				h amaril.	0,473				I hoja	0,630				h vieja	0,330			
h joven	2,267				h joven	0,700				h joven	1,283				m vieja	1,151				h vieja	0,559				I madera	0,823				h joven	0,325			
m vieja	1,769				m vieja	1,500				m vieja	1,847				m joven	1,105				h joven	0,860				m vieja	0,530				m vieja	0,415			
m joven	1,656				m joven	1,200				m joven	0,868				CEPA 6"					m vieja	0,879				m joven	0,415				m joven	0,530			
r vieja	3,406				r vieja	1,350				r vieja	1,893				I madera	2,258				m joven	0,500				CEPA 6"					m joven	0,415			
r joven	3,357				r joven	1,700				r joven	0,642				CEPA 7					CEPA 7					I madera	0,920				m joven	0,415			
CEPA 6"					CEPA 29										h vieja	1,147				CEPA 7					CEPA 8"					CEPA I				
h vieja	3,306	0,108			h vieja	1,180									h joven	3,621				h vieja	1,147				I hoja	2,000				h vieja	0,890			
h joven	0,133	0,140			h joven	0,400									m vieja	3,360				h joven	0,906				I madera	0,920				h joven	0,560			
m vieja	2,519	2,771			m vieja	0,860									m joven	1,911				m vieja	1,576				CEPA 8"					m vieja	1,200			
m joven	2,604				m joven	0,620									m joven	1,681				m joven	0,906				m joven	0,716				m joven	0,716			
r vieja	0,911				m joven	0,030									CEPA 11"					m joven	1,576				CEPA 8"					CEPA II				
r joven	0,927				r vieja	0,650									h vieja	0,500				h vieja	0,906				CEPA 8"					h vieja	0,407			
CEPA 8"					r joven	0,650									h joven	1,411				h joven	1,576				CEPA 8"					h joven	0,460			
h vieja	0,383				r joven	0,030									m vieja	1,911				m vieja	1,576				CEPA 8"					m vieja	0,640			
h joven	2,462														m joven	1,681				m joven	1,576				CEPA 8"					m joven	0,710			
m vieja	2,973														CEPA 11"					m joven	1,576				CEPA 8"					AMARILLA				
m joven	3,265														h vieja	0,839				h vieja	1,576				CEPA 8"					h vieja	0,382			
r vieja	3,107														h joven	1,370				h joven	1,576				CEPA 8"					h joven	0,339			
r joven	1,737														m vieja	1,906				m vieja	1,576				CEPA 8"					m vieja	0,714			
CEPA 11"															m joven	1,446				m joven	1,576				CEPA 8"					m joven	0,554			
h vieja	0,729														CEPA 22					CEPA 15					CEPA 11"					CEPA 15				
h joven	1,499														h vieja	0,250				h vieja	0,375				CEPA 11"					h vieja	0,375			
m vieja	2,324														h joven	3,830				h joven	0,916				CEPA 11"					h joven	0,916			
m joven	2,343														m vieja	0,864				m vieja	0,970				CEPA 11"					m vieja	0,970			
r vieja	2,245														m joven	0,608				m joven	0,650				CEPA 11"					m joven	0,650			
r joven	3,093																								CEPA 11"									





TABLA XI (Continuación)

12-2-91										16-3-91															
Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	
CEPA 1					AMARILLA					CEPA 22					CEPA 1					CEPA 15					
Raíz 1	0,160				Raíz 1	0,380				Raíz 1	0,717				a	0,165				a	0,725				
" 2	0,150				" 2	0,350				" 2	1,090				b	0,128				b	0,620				
Madera					Madera					Madera	1,415				c	0,118				c	0,520				
a	0,167				a	0,453				CEPA 27					d	0,120				Raíz	0,925				
b	0,184				b	0,516				Raíz 1	1,064				Raíz	0,162				Yema	0,840				
c	0,126				c	0,640				" 2	1,140				Yema	0,154				CEPA 22					
d	0,183				d	0,616				Madera					a					a	0,650				
CEPA 2					CEPA I					a	1,200				b	0,097				b	0,400				
Raíz 1	0,117				Raíz 1	0,870				b	1,512				c	0,100				c	0,350				
" 2	0,124				" 2	0,850				c	1,625				d	0,085				d	0,325				
Madera					Madera					d	1,375				Raíz	0,080				Raíz	0,675				
a	0,116				a	1,015	0,200			CEPA 29					Yema	0,080				Yema	0,850				
b	0,158				b	1,160	0,200			Raíz 1	1,130				CEPA 5'					a	0,650				
c	0,127				c	1,771	1,205			" 2	1,300				a	0,550				b	0,510				
d	0,125				d	1,060				Madera					b	0,540				c	0,442				
CEPA 5'					CEPA II					a	1,615	0,125			c	0,400				d	0,450				
Raíz 1	0,739	0,200			Raíz 1	0,103				b	1,520	0,186			Raíz	0,540				Raíz	0,260				
" 2	1,330	0,200			" 2	0,122				c	1,370	1,036			Yema	0,830				Yema	0,840				
Madera	1,600				Madera					d	1,424				CEPA 6'					Yema	1,100				
CEPA 8'					a	0,155				VECINOS MA					Madera	0,275				a	0,900				
Raíz 1	0,1500				b	0,148				Raíz 1	0,567			Raíz	0,500				b	0,740					
" 2	1,800				c	0,157				" 2	0,967			CEPA 8'					c	1,220					
Madera					d	0,136				Madera				a	0,900				d	0,800					
a	1,640				CEPA 6'					a	1,154			b	0,750				Raíz	0,916					
b	2,140				Raíz 1	1,515				b	1,172			c	0,675				Yema	1,227					
c	2,070				" 2	1,067				c	1,166			d	0,600				CEPA I						
d	2,150				CEPA 15					d	0,962			Raíz	0,700				a	0,455					
CEPA 11'					Raíz 1	0,900	0,125			VIGOR				Yema	0,750				b	0,900					
Raíz 1	1,205				" 2	1,300	0,196			Madera				CEPA 11'					c	0,350					
" 2	1,609				Madera					a	0,575			a	0,640				d	0,300					
Madera					a	2,015				b	0,785			b	0,630				Raíz	0,526					
a	1,525				b	1,950				c	0,416			c	0,540				Yema	0,570					
b	1,425				c	1,806				d	0,435			d	0,400				CEPA II						
c	1,250				d	2,015								Raíz	0,300				a	0,530					
d	1,200													Yema	0,600				b	0,580					

TABLA XI (Continuación)

9-4-91					1-7-91																			
Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+	Nº muestra	Lectura	Fondo	-	+
CEPA 1					CEPA 22					CEPA 1					CEPA 15					CEPA I				
Madera					Madera					a	0,093				a	1,200				a	1,390			
a	0,134				a	0,897				b	0,082				b	1,150				b	1,090			
b	0,118				b	0,605				c	0,080				c	1,275				c	1,100			
Yema					Yema	>2				d	0,075				d	1,200				d	1,200			
a	0,129				a	>2				brote	0,077				brote	1,205				brote	1,172			
b	0,128				b	>2				tallo	0,069				tallo	0,940				tallo	0,810			
CEPA 2					CEPA 27					CEPA 2					CEPA 22					CEPA II				
Madera					Madera					I hoja	0,070				a	0,400				a	1,410			
a	0,125				a	0,881				I tallo	0,069				b	0,250				b	1,400			
b	0,119				b	0,635				CEPA 5					c	0,630				c	1,380			
Yema					Yema	1,604				a	0,509				d	0,312				d	1,300			
a	0,187				a	1,488				b	0,500				brote	0,740				brote	1,350			
b	0,134				b	1,488				c	0,640				tallo	0,512				tallo	0,900			
CEPA 5'					CEPA 29					d	0,570				CEPA 27					a	0,916			
Madera					Madera					brote	0,890				a	0,916				b	0,752			
a	0,426				a	0,780				tallo	0,740				b	0,752				c	0,840			
b	0,597				b	0,710				CEPA 6'					c	0,840				d	0,800			
Yema					Yema	1,427				I hoja	0,215				d	0,800				brote	1,049			
a	2,122				CEPA I					I tallo	0,590				tallo	0,637				tallo	0,637			
b	2,185				Madera					CEPA 8'					a	1,450				a	1,060			
CEPA 6'					a	0,825				a	1,450				b	1,040				b	0,860			
Madera					b	0,650				b	1,040				c	1,260				c	0,725			
a	0,503				Yema	>2				c	1,260				d	1,200				d	0,700			
b	0,597				a	>2				d	1,200				brote	1,345				brote	1,130			
CEPA 6'					b	>2				tallo	0,780				tallo	0,780				tallo	0,760			
Madera					CEPA II					CEPA 11'					a	1,200				h amar.	0,920			
a	0,996				Madera					a	1,200				b	0,510				h verde	1,040			
b	0,677				a	0,650				b	0,510				c	0,986								
Yema					b	0,680				c	0,986				d	1,100								
a	0,738				Raíz	0,475				d	1,100				brote	1,010								
b	0,642				AMARILLA					tallo	0,675				tallo	0,675								
CEPA 11'					Madera					CEPA 15					a	0,746								
Madera					a	0,350				a	0,746				b	0,798								
a	0,681				b	0,210				b	0,798				Yema									
b	0,582				Yema					a	0,614				a	0,614								
Yema					a	0,950				b	0,614				b	0,614								
a	1,503				b	0,800																		
b	0,624																							
CEPA 15																								
Madera																								
a	0,746																							
b	0,798																							
Yema																								
a	0,614																							

0,077 0,085 1,200

TABLA XII..- OBSERVACION DE CEPA A CEPA EN LA FINCA EXPERIMENTAL  
"LA HIGUERUELA" POR TRES OBSERVADORES DISTINTOS Y  
REPETIDOS TRES VECES CON INTERCAMBIO DE BLOQUES VEZ  
A VEZ (AGOSTO 1990)

Leyenda

TABLA XXXII

OBSERVACION DE CEPA A CEPA EN LA FINCA EXPERIMENTAL "LA HIGUERUELA" POR TRES OBSERVADORES DISTINTOS Y REPETIDOS TRES VECES CON INTERCAMBIO DE BLOQUES VEZ A VEZ (AGOSTO 1990)

Leyenda

- No síntomas (-)
- Síntomas de virosis (+)
- Falta de planta (M)
- Planta repuesta (R)
- Planta dudosa (?)
- Planta joven (J)
- Planta sin vigor (E)
- Planta muy vigorosa (V)
- Planta Amarilla (A) virosis



TABLA XII (Continuación)

37	+	-	-	-	M	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	J	+
38	-	+	+	-	P	?	+	-	-	-	-	+	+	?	+	+	+
39	-	-	-	-	E	J	-	-	R	-	-	-	-	-	V	A	+
40	-	+	-	-	M	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41	-	P	-	-	M	-	-	M	M	M	A	-	+	M	-	-	-
42	-	-	-	M	-	J	-	-	-	J	-	J	-	-	A	+	+
43	-	+	+	-	P	M	-	-	-	-	-	+	N	+	-	A	+
44	-	J	M	-	P	M	-	-	?	-	-	-	-	-	-	A	+
45	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	A	-
46	M	+	-	-	-	-	-	M	M	M	-	-	-	-	R	-	+
47	M	-	-	-	-	?	?	-	M	-	?	-	-	-	-	R	-
48	-	-	-	-	P	-	-	-	-	+	-	-	-	-	R	+	-
49	M	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	A	A	R
50	-	-	+	-	-	-	-	30	-	-	-	-	-	29	+	+	+
51	-	-	-	+	E	R	R	-	-	-	-	P	-	P	P	-	+
52	-	-	E	+	M	E	E	-	-	-	M	-	-	-	-	-	V
53	-	-	V	V	?	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
54	-	-	-	?	P	-	J	-	-	P	-	-	-	-	-	R	-
55	P	+	+	+	-	-	-	-	-	P	-	M	-	-	-	-	-
56	-	+	+	-	-	A	-	-	?	-	-	-	-	-	M	+	-
57	?	-	+	-	-	-	-	M	+	-	J	?	-	-	-	-	?
58	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	R	+	+
59	-	-	M	-	-	-	R	M	-	-	-	-	-	-	-	27	+
60	-	P	+	+	+	R	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-
61	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	R	+	M
62	J	-	+	-	+	R	-	-	-	R	+	+	R	J	-	+	+
63	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
64	-	M	M	+	-	+	M	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
65	-	-	-	-	+	+	-	-	-	V	+	E	J	J	+	+	+
66	-	-	-	M	+	+	+	-	-	M	-	M	P	P	+	+	+
67	M	+	-	-	-	+	+	E	+	+	+	E	P	+	-	-	+
68	+	+	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
69	-	+	+	+	+	+	+	M	R	A	-	26	+	+	+	+	+
70	R	-	J	-	-	R	R	R	R	R	R	R	+	+	-	-	+
71	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	M	+	+	+	+	+	+
72	M	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
73	-	-	+	+	P	R	+	+	-	-	M	-	-	-	-	-	-
74	-	P	-	-	+	P	-	-	-	-	+	J	+	+	-	-	-
75	M	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	P	+	P	+	+
76	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	A	-	-
77	+	M	P	R	R	-	?	-	-	+	-	-	M	-	M	+	+
78	+	25	J	R	24	R	+	+	-	+	-	J	J	+	+	A	+
79	-	+	R	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
80	-	E	+	J	-	M	-	-	-	M	-	+	-	-	+	M	+

TABLA XII (Continuación)

81	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+		
82	+	+	-	-	-	-	+	+	-	J	-	-	-	-	A	A		
83	-	+	V	P	V	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+		
84	-	+	P	V	J	-	?	-	R	-	-	-	-	-	-	-		
85	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+		
86	-	-	-	-	+	+	+	+	-	J	-	-	-	-	+	+		
87	V	+	+	-	+	+	R	M	-	+	-	-	+	-	-	-		
88	V	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+		
89	-	+	-	+	-	+	-	-	+	A	-	-	-	+	+	+		
90	P	-	-	-	V	-	-	-	-	?	-	-	-	-	23	+		
91	P	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	R	R	R		
92	-	-	-	-	-	M	P	P	-	-	J	J	-	-	-	+		
93	-	-	+	P	-	-	-	-	-	+	-	J	-	-	-	+		
94	-	-	-	-	-	-	-	-	?	+	-	-	-	-	+	M		
95	-	+	+	-	+	+	+	-	-	J	-	-	M	+	M	-		
96	P	-	R	-	M	-	-	-	-	P	-	P	+	+	-	M		
97	-	-	+	-	-	+	+	+	P	-	-	-	+	+	-	+		
98	-	-	P	P	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-		
99	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+		
100	+	+	-	-	22	-	+	-	-	J	-	-	-	-	-	+	M	
101	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
102	P	-	+	J	J	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
103	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	P	-	21	-	-	-	P	
104	-	-	-	-	P	J	P	-	-	P	-	-	J	+	J	-	-	
105	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	J	+	+	+	P	-	
106	J	-	-	-	-	-	-	-	-	V	-	-	-	-	-	+	M	
107	P	+	J	-	J	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	P	P	
108	-	P	+	-	-	M	-	-	V	J	-	-	J	+	+	-	P	
109	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-	P	
110	-	-	-	+	-	M	-	-	M	+	19	-	-	J	-	-	-	
111	-	-	-	-	A	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	
112	-	-	-	-	J	-	-	+	-	J	-	-	-	-	-	-	+	
113	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	A	
114	-	+	M	J	-	-	-	+	-	-	+	+	P	+	-	-	-	
115	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	J	
116	-	+	-	-	-	-	J	-	J	-	-	-	R	+	-	-	-	
117	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-	-	+	+	-	-	A	
118	-	-	J	M	-	-	+	A	A	-	-	A	+	-	-	+	A	
119	A	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
120	-	M	-	-	-	+	-	P	-	-	-	+	+	-	-	A	J	
121	V	+	+	+	A	A	-	-	J	-	-	-	-	-	-	-	+	
122	V	+	-	+	P	-	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	-	
123	-	-	M	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	

TABLA XII (Continuación)

124	-	P	-	+	R	-	-	-	+	-	+	16	-	-	-	P	-	
125	V	-	-	P	V	-	-	J	-	-	-	-	-	-	-	A	+	R
126	-	P	-	-	-	-	-	+	-	A	-	-	-	-	-	-	+	-
127	-	-	-	-	+	M	-	R	-	R	-	-	-	-	-	-	+	+
128	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	M	-	-	-	-	-	-
129	+	+	+	-	-	-	-	R	R	-	-	-	-	-	+	+	+	-
130	+	-	+	+	+	-	+	P	-	-	-	-	-	-	-	-	?	-
131	+	-	-	15	-	-	-	J	-	-	-	M	+	+	-	-	M	-
132	-	-	-	J	-	-	-	J	J	+	-	-	-	+	-	-	-	+
133	+	-	-	-	+	M	V	-	+	-	+	+	-	A	A	+	-	-
134	-	+	J	-	-	+	J	M	+	-	-	-	M	-	-	-	-	-
135	+	-	+	R	R	+	+	-	A	-	+	V	-	-	-	-	-	+
136	R	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
137	-	-	+	-	-	-	-	-	R	-	-	-	-	-	-	+	+	+
138	-	+	+	-	-	-	-	-	+	P	-	-	-	-	?	-	-	-
139	-	-	R	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	E
140	-	-	-	-	-	-	-	R	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+
141	-	+	R	+	-	+	+	R	13	-	-	-	-	-	+	A	+	+
142	R	-	P	A	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
143	+	-	-	-	-	-	-	-	A	R	-	-	-	+	-	-	-	A
144	-	+	+	M	A	-	-	-	A	-	R	-	-	-	-	-	+	-
145	M	+	+	-	-	-	-	V	M	-	-	-	-	-	-	+	-	-
146	+	-	+	-	+	+	-	-	-	P	M	-	+	A	?	-	-	-
147	+	+	M	R	-	R	A	+	-	+	+	J	-	?	-	11	+	+
148	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	M	-	-	M	+	+	-
149	M	-	-	+	-	-	-	-	-	M	-	-	-	-	J	-	-	-
150	+	M	R	-	-	-	-	-	-	R	-	+	A	-	-	-	-	P
151	V	+	+	+	-	10	-	-	-	M	-	-	-	+	-	-	-	R
152	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
153	V	M	+	M	+	-	P	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	P
154	+	-	+	A	-	R	J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	P
155	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	J
156	V	+	+	P	-	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
157	-	M	+	+	+	+	-	-	+	R	M	-	-	-	-	-	+	+
158	-	-	+	-	+	-	-	+	E	E	-	-	-	M	+	-	-	-
159	M	E	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	J	P
160	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	-	-
161	-	E	+	+	+	-	P	-	-	-	-	-	-	-	M	-	R	P
162	-	+	+	-	A	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
163	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	M	E	-	-	-	R	-
164	+	P	R	+	-	-	R	-	-	J	-	-	+	-	J	-	-	-
165	+	+	-	-	-	-	E	-	-	-	-	-	+	+	M	+	+	
166	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

TABLA XII (Continuación)

167	-	P	P	-	M	-	-	+	+	E	-	-	-	-	?	+	+		
168	-	+	-	-	-	R	-	8	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
169	J	-	-	+	+	+	J	-	+	E	M	E	F	E	+	M	M		
170	-	+	-	-	-	-	J	E	J	-	J	-	-	-	-	-	-		
171	V	-	-	-	-	E	E	-	E	E	+	-	P	J	+	+	-		
172	E	+	P	-	E	R	R	-	-	-	+	-	E	-	-	-	-		
173	V	-	-	-	P	M	E	-	-	-	R	-	+	-	-	+	-		
174	-	-	P	-	-	-	-	R	+	+	-	-	-	E	E	E	+		
175	-	P	J	-	E	-	R	-	+	+	R	R	R	R	-	-	-		
176	M	-	R	E	E	E	-	-	+	-	E	7	R	R	E	R	P		
177	P	+	+	A	A	-	-	R	+	+	+	P	E	E	-	P	R		
178	+	+	+	+	-	R	M	+	+	+	-	-	M	-	-	+	V		
179	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	A	A	M	P	M	-	-		
180	+	+	-	J	P	+	P	-	+	-	-	+	R	R	+	R	M		
181	+	-	P	+	P	+	+	+	+	-	+	+	R	A	+	P	+		
182	-	-	A	-	-	P	+	+	M	P	-	-	-	+	-	-	M		
183	-	-	R	J	R	+	+	+	+	-	+	-	+	-	J	+	-	-	
184	+	-	R	+	+	+	J	R	R	-	R	P	P	M	V	-	E		
185	-	P	R	R	P	R	+	-	+	M	-	R	M	+	P	P	R		
186	M	+	R	R	-	+	-	-	6	+	+	+	6	+	-	M	M	+	
187	R	R	E	+	+	+	P	M	E	R	R	+	+	R	+	-	+	-	
188	J	-	R	R	+	+	R	R	R	+	-	E	+	P	-	-	R	-	
189	R	M	+	+	R	+	+	R	A	-	-	+	-	-	-	-	P	P	
190	+	E	J	+	R	R	R	R	M	-	M	P	-	M	-	-	-	-	
191	-	-	-	M	R	R	R	J	P	-	+	+	+	-	-	-	-	-	
192	R	R	-	+	R	-	R	+	R	-	R	-	-	-	M	M	P		
193	E	M	J	-	M	M	+	P	R	R	-	-	+	E	M	R	R		
194	R	-	-	M	+	+	+	5	+	+	+	-	-	R	-	R	R	R	
195	R	+	-	-	-	E	+	+	E	+	5	E	R	-	+	R	R		
196	R	+	-	P	R	M	P	-	E	E	E	+	E	E	E	R	R		
197	+	M	E	-	P	E	E	-	E	E	-	E	E	R	E	+	+		
198	+	-	E	J	J	P	-	J	-	J	J	J	-	-	E	J	J		
199	+	+	P	R	J	R	R	R	-	-	-	+	J	-	+	-	M		
200	+	-	R	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+		
201	P	M	P	+	+	-	+	+	-	A	A	A	-	+	+	-	+		
202	+	P	-	-	P	-	-	V	-	-	-	-	-	-	-	M	-		
203	+	-	M	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	M		
204	+	-	+	-	M	J	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-		
205	R	R	R	-	-	M	-	-	-	-	P	-	-	+	+	-	+		
206	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-		
207	-	-	-	P	-	J	-	-	-	-	-	-	-	M	+	-	-		
208	-	J	-	P	-	-	-	-	-	-	-	-	-	R	-	+	-		
209	-	-	-	-	-	M	-	P	-	-	M	J	-	-	+	-	J		



TABLA XIII..- MUESTREO EN CASTILLA-LA MANCHA. MUESTRAS TOMADAS AL AZAR  
Y PROCESADAS POR DOS EQUIPOS DIFERENTES

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
1	0,023	0,032	0,02	0,016	0,037	0,027	0,000	0,013	0,011	0,018
2	0,017	0,032	0,016	0,016	0,051	0,027	0,009	0,01	0,015	0,018
3	0,015	0,032	0,02	0,016	0,03	0,027	0,018	0,024	0,011	0,018
4	0,061	0,032	0,009	0,016	0,04	0,027	0,009	0,005	0,039	0,018
5	0,014	0,032	0,039	0,016	0,029	0,027	0,003	0,004	0,01	0,018
6	0,028	0,032	0,014	0,016	0,03	0,027	0,007	0,018	0,026	0,018
7	0,005	0,032	0,007	0,016	0,013	0,027	0,010	0,068	0,018	0,018
8	0,018	0,032	0,009	0,016	0,055	0,027	0,011	0,018	0,011	0,018
9	0,018	0,032	0,014	0,016	0,065	0,027	0,007	0,012	0,007	0,018
10	0,026	0,032	0,004	0,016	0,014	0,027	0,001	0,031	0,012	0,018
11	0,068	0,032	0,004	0,016	0,06	0,027	0,011	0,007	0,01	0,018
12	0,029	0,032	0,003	0,016	0,08	0,027	0,007	0,007	0,003	0,018
13	0,027	0,032	0,009	0,016	0,022	0,027	0,006	0,001	0,012	0,018
14	0,029	0,032	0,001	0,016	0,03	0,027	0,006	0,009	0,035	0,018
15	0,022	0,032	0,000	0,016	0,08	0,027	-----	-----	-----	
16	0,046	0,032	0,004	0,016	0,09	0,027	0,021	0,009	0,003	0,018
17	0,018	0,032	0,009	0,016	0,016	0,140	0,015	0,008	0,046	0,018

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
18	0,053	0,032	0,001	0,016	0,02	0,140	0,016	0,016	0,028	0,018
19	0,055	0,032	0,001	0,016	0,015	0,140	0,01	0,009	0,029	0,018
20	0,035	0,032	0,004	0,016	0,017	0,140	0,015	0,019	0,008	0,018
21	0,046	0,032	0,001	0,016	0,005	0,140	0,013	0,011	0,006	0,018
22	0,014	0,032	0,006	0,021	0,02	0,023	0,004	0,004	0,017	0,018
23	0,004	0,032	0,011	0,021	0,01	0,023	0,012	0,003	0,01	0,018
24	> 2	0,032	> 2	0,021	1,066	0,023	-----	1,875	0,632	0,018
25	0,021	0,032	0,007	0,021	0,002	0,023	0,026	0,018	0,018	0,018
26	0,032	0,032	0,005	0,021	0,000	0,023	0,014	0,006	0,003	0,018
27	0,034	0,032	0,011	0,021	0,041	0,023	-----	0,007	0,013	0,018
28	0,053	0,032	0,005	0,021	0,027	0,023	0,001	0,005	0,008	0,018
29	0,024	0,032	0,005	0,021	0,015	0,023	0,009	0,006	0,02	0,018
30	0,009	0,032	0,006	0,021	0,008	0,023	0,012	0,011	0,009	0,018
31	0,009	0,032	0,009	0,021	0,014	0,023	0,002	0,005	0,002	0,018
32	0,034	0,032	0,002	0,021	0,019	0,023	0,019	0,000	0,015	0,018
33	0,019	0,032	0,001	0,021	0,001	0,023	0,009	0,011	0,014	0,025
34	0,051	0,032	0,001	0,021	0,017	0,023	0,024	0,049	0,016	0,025

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
35	0,058	0,032	0,001	0,021	0,011	0,023	0,005	0,004	0,025	0,025
36	> 2	0,032	> 2	0,021	0,835	0,023	-----	0,303	> 2	0,025
37	0,032	0,032	0,001	0,021	0,013	0,023	0,021	0,056	0,037	0,025
38	0,414	0,032	0,004	0,021	0,018	0,023	0,230	0,092	0,264	0,025
39	0,028	0,032	0,003	0,021	0,009	0,023	0,056	0,05	0,095	0,025
40	0,042	0,032	0,009	0,021	0,023	0,023	0,057	0,024	0,017	0,025
41	0,033	0,032	0,009	0,021	0,016	0,023	0,001	0,023	0,025	0,025
42	0,028	0,032	0,001	0,021	0,021	0,023	0,004	0,054	0,041	0,025
43	0,047	0,032	0,005	0,021	0,009	0,023	0,018	0,028	0,017	0,025
44	0,01	0,032	0,009	0,021	0,012	0,023	0,034	0,015	0,001	0,025
45	0,028	0,032	0,038	0,025	0,019	0,027	0,001	0,067	0,021	0,025
46	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
47	> 2	0,032	> 2	0,025	1,105	0,027	-----	-----	-----	-----
48	0,057	0,032	0,036	0,025	0,002	0,027	0,026	0,009	0,069	0,025
49	0,015	0,032	0,023	0,025	0,005	0,027	0,004	0,000	0,036	0,025
50	0,031	0,032	0,02	0,025	0,023	0,027	0,001	0,037	0,013	0,025
51	> 2	0,032	> 2	0,025	1,066	0,027	-----	0,29	> 2	0,025

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
52	0,034	0,032	0,042	0,025	0,005	0,027	0,071	0,038	0,037	0,025
53	0,063	0,032	0,028	0,025	0,016	0,027	0,011	0,013	0,032	0,025
54	0,044	0,032	0,013	0,025	0,002	0,027	0,012	0,007	0,05	0,025
55	0,013	0,032	0,018	0,025	0,017	0,027	0,019	0,026	0,019	0,025
56	0,001	0,032	0,013	0,025	0,015	0,027	0,003	0,003	0,028	0,025
57	0,058	0,032	0,018	0,025	0,01	0,027	0,002	0,007	0,025	0,025
58	0,012	0,032	0,01	0,025	0,002	0,027	0,014	0,011	0,019	0,025
59	0,054	0,032	0,006	0,025	0,003	0,027	-----	-----	-----	-----
60	0,004	0,032	0,008	0,025	0,008	0,027	0,019	0,017	0,003	0,025
61	0,039	0,032	0,018	0,025	0,013	0,027	0,035	0,091	0,021	0,025
62	0,017	0,032	0,007	0,025	0,018	0,027	0,013	0,043	0,007	0,025
63	0,041	0,032	0,002	0,025	0,028	0,027	0,05	0,038	0,005	-----
64	0,053	0,032	0,005	0,025	0,022	0,027	0,017	0,026	0,006	0,025
65	0,036	0,032	0,013	0,025	0,025	0,027	0,043	0,058	0,042	0,025
66	0,042	0,032	0,009	0,025	0,027	0,027	0,027	0,069	0,003	0,025
67	0,045	0,032	0,004	0,025	0,01	0,027	0,032	0,026	0,022	0,016
68	0,043	0,032	0,007	0,025	0,009	0,027	-----	-----	-----	-----

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
69	> 2	0,032	> 2	0,025	0,716	0,031	0,180	0,380	0,185	0,016
70	0,036	0,032	0,002	0,025	0,025	0,031	0,028	0,77	0,03	0,016
71	0,014	0,032	0,003	0,025	0,022	0,031	0,003	0,011	0,000	0,016
72	0,025	0,032	0,013	0,025	0,012	0,031	0,007	0,014	0,016	0,016
73	0,038	0,032	0,014	0,025	0,014	0,031	0,017	0,034	0,014	0,016
74	0,257	0,032	0,005	0,025	0,028	0,031	-----	0,017	-----	-----
75	> 2	0,032	> 2	0,025	1,18	0,031	-----	-----	-----	-----
76	0,044	0,032	0,013	0,025	0,006	0,031	0,012	0,012	0,017	0,016
77	0,028	0,032	0,013	0,025	0,022	0,031	-----	-----	-----	-----
78	0,04	0,032	0,005	0,025	0,017	0,031	0,008	0,012	0,021	0,016
79	0,040	0,032	0,002	0,025	0,019	0,031	0,022	0,018	0,014	0,016
80	0,041	0,032	0,018	0,025	0,008	0,031	0,016	0,012	0,018	0,016
81	0,094	0,032	0,023	0,025	0,012	0,031	0,011	0,015	0,021	0,016
82	0,026	0,032	0,018	0,025	0,005	0,031	0,024	0,018	0,006	0,016
83	0,030	0,032	0,008	0,025	0,023	0,031	0,013	0,012	0,013	0,016
84	> 2	0,032	> 2	0,025	0,972	0,031	-----	-----	-----	-----
85	0,003	0,032	0,018	0,025	0,008	0,031	0,014	0,017	0,015	0,016

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
86	0,018	0,032	0,010	0,025	0,025	0,031	0,019	0,019	0,018	0,016
87	0,001	0,032	0,010	0,025	0,021	0,031	0,011	0,007	0,001	0,016
88	0,003	0,032	0,034	0,025	0,006	0,031	0,022	0,029	0,013	0,016
89	0,058	0,225	0,028	0,105	0,016	0,031	0,011	0,021	0,022	0,016
90	0,015	0,225	0,038	0,105	0,028	0,031	0,017	0,011	0,002	
91	0,046	0,225	0,022	0,105	0,006	0,031	0,010	0,009	0,011	0,016
92	> 2	0,035	> 2	0,027	1,116	0,031	0,605	0,384	0,065	0,016
93	0,036	0,035	-----	0,027	-----	0,031	0,004	0,022	0,013	0,016
94	0,027	0,035	0,051	0,027	0,015	0,031	0,014	0,013	0,011	0,016
95	0,033	0,035	0,045	0,027	0,005	0,031	-----	0,016	0,015	0,016
96	0,037	0,035	0,032	0,027	0,018	0,031	0,004	0,037	0,050	0,016
97	0,066	0,035	0,038	0,027	0,007	0,031	-----	-----	-----	-----
98	0,019	0,035	0,013	0,027	0,002	0,031	-----	-----	-----	-----
99	0,043	0,035	0,018	0,027	0,020	0,031	-----	0,017	0,027	0,016
100	0,008	0,035	0,017	0,027	0,015	0,031	0,020	0,008	0,004	0,016
101	0,027	0,035	0,031	0,027	0,011	0,031	0,000	0,027	0,029	0,016
102	0,032	0,035	0,033	0,027	0,020	0,031	-----	-----	-----	-----

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
103	0,036	0,035	0,041	0,027	0,012	0,031	-----	0,039	0,032	0,016
104	0,039	0,035	0,04	0,027	0,026	0,031	0,033	0,003	0,002	0,016
105	0,015	0,035	0,038	0,027	0,025	0,031	0,004	0,016	0,021	0,016
106	0,002	0,035	0,012	0,027	0,001	0,031	-----	0,029	0,019	0,173
107	> 2	0,035	> 2	0,027	0,245	0,031	-----	-----	-----	-----
108	0,025	0,035	0,025	0,027	0,038	0,185	-----	0,013	-----	-----
109	> 2	0,035	> 2	0,027	1,121	0,185	-----	-----	-----	-----
110	0,040	0,035	0,034	0,027	0,006	0,185	0,035	0,017	0,010	0,173
111	0,038	0,035	0,049	0,027	0,043	0,185	0,028	0,016	0,032	0,173
112	0,018	0,035	0,040	0,027	0,014	0,185	0,026	0,012	0,048	0,173
113	0,043	0,035	0,029	0,027	0,038	0,185	0,036	0,006	0,042	0,173
114	0,034	0,035	0,024	0,027	0,004	0,185	0,009	0,025	0,025	0,173
115	0,019	0,035	0,021	0,027	0,031	0,185	0,027	0,028	0,014	0,173
116	0,003	0,035	0,017	0,027	0,007	0,031	0,043	0,027	0,033	0,024
117	0,013	0,000	0,020	0,027	0,002	0,031	0,041	0,015	0,021	0,024
1/SC	0,020	0,035	0,018	0,027	0,011	0,031	-----	0,030	-----	0,024
3/SS	0,013	0,035	0,041	0,027	0,000	0,031	-----	0,017	0,023	0,024

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
5/CS	0,004	0,035	0,043	0,027	0,001	0,031	0,024	0,021	0,006	0,024
5/SC	0,035	0,035	0,024	0,027	0,016	0,031	0,020	0,032	0,019	0,024
7/CS	0,048	0,035	0,010	0,027	0,011	0,031	0,026	0,054	0,047	0,024
9/CS	0,012	0,035	0,015	0,027	0,033	0,031	0,026	0,014	0,001	0,024
9/SS	0,010	0,035	0,011	0,027	0,004	0,031	0,047	0,033	0,041	0,024
11/CS	0,017	0,035	0,015	0,027	0,020	0,031	0,01	0,009	0,037	0,024
11/SS	0,000	0,035	0,033	0,027	0,002	0,031	0,037	0,037	0,041	0,024
13/CS	0,016	0,035	0,016	0,027	0,031	0,031	0,037	0,021	0,017	0,024
15/CS	0,009	0,035	0,049	0,027	0,021	0,031	0,035	0,002	0,023	0,024
15/SS	0,014	0,035	0,030	0,027	0,004	0,031	0,031	0,021	0,012	0,024
17/SS	0,022	0,035	0,016	0,027	0,016	0,031	0,012	0,024	0,069	0,024
17/CS	0,035	0,035	0,014	0,027	0,007	0,031	0,021	0,019	0,028	0,024
19/SS	0,013	0,035	0,013	0,027	0,007	0,031	-----	-----	-----	-----
21/CS	0,016	0,035	0,013	0,027	0,002	0,031	0,034	0,102	0,008	0,024
23/SS	0,025	0,035	0,011	0,027	0,009	0,031	-----	-----	-----	-----
25/SS	0,027	0,035	0,015	0,027	0,009	0,031	-----	-----	-----	-----
25/CS	0,018	0,035	0,016	0,027	0,006	0,031	-----	-----	-----	-----

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
27/CS	0,062	0,035	0,030	0,027	0,018	0,031	-----	-----	-----	-----
29/CS	0,059	0,035	0,016	0,027	0,011	0,031	0,009	0,002	0,009	0,024
29/SC	0,023	0,035	0,016	0,027	0,006	0,031	-----	-----	-----	
31/CS	0,029	0,035	0,016	0,027	0,005	0,021	0,032	0,019	0,038	0,024
31/SS	0,001	0,035	0,008	0,027	0,017	0,021	0,028	0,007	0,027	0,024
33/SS	0,011	0,035	0,013	0,027	0,020	0,021	0,004	0,008	0,043	0,024
33/CS	0,000	0,035	0,003	0,027	0,013	0,021	0,046	0,028	-----	0,024
35/SS	0,017	0,035	0,023	0,027	0,024	0,021	0,021	0,043	0,028	0,024
35/CS	0,06	0,035	0,015	0,027	0,036	0,021	0,032	0,010	0,021	0,021
37/SS	0,041	0,035	0,009	0,027	0,016	0,021	0,000	0,028	0,011	0,021
37/CS	0,022	0,035	0,006	0,027	0,004	0,021	0,013	0,013	0,007	0,021
39/CS	0,002	0,035	0,01	0,027	0,022	0,021	-----	0,01	0,001	0,021
39/SS	0,011	0,035	0,026	0,027	0,000	0,021	0,018	0,009	0,004	0,021
41/SS	0,022	0,035	0,008	0,027	0,021	0,021	0,001	0,013	0,015	0,021
41/CS	0,020	0,035	0,006	0,027	0,01	0,021	0,005	0,004	0,004	0,021
43/SS	0,037	0,035	0,033	0,027	0,011	0,021	-----	-----	-----	-----
43/CS	0,032	0,035	0,024	0,027	0,016	0,021	-----	-----	-----	-----

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hojas	Tallo	Raiz	
45/CS	0,070	0,035	0,013	0,027	0,025	0,021	-----	0,008	0,000	0,021
47/SS	0,026	0,035	0,012	0,027	0,001	0,021	-----	-----	-----	-----
47/CS	0,008	0,035	0,012	0,027	0,009	0,021	-----	-----	-----	-----
49/SS	0,009	0,035	0,024	0,027	0,013	0,021	0,009	0,02	0,018	0,021
49/CS	0,019	0,035	0,015	0,027	0,004	0,021	-----	-----	-----	-----
50/CC	0,000	0,035	0,016	0,027	0,021	0,021	-----	-----	-----	-----
51/SC	0,012	0,035	0,026	0,027	0,013	0,021	0,007	0,001	0,014	0,021
53/CC	0,07	0,035	0,031	0,027	0,018	0,021	-----	-----	-----	-----
53/SC	0,049	0,035	0,009	0,027	0,001	0,021	-----	-----	-----	-----
55/SC	0,047	0,035	0,01	0,027	0,007	0,021	-----	-----	-----	-----
57/SC	0,024	0,035	0,007	0,027	0,029	0,024	0,011	0,003	0,018	0,021
57/CC	0,008	0,035	0,008	0,027	0,025	0,024	0,023	0,021	0,006	0,021
59/SC	0,011	0,035	0,02	0,027	0,005	0,024	0,012	0,028	0,005	0,021
61/SC	0,09	0,035	0,011	0,027	0,01	0,024	0,01	0,007	0,037	0,021
61/CC	0,013	0,035	0,008	0,027	0,01	0,024	0,015	0,02	0,005	0,021
63/CC	0,051	0,035	0,019	0,027	0,003	0,024	0,001	0,012	0,01	0,021
63/SC	0,064	0,035	0,01	0,027	0,021	0,024	0,001	0,014	0,026	0,021
65/CC	0,014	0,035	0,011	0,027	0,026	0,024	0,007	0,002	0,002	0,021

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
67/SC	0,075	0,035	0,012	0,027	0,028	0,024	0,003	0,006	0,009	0,021
67/CC	0,017	0,035	0,016	0,027	0,038	0,024	0,017	0,003	0,014	0,021
69/CC	0,005	0,035	0,03	0,027	0,007	0,024	0,001	0,003	0,012	0,021
71/SC	0,001	0,035	0,006	0,027	0,001	0,024	0,006	0,006	0,007	0,021
71/CC	0,007	0,035	0,012	0,027	0,007	0,024	0,033	0,004	0,002	0,021
73/SC	0,063	0,121	0,013	0,117	0,001	0,024	0,002	0,000	0,004	0,021
73/CC	0,021	0,121	0,01	0,117	0,010	0,024	0,004	0,035	0,020	0,021
75/CC	0,057	0,121	0,001	0,117	0,003	0,024	-----	-----	-----	-----
79/CC	0,059	0,121	0,009	0,117	0,016	0,024	0,000	0,005	0,015	0,021
79/SC	0,050	0,121	0,005	0,117	0,001	0,024	0,011	0,019	0,001	0,021
81/SC	0,041	0,121	0,009	0,117	0,004	0,024	-----	-----	-----	-----
83/CC	0,072	0,121	0,004	0,117	0,017	0,024	0,01	0,002	0,003	0,021
81/CC	0,071	0,121	0,011	0,117	0,014	0,024	-----	-----	-----	-----
85/SC	0,017	0,029	0,032	0,021	0,023	0,024	0,005	0,019	0,007	0,021
85/CC	0,010	0,029	0,003	0,021	0,030	0,024	-----	-----	-----	-----
87/CC	0,023	0,029	0,002	0,021	0,026	0,024	0,024	0,033	0,037	0,021
89/SC	0,026	0,029	0,011	0,021	0,019	0,024	0,008	0,011	0,01	0,021
89/CC	0,034	0,029	0,001	0,021	0,036	0,024	0,025	0,013	0,08	0,023

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
91/CC	0,047	0,029	0,016	0,021	0,031	0,024	0,013	0,018	0,007	0,023
93/SC	0,031	0,029	0,027	0,021	0,024	0,024	0,002	0,011	0,069	0,023
93/CC	0,032	0,029	0,047	0,021	0,021	0,024	0,029	0,091	0,037	0,023
95/CC	0,018	0,029	0,062	0,021	0,003	0,024	-----	-----	-----	-----
95/SC	0,042	0,029	0,001	0,021	0,025	0,024	0,024	0,002	0,002	0,023
97/SC	0,037	0,029	0,006	0,021	0,026	0,024	0,007	0,009	0,038	0,023
99/CC	0,051	0,029	0,006	0,021	0,004	0,024	0,08	0,001	0,006	0,023
99/SC	0,041	0,029	0,000	0,021	0,016	0,024	0,000	0,004	0,008	0,023
211	> 2	0,029	1,705	0,021	0,292	0,024	0,214	0,532	0,039	0,023
212	0,037	0,029	0,014	0,021	0,021	0,024	0,037	0,083	0,05	0,023
213	0,029	0,029	0,007	0,021	0,019	0,024	0,017	0,046	0,052	0,035
214	0,048	0,029	0,008	0,021	0,024	0,024	0,036	0,004	0,060	0,035
215	0,038	0,029	0,000	0,021	0,024	0,024	0,028	0,029	0,015	0,035
216	0,039	0,029	0,014	0,021	0,000	0,024	0,042	0,029	0,032	0,035
217	0,048	0,029	0,012	0,021	0,019	0,024	0,03	0,022	0,025	0,035
218	0,038	0,029	0,017	0,021	0,02	0,024	0,025	0,029	0,038	0,035
219	0,022	0,029	0,021	0,021	0,018	0,024	0,021	0,01	0,021	0,035

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
220	0,016	0,029	0,002	0,021	0,017	0,024	0,028	0,026	0,029	0,035
221	0,03	0,029	0,007	0,021	0,023	0,024	0,012	0,018	0,013	0,035
222	0,045	0,029	0,001	0,021	0,026	0,024	0,012	0,014	0,039	0,035
223	0,068	0,029	0,005	0,021	0,025	0,024	0,046	0,051	0,039	0,035
224	1,217	0,029	0,463	0,021	0,005	0,024	-----	-----	-----	-----
225	0,049	0,029	0,005	0,021	0,035	0,024	0,033	0,055	0,024	0,035
226	0,077	0,029	0,05	0,021	0,013	0,024	0,017	0,037	0,028	0,035
227	0,016	0,029	0,011	0,021	0,023	0,024	0,025	0,038	0,041	0,035
228	0,014	0,029	0,013	0,021	0,024	0,024	0,070	0,03	0,017	0,035
229	0,026	0,029	0,007	0,021	0,02	0,024	0,060	0,005	0,010	0,035
230	0,056	0,029	0,005	0,021	0,029	0,024	0,030	0,003	0,010	0,035
231	0,04	0,029	0,006	0,021	0,023	0,024	0,030	0,041	0,028	0,035
232	0,048	0,029	0,004	0,021	0,001	0,024	0,042	0,000	0,010	0,035
233	0,043	0,029	0,000	0,021	0,017	0,024	0,005	0,02	0,040	0,035
234	0,05	0,029	0,011	0,021	0,017	0,024	0,010	0,012	0,02	0,035
235	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
236	0,035	0,029	0,008	0,021	0,022	0,024	0,010	0,027	0,02	0,035

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera		Hoja	Tallo	Raiz	
237	0,044	0,029	0,004	0,021	0,027	0,024	0,001	0,010	0,018	0,035
238	0,046	0,029	0,008	0,021	0,029	0,024	0,01	0,029	0,020	0,035
239	0,040	0,029	0,000	0,021	0,033	0,024	0,019	0,029	0,04	0,035
240	0,04	0,029	0,006	0,021	0,007	0,024	0,041	0,051	0,032	0,035
241	0,04	0,029	0,005	0,021	0,017	0,024	0,020	0,005	0,007	0,035
242	0,064	0,029	0,057	0,021	0,023	0,024	0,02	0,018	0,012	0,035
243	0,062	0,029	0,037	0,021	0,022	0,024	0,002	0,045	0,052	0,022
244	0,016	0,029	0,004	0,021	0,023	0,024	0,02	0,025	0,003	0,022
245	0,047	0,029	0,026	0,021	0,026	0,024	0,049	0,074	0,005	0,022
246	0,055	0,029	0,007	0,021	0,032	0,024	0,038	0,008	0,009	0,022
247	0,037	0,029	0,019	0,021	0,019	0,024	0,009	0,003	0,03	0,022
248	0,047	0,029	0,012	0,021	0,02	0,024	-----	-----	-----	-----
249	0,062	0,029	0,004	0,021	0,006	0,024	-----	-----	-----	-----
250	0,046	0,029	0,018	0,021	0,02	0,024	0,035	0,042	0,032	0,022
251	0,023	0,029	0,040	0,021	0,025	0,024	0,012	0,029	0,025	0,022
252	0,034	0,029	0,011	0,021	0,008	0,024	0,000	0,005	0,011	0,022
253	0,036	0,029	0,002	0,021	0,025	0,024	0,006	0,028	0,026	0,022

TABLA XIII (Continuación)

	Grupo A		Grupo B		Madera	
L1	0,048	0,029	0,034	0,021	0,001	0,024
L2	0,036	0,029	0,044	0,021	0,009	0,024
L3	0,029	0,029	0,008	0,021	0,003	0,024
L4	0,034	0,029	0,024	0,021	0,003	0,024
L5	0,032	0,029	0,014	0,021	0,007	0,024
L6	0,044	0,029	0,004	0,021	0,025	0,024

TABLA XIV.- MUESTREO DE CEPAS EN CASTILLA-LA MANCHA: IMPAR AL AZAR,  
PAR, EN CEPA CON SINTOMAS DE VIRUS

1	0,009	0,026	36	0,033	0,026
2	0,01	0,026	37	0,04	0,026
3	0,014	0,026	38	0,02	0,026
4	0,01	0,026	39	0,021	0,026
5	0,022	0,026	40	2,133	0,026
6	0,011	0,026	41	0,005	0,026
7	0,021	0,026	42	0,012	0,026
8	0,037	0,026	43	0,019	0,026
9	0,013	0,026	44	0,043	0,026
10	0,009	0,026	45	0,035	0,026
11	0,02	0,026	46	0,025	0,026
12	0,035	0,026	47	0,024	0,026
13	0,035	0,026	48	0,014	0,026
14	0,03	0,026	49	0,018	0,026
15	0,042	0,026	50	0,019	0,026
16	0,039	0,026	51	0,024	0,026
17	0,008	0,026	52	0,019	0,026
18	0,018	0,026	53	0,026	0,026
19	0,025	0,026	54	0,024	0,026
20	0,039	0,026	55	0,02	0,026
21	0,037	0,026	56	1,856	0,026
22	0,04	0,026	57	1,659	0,026
23	0,017	0,026	58	0,033	0,026
24	0,027	0,026	59	0,037	0,026
25	0,013	0,026	60	0,036	0,026
26	0,013	0,026	61	0,075	0,026
27	0,026	0,026	62	0,027	0,026
28	0,026	0,026	63	0,01	0,026
29	0,038	0,026	64	0,977	0,026
30	1,289	0,026	65	0,02	0,026
31	0,02	0,026	66	0,006	0,026
32	0,015	0,026	67	0,029	0,026
33	0,048	0,026	68	0,03	0,026
34	0,008	0,026	69	1,144	0,026
35	0,026	0,026	70	1,134	0,026

TABLA XIV (Continuación)

71	1,048	0,081	106	0,012	0,018
72	0,758	0,081	107	0,007	0,018
73	0,013	0,081	108	0,005	0,018
74	0,016	0,081	109	0,016	0,018
75	0,021	0,081	110	0,016	0,018
76	0,037	0,081	111	0,017	0,018
77	0,023	0,081	112	0,015	0,018
78	0,021	0,081	113	0,026	0,018
79	0,003	0,081	114	0,006	0,018
80	1,854	0,081	115	0,011	0,018
81	0,011	0,081	116	1,618	0,018
82	0,009	0,081	117	0,017	0,018
83	0,012	0,081	118	0,011	0,018
84	0,018	0,081	119	0,035	0,018
85	0,019	0,081	120	0,099	0,018
86	1,34	0,081	121	0,001	0,018
87	1,808	0,081	122	0,216	0,018
88	0,004	0,081	123	0,013	0,018
89	0,015	0,081	124	0,005	0,018
90	0,015	0,081	125	0,004	0,018
91	0,027	0,088	126	0,008	0,018
92	0,02	0,088	127	0,008	0,018
93	0,019	0,088	128	0,001	0,018
94	0,018	0,088	129	0,006	0,018
95	> 2	0,088	130	0,005	0,018
96	0,011	0,088	131	0,001	0,018
97	2,437	0,088	132	0,022	0,018
98	> 2	0,088	133	0,015	0,018
99	0,021	0,088	134	0,005	0,018
100	0,001	0,088	135	0,001	0,018
101	> 2	0,088	136	0,000	0,018
102	1,554	0,088	137	0,014	0,018
103	0,062	0,088	138	0,031	0,018
104	0,002	0,088	139	0,004	0,018
105	0,02	0,088	140	0,001	0,018

TABLA IXV (Continuación)

141	0,01	0,018	176	0,009	0,025
142	0,009	0,018	177	0,01	0,025
143	0,01	0,018	178	0,024	0,025
144	0,005	0,018	179	0,004	0,025
145	0,009	0,018	180	0,005	0,025
146	0,016	0,018	181	0,009	0,025
147	0,001	0,018	182	0,005	0,025
148	0,000	0,018	183	0,004	0,025
149	0,000	0,018	184	0,006	0,025
150	0,001	0,018	185	0,007	0,025
151	0,000	0,018	186	0,006	0,025
152	0,002	0,018	187	0,015	0,025
153	1,519	0,018	188	0,002	0,025
154	0,181	0,018	189	0,01	0,025
155	0,005	0,018	190	0,018	0,025
156	0,006	0,018	191	0,013	0,025
157	0,006	0,018	192	0,011	0,025
158	0,001	0,018	193	0,014	0,025
159	0,01	0,018	194	0,018	0,025
160	0,005	0,018	195	0,013	0,025
161	0,003	0,018	196	0,009	0,025
162	0,003	0,018	197	0,023	0,025
163	0,002	0,018	198	0,008	0,025
164	0,006	0,018	199	0,011	0,025
165	0,002	0,018	200	0,009	0,025
166	0,005	0,018	201	0,009	0,025
167	0,017	0,018	202	0,016	0,025
168	0,009	0,018	203	0,011	0,025
169	0,000	0,018	204	0,003	0,025
170	0,028	0,018	205	0,011	0,025
171	0,009	0,018	206	0,011	0,025
172	0,02	0,018	207	0,014	0,025
173	0,003	0,018	208	0,016	0,025
174	0,003	0,018	209	> 2	0,025
175	0,022	0,018	210	0,017	0,025

TABLA IXV (Continuación)

211	0,012	0,015	246	0,004	0,015
212	0,017	0,015	247	0,036	0,015
213	0,017	0,015	248	> 2	0,015
214	> 2	0,015	249	0,014	0,015
215	0,015	0,015	250	0,02	0,015
216	> 2	0,015	251	0,022	0,015
217	0,016	0,015	252	0,000	0,015
218	1,646	0,015	253	0,018	0,015
219	0,01	0,015	254	0,004	0,015
220	> 2	0,015	255	0,038	0,015
221	0,006	0,015	256	0,011	0,015
222	0,01	0,015	257	0,026	0,015
223	0,027	0,015	258	0,004	0,015
224	0,024	0,015	259	0,021	0,015
225	0,025	0,015	260	0,017	0,015
226	> 2	0,015	261	0,013	0,015
227	1,187	0,015	262	0,025	0,015
228	> 2	0,015	263	0,008	0,015
229	0,019	0,015	264	0,02	0,015
230	0,013	0,015	265	0,003	0,015
231	0,011	0,015	266	0,002	0,015
232	0,007	0,015	267	0,017	0,015
233	0,022	0,015	268	0,001	0,015
234	> 2	0,015	269	0,009	0,015
235	1,156	0,015	270	0,032	0,015
236	> 2	0,015	271	0,05	0,015
237	0,004	0,015	272	0,025	0,015
238	0,003	0,015	273	0,008	0,015
239	0,01	0,015	274	0,011	0,015
240	0,012	0,015	275	0,018	0,015
241	0,019	0,015	276	0,01	0,015
242	0,015	0,015	277	0,021	0,015
243	> 2	0,015	278	0,025	0,015
244	> 2	0,015	279	0,18	0,015
245	0,005	0,015	280	0,072	0,015

TABLA IXV (Continuación)

281	0,004	0,015
282	0,002	0,015
283	0,012	0,015
284	0,002	0,015
285	0,003	0,015
286	1,843	0,015
287	0,031	0,015
288	0,018	0,015
289	1,633	0,015
290	0,001	0,015
291	0,027	0,015
292	0,004	0,015
293	0,027	0,015
294	0,005	0,015
295	0,028	0,015
296	0,029	0,015
297	0,031	0,015
298	0,006	0,015
299	0,004	0,015
300	0,002	0,015

TABLA XV.- MUESTREO EN CASTILLA-LA MANCHA (DICIEMBRE 1990) EN CEPAS  
CON MADERA MUY DEFORMADA

1	0,014	0,024	0,011	0,021	0,065	0,032
2	0,066	0,024	0,005	0,021	0,063	0,032
3	0,016	0,024	0,005	0,021	0,066	0,032
4	0,026	0,024	0,002	0,021	0,08	0,032
5	0,022	0,024	0,031	0,021	0,051	0,032
6	0,007	0,024	0,018	0,021	0,065	0,032
7	0,035	0,024	0,022	0,021	0,047	0,032
8	0,043	0,024	0,009	0,021	0,056	0,032
9	0,006	0,024	0,033	0,021	0,061	0,032
10	0,038	0,024	0,004	0,021	0,064	0,032
11	0,048	0,024	0,01	0,021	0,063	0,032
12	0,054	0,024	0,002	0,021	0,053	0,032
13	0,023	0,024	0,003	0,021	0,038	0,032
14	0,031	0,024	0,001	0,021	0,049	0,032
15	0,051	0,024	0,006	0,021	0,043	0,032
16	0,042	0,024	0,008	0,021	0,068	0,032
17	0,053	0,024	0,033	0,021	0,033	0,032
18	0,049	0,024	0,023	0,021	0,050	0,032
19	0,051	0,024	0,009	0,021	0,065	0,032
20	0,051	0,024	0,001	0,021	0,053	0,032
21	0,054	0,024	0,022	0,021	0,058	0,032

TABLA XV (Continuación)

22	0,051	0,024	0,027	0,021	0,053	0,032
23	0,049	0,024	0,005	0,021	0,058	0,032
24	0,058	0,024	0,013	0,021	0,068	0,032
25	0,034	0,024	0,038	0,021	0,000	0,032
26	0,042	0,024	0,037	0,021	0,013	0,032
27	0,073	0,024	0,007	0,021	0,04	0,032
28	<b>0,975</b>	0,024	<b>1,389</b>	0,021	<b>1,46</b>	0,032
29	<b>0,506</b>	0,024	<b>0,243</b>	0,021	<b>3,07</b>	0,032
30	<b>0,734</b>	0,024	<b>2,963</b>	0,021	<b>2,865</b>	0,032
31	0,048	0,024	0,002	0,021	0,007	0,032
32	0,042	0,024	0,034	0,021	0,017	0,032
33	0,044	0,024	0,043	0,021	0,006	0,032
34	0,042	0,024	0,033	0,021	0,032	0,032
35	0,051	0,024	0,003	0,021	0,006	0,032
36	0,046	0,024	0,001	0,021	0,009	0,032
37	0,056	0,024	0,031	0,021	0,051	0,032
38	<b>1,179</b>	0,024	<b>2,783</b>	0,021	<b>2,551</b>	0,032
39	<b>1,185</b>	0,024	<b>0,022</b>	0,021	<b>0,003</b>	0,032
40	<b>0,574</b>	0,024	<b>0,143</b>	0,021	<b>0,737</b>	0,032

TABLA XV (Continuación)

<b>41</b>	<b>2,191</b>	0,024	<b>0,529</b>	0,021	<b>3,114</b>	0,032
42	0,054	0,024	0,043	0,021	0,0	0,032
43	0,044	0,024	0,018	0,021	0,035	0,032
44	0,039	0,024	0,029	0,021	0,017	0,032
45	0,053	0,024	0,027	0,021	0,008	0,032
46	0,003	0,018	0,004	0,021	0,043	0,017
47	0,023	0,018	0,032	0,021	0,013	0,017
48	0,022	0,018	0,039	0,021	0,036	0,017
49	0,016	0,018	0,049	0,021	0,046	0,017
50	0,013	0,018	0,006	0,021	0,04	0,017
51	0,016	0,018	0,024	0,021	0,036	0,017
52	0,006	0,018	0,034	0,021	0,026	0,017
<b>53</b>	<b>0,789</b>	0,018	<b>1,547</b>	0,021	0,052	0,017
54	0,039	0,018	0,016	0,021	0,04	0,017
55	0,024	0,018	0,07	0,021	0,043	0,017
<b>56</b>	<b>2,097</b>	0,018	<b>0,812</b>	0,021	<b>1,21</b>	0,017
57	0,049	0,018	0,02	0,021	0,047	0,017
58	0,001	0,018	0,057	0,021	0,04	0,017
59	0,008	0,018	0,027	0,021	0,044	0,017

TABLA XV (Continuación)

60	0,001	0,018	0,064	0,021	0,036	0,017
61	0,016	0,018	0,051	0,021	0,044	0,017
62	0,008	0,018	0,059	0,021	0,036	0,017
63	0,016	0,018	0,039	0,021	0,04	0,017
<b>64</b>	<b>0,515</b>	0,018	<b>0,684</b>	0,021	<b>0,494</b>	0,017
65	0,025	0,018	0,064	0,021	0,033	0,017
66	0,001	0,018	0,051	0,021	0,043	0,017
67	0,004	0,018	0,013	0,021	0,045	0,017
68	0,018	0,018	0,066	0,021	0,039	0,017
69	0,018	0,018	0,044	0,021	0,036	0,017
70	0,015	0,018	0,049	0,021	0,027	0,017
71	0,011	0,018	0,029	0,021	0,046	0,017
72	0,01	0,018	0,047	0,021	0,044	0,017
73	0,021	0,018	0,051	0,021	0,032	0,017
74	0,011	0,018	0,047	0,021	0,036	0,017
75	0,011	0,018	0,033	0,021	0,045	0,017
76	0,014	0,018	0,062	0,021	0,036	0,017
77	0,016	0,018	0,047	0,021	0,033	0,017
78	<b>1,577</b>	0,018	<b>1,533</b>	0,021	<b>1,143</b>	0,017

TABLA XV (Continuación)

79	1,007	0,018	1,412	0,021	2,067	0,017
80	1,648	0,018	1,75	0,021	2,152	0,017
81	1,764	0,018	1,39	0,021	2,223	0,017
82	0,598	0,018	1,438	0,021	0,802	0,017
83	0,032	0,018	0,024	0,021	0,043	0,017
84	0,016	0,018	0,035	0,021	0,036	0,017
85	0,027	0,018	0,033	0,021	0,033	0,017
86	0,029	0,018	0,007	0,021	0,032	0,017
87	0,018	0,018	0,046	0,021	0,033	0,017
88	0,026	0,018	0,035	0,021	0,041	0,017
89	0,031	0,018	0,055	0,021	0,042	0,017
90	0,016	0,018	0,043	0,021	0,027	0,017
91	0,004	0,015	0,008	0,019	0,005	0,023
92	0,005	0,015	0,006	0,019	0,043	0,023
93	0,022	0,015	0,001	0,019	0,046	0,023
94	0,033	0,015	0,031	0,019	0,024	0,017
95	0,003	0,015	0,033	0,019	0,021	0,017
96	0,023	0,015	0,01	0,019	0,049	0,023
97	0,006	0,015	0,009	0,019	0,056	0,023

TABLA XV (Continuación)

98	0,026	0,015	----	----	----	----
99	0,001	0,015	0,019	0,019	0,006	0,023
100	0,014	0,015	0,018	0,019	0,049	0,023
101	0,000	0,015	0,019	0,019	0,045	0,023
102	1,891	0,015	2,455	0,019	1,397	0,023
103	0,112	0,015	0,016	0,019	0,019	0,023
104	0,015	0,015	0,028	0,019	0,05	0,023
105	0,022	0,015	0,003	0,019	0,046	0,023
106	0,012	0,015	0,03	0,019	0,043	0,023
107	0,018	0,015	0,025	0,019	0,016	0,023
108	0,000	0,015	0,031	0,019	0,045	0,023
109	0,015	0,015	0,015	0,019	0,042	0,023
110	0,035	0,015	0,022	0,019	0,033	0,023
111	0,013	0,015	0,028	0,019	0,034	0,023
112	0,005	0,015	0,032	0,019	0,039	0,023
113	0,002	0,015	0,004	0,019	0,041	0,023
114	0,018	0,015	0,000	0,019	0,035	0,023
115	0,002	0,015	0,029	0,019	0,033	0,023
116	0,001	0,015	0,001	0,019	0,038	0,023

TABLA XI (Continuación)

117	0,001	0,015	0,013	0,019	0,049	0,023
118	0,003	0,015	0,004	0,019	0,034	0,023
119	0,006	0,015	0,023	0,019	0,035	0,023
120	0,001	0,015	0,004	0,019	0,032	0,023
121	0,005	0,015	0,011	0,019	0,047	0,023
122	0,002	0,015	0,011	0,019	0,043	0,023
123	0,009	0,015	0,023	0,019	0,032	0,023