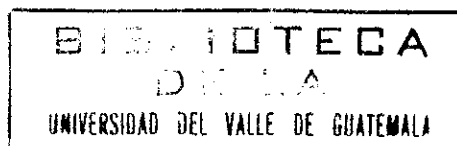


**UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA**  
**Facultad de Ciencias y Humanidades**  
**Departamento de Bioquímica**



**DETECCION DEL VIRUS DE LA TRISTEZA  
DE LOS CITRICOS EN GUATEMALA**

**KARLA IOVANNA REYES AVELAR DE ACEVEDO**



**Guatemala**  
**1994**

**DETECCION DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE  
LOS CITRICOS EN GUATEMALA**

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

Departamento de Bioquímica



**DETECCION DEL VIRUS DE LA TRISTEZA DE  
LOS CITRICOS EN GUATEMALA**

**KARLA IOVANNA REYES AVELAR DE ACEVEDO**

Trabajo de investigación presentado para optar  
al grado académico de Licenciatura en Bioquímica

Guatemala

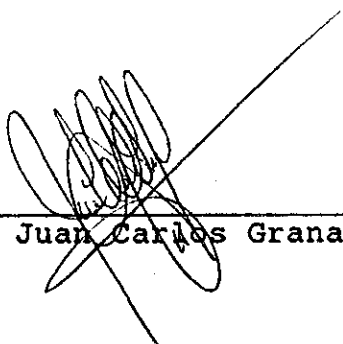
1994

Jo. Bo. :

(f) *Margarita P. de Mata*  
Licda. Margarita Palmieri de Mata  
Asesora

Tribunal :

(f) *Margarita P. de Mata*  
Licda. Margarita Palmieri de Mata

(f)   
Ing. Juan Carlos Granados

(f)   
Lic. Ronaldo Pérez

Fecha de aprobación: 17 de octubre de 1994

A STEPHANIA

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Stephen M. Garnsey y a la Dra. Carmen Henderson del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) por haber donado el antisuero utilizado en la detección del VTC y colaborar con un seguimiento de control de calidad durante el trabajo; al Ingeniero Juan Carlos Granados y a los técnicos bajo su supervisión, por la colecta de muestras para análisis; y a la Universidad del Valle de Guatemala por proporcionar las instalaciones, laboratorios y los demás reactivos para llevar a cabo las pruebas. También quiero agradecer al Dr. Ricardo Luján por permitirme el uso del lector de placas, y a Eduviges y Bernarda por dejarme usar el laboratorio en todo momento.

Además, quiero agradecer a mis amigos, principalmente a Carlos, Silvia y Dora por su apoyo y compañerismo; a Rony por la aportación de ideas en el manejo de datos que me simplificaron problemas y trabajo; y especialmente a Margarita, por la asesoría brindada, por la aportación de ideas y por la experiencia humana que tuvimos oportunidad de compartir.

Asimismo, agradezco infinitamente a mi familia, a Julio y Doris, mis padres, por darme apoyo y ánimos para continuar y por creer siempre en mí, gracias también por las pequeñas y grandes ayudas que necesité para terminar este trabajo.

## RESUMEN

El presente trabajo constituye el primer estudio sistemático para detectar la enfermedad conocida como 'Tristeza de los Cítricos', causada por un virus que lleva el mismo nombre: Virus de la Tristeza de los Cítricos (VTC). Dada la relación de dependencia mutua, en este trabajo se utilizó el término 'VTC' para denotar al virus y 'Tristeza' para denotar a la enfermedad.

Conforman el estudio realizado un total de 2388 árboles de cítricos de 111 fincas localizadas en los departamentos de Izabal, Zacapa, Chiquimula, Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Guatemala, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango, San Marcos, Alta Verapaz, Baja Verapaz y El Progreso.

Los factores que se tomaron en consideración son: 1) la especie del cítrico, 2) la variedad del portainjerto o patrón de cultivo, y 3) la serología de la enfermedad. Además se incluyeron otros factores como la edad de los árboles, la condición sintomática de los árboles y la presencia de áfidos, estos dos últimos se estudiaron en forma descriptiva.

Los resultados que arroja este estudio revelan que sí hay presencia del Virus de la Tristeza de los Cítricos en Guatemala, tanto cepas severas como moderadas y los cultivos con mayor incidencia del mismo son calamondín y mandarinas. Asimismo, la propagación de la enfermedad de la Tristeza de los Cítricos en Guatemala no se acopla al patrón observado en Sur y Centroamérica, por lo que se considera que todavía existe la posibilidad de evitar la dispersión de la enfermedad.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN	vii
I. INTRODUCCION	1
II. IMPORTANCIA	5
III. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	7
IV. ANTECEDENTES	9
A. CITRICULTURA EN GUATEMALA	9
1. Situación actual	9
2. Variedades de cítricos	13
a. Naranja dulce ( <i>C. sinensis</i> )	13
b. Mandarinas ( <i>C. reticulata</i> )	15
c. Limas ácidas ( <i>C. aurantifolia</i> )	16
d. Limones ( <i>C. limon</i> )	17
e. Toronjas ( <i>C. paradisi</i> )	17
f. Pomelos ( <i>C. grandis</i> )	17
g. Tangelos ( <i>C. reticulata</i> x <i>C. paradisi</i> )	17
h. Ornamentales (híbridos)	17
3. Patrones o portainjertos de cítricos	18
a. Portainjertos de naranjas, mandarinas, toronjas, pomelos y tangelos	18
b. Portainjertos de limas ácidas y limones	20
4. Variedades y patrones de mayor uso	21
B. ORIGEN Y PROPAGACION DE LA TRISTEZA DE LOS CITRICOS	22
1. Formas de propagación	25
2. Patrones susceptibles a VTC	27

	3. Estudios anteriores en Guatemala	27
	C. VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CITRICOS (VTC)	29
	1. Características	29
	2. Formas de la enfermedad	30
	3. Métodos de detección	32
	D. METODO SEROLOGICO DE DETECCION ELISA	32
V.	METODOLOGIA	37
VI.	RESULTADOS	41
VII.	DISCUSION	59
VIII.	CONCLUSIONES	71
IX.	RECOMENDACIONES	73
X.	LITERATURA UTILIZADA	77
	 APENDICES	
A.	METODOLOGIA COMPLETA UTILIZADA	81
B.	DATOS BRUTOS DE LAS PLACAS DE ELISA	81
C.	CODIGOS USADOS PARA LA IDENTIFICACION DE MUESTRAS	83
D.	LISTADO DE DATOS BRUTOS GENERALES	86
E.	LISTADO DE MUESTRAS SEROLOGICAMENTE POSITIVAS A TRISTEZA	113
F.	FRECUENCIAS DE DATOS BRUTOS	115

## LISTADO DE FIGURAS

FIGURA	Página
1. Representación de ELISA's de doble sandwich, directo (DAS) e indirecto (DAS-I)	35
2. Localización geográfica de los departamentos del muestreo en Guatemala. 1993-1994	37
3. Localización de los focos de VTC en plantaciones de cítricos en Guatemala. 1994	41
4. Especies de cítricos colectados	43
5. Variedades de patrones	44
6. Incidencia de VTC por especie de cítrico	45
7. Incidencia de VTC por variedad de patrón	46
8. Presencia de áfidos por especie de cítrico	46
9. Condiciones visuales de árboles por especie de cítrico	47
10. Presencia de áfidos por variedad de patrón	48
11. Condiciones visuales de árboles por variedad de patrón	48
12. Incidencia de VTC respecto a presencia de áfidos	49
13. Incidencia de VTC respecto a condiciones visuales de los árboles	51
14. Presencia de áfidos respecto a condiciones visuales de los árboles	52
15. Patrones más usados para cultivo de naranjas	53
16. Patrones más usados para cultivo de mandarinas	53
17. Patrones más usados para cultivo de toronjas, tangelos y otros	54
18. Patrones más usados para cultivo de limas ácidas	54

19.	Edades de los árboles	56
20.	Incidencia de VTC según edad	56
21.	Presencia de áfidos según edad	57
22.	Condiciones visuales de árboles por edad	58

## LISTADO DE CUADROS

CUADRO	Página
1. Superficie plantada y producción de cítricos. Guatemala, 1990	12
2. Productividad de los cítricos (rendimiento/hectárea, TM/Ha)	12
3. Especies de cítricos existentes en Guatemala	21
4. Patrones de injerto para limones y limas ácidas utilizado en Guatemala	22
5. Patrones de injerto para naranja dulce y mandarina utilizados en Guatemala	22
6. Susceptibilidad de los patrones de cítricos a la enfermedad de la Tristeza de los Cítricos	27
7. Distribución de las poblaciones del muestreo	38
8. Datos generales de los árboles serológicamente positivos al VTC en las regiones del muestreo en Guatemala	42
9. Puntos de corte de las placas de ELISA	91
10. Frecuencias generales de especie de cítrico por departamento	115
11. Frecuencias de incidencia de VTC por especie de cítrico por departamento	115
12. Frecuencias de presencia de áfidos por cítrico por departamento	116
13. Frecuencias de condiciones visuales de los árboles por cítrico por departamento	116
14. Frecuencias generales de variedades de portainjerto por departamento	117
15. Frecuencias de incidencia de VTC por variedad de portainjerto por departamento	117

16.	Frecuencias de presencia de áfidos por portainjerto por departamento	118
17.	Frecuencias de condiciones visuales de los árboles por portainjerto por departamento	118
18.	Frecuencias de incidencia de VTC, presencia de áfidos y condiciones visuales de los árboles por edades de los árboles	119
19.	Frecuencias de uso de patrones por especie de cítrico	120

## I. INTRODUCCION

Por la variedad de regiones con microclimas específicos que existen en Guatemala, la producción de cítricos se realiza en todo el país desde hace años, tanto a nivel industrial como individual, principalmente en la región suroriental del país.

La necesidad de crear cultivos libres de enfermedades, de óptimas condiciones fitosanitarias, de superior productividad y calidad de fruta, ha llevado a los citricultores en Guatemala al igual que en otros países a importar material vegetativo con estas supuestas cualidades.

Tristeza de los Cítricos, este es el nombre de la enfermedad viral que mayores daños ha causado a las plantaciones de cítricos alrededor del mundo, y es el áfido Toxoptera citricidus el principal de los vectores que disemina dicha enfermedad. La Tristeza ha provocado pérdidas de cosechas de cítricos y también ha provocado grandes pérdidas económicas a los productores.

La enfermedad de la Tristeza de los Cítricos, se caracteriza en los peores casos por un colapso rápido del árbol, marchitándose y muriendo a las pocas semanas de aparecer los síntomas. En casos benignos, el debilitamiento del árbol es más lento y suelen aparecer acanaladuras en el tallo y un clareamiento en las venas de las hojas. Esta enfermedad provoca la necesidad de detectar a los árboles enfermos para erradicarlos y evitar su continua propagación, así como a los posibles vectores. Puede detectarse por la técnica de ELISA, muy confiable y de las menos costosas actualmente.

La severidad de la enfermedad de la Tristeza de los Cítricos depende del cítrico en cuestión. Hay variedades y patrones que son resistentes o tolerantes a esta enfermedad, en estos casos el problema es mínimo. Los árboles que crecen sobre patrones o variedades susceptibles a la Tristeza son los que muestran los síntomas que al final los conducen a la muerte.

El naranjo agrio ha sido el portainjerto con las cualidades de mayor resistencia tanto para las enfermedades psorosis y gomosis, de las principales en cítricos, como para una amplia gama de otras enfermedades, razón por la cual su uso se hizo extensivo. Sin embargo, este portainjerto es en extremo susceptible a la enfermedad de la Tristeza y ésta ha logrado extenderse desde Asia hasta Sudamérica, devastando grandes plantaciones de cítricos y causando pérdidas económicas y de divisas a productores y países exportadores.

En América también se ha manifestado en forma devastadora. El avance de la enfermedad ha sido lento pero continuo. La Tristeza de los Cítricos ha migrado, junto con su vector *T. citricidus*, desde Sudamérica y ya está presente en Centroamérica en los países de Panamá, Costa Rica, Nicaragua, Honduras y probablemente en Belice; en El Salvador se iniciaron estudios hasta hace muy poco. En Guatemala no se habían hecho estudios sistemáticos con resultados significativos que demuestren la presencia de la enfermedad en el país.

El presente trabajo pretende demostrar que la enfermedad de la Tristeza de los Cítricos está presente en Guatemala. Dado que la determinación de la presencia de Tristeza en Honduras y Belice es

muy reciente y que de El Salvador no se tienen resultados finales que demuestren la presencia e índice de incidencia de esta enfermedad, se intenta dar mayor énfasis a las regiones guatemaltecas fronterizas con los países de El Salvador y Honduras como plano para determinar si la Tristeza ya está presente en Guatemala; en dicho caso, servirá para alertar a México y Estados Unidos, países que tienen producciones citrícolas de gran importancia económica.



## II. IMPORTANCIA

En Guatemala, la exportación de cítricos es mínima y no logra generar divisas significativas al país; sin embargo, la producción interna es suficiente como para ahorrarse de la importación de este producto al mercado, y a nivel nutricional varía la dieta y provee vitamina C a los consumidores.

El comercio con cítricos, al igual que con cualquier otro producto, exige mejoramiento de calidad para lograr mayores ganancias, por lo tanto, es necesaria la producción de cítricos libres de enfermedades para obtener frutos de calidad.

Para que exista comercio internacional de especies vegetales es de suma importancia que todo material sea certificado, libre de enfermedades o que permanezca dentro de límites existentes al respecto.

La toma de muestras se realizó en plantaciones comerciales e individuales de cítricos en las regiones del suroriente, suroccidente y norte-centro del país. La región del oriente denota especial interés en el sentido que los departamentos de Izabal, Zacapa, Chiquimula y Jutiapa son los que colindan con las fronteras de El Salvador, Honduras y Belice, por lo que puede determinarse si a través de ellos existe un frente de introducción de Tristeza al país. El interés en los departamentos de Escuintla y Santa Rosa radica principalmente en que son éstos donde se encuentran los campos citrícolas de mayor importancia a nivel comercial. Asimismo, en El Progreso y Escuintla donde haya plantaciones del cultivo de calamondín, cítrico ornamental que se ha estado exportando desde hace algunos años.



### III. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

Se plantea como hipótesis:

1. VERIFICAR LA PRESENCIA DE LA ENFERMEDAD DE LA TRISTEZA DE LOS CITRICOS EN GUATEMALA, TANTO EN SU FORMA MODERADA COMO SEVERA.

También se plantean las siguientes asociaciones:

2. La incidencia del VTC detectada por ELISA no depende de la especie de cítrico.
3. La incidencia del VTC detectada por ELISA no depende de la variedad del patrón de injerto.
4. La incidencia del VTC detectada por ELISA no depende de la edad del árbol.
5. La incidencia del VTC detectada por ELISA no depende de la presencia de poblaciones de áfidos.
6. La incidencia de síntomas visuales externos de Tristeza no se relaciona con la presencia del VTC.

Este trabajo pretende como objetivos:

1. Verificar la presencia de la enfermedad de la Tristeza de los Cítricos en los campos citrícolas del país.
2. Adaptar el método internacional de detección del VTC a las condiciones regentes en Guatemala.
3. Si hay presencia de Tristeza, entonces determinar en forma específica las plantaciones y/o árboles infectados para proporcionarles el tratamiento de saneamiento respectivo.

4. Lograr el establecimiento de cuando menos un laboratorio y capacitar al personal necesario para realizar las pruebas de laboratorio pertinentes para la determinación de la enfermedad.
5. Sugerir políticas de control y erradicación de la enfermedad a los encargados de control fitosanitario en el país.

## IV. ANTECEDENTES

### A. CITRICULTURA EN GUATEMALA

#### 1. SITUACION ACTUAL

Según Zapparolli (1991), no hay información exacta relacionada con el cultivo de los cítricos en Guatemala, principalmente debido a que las plantaciones están dispersas y muchas veces en estado semisilvestre.

Según Salguero (1992) la importancia socioeconómica de la industria cítrica en Guatemala radica en cuatro aspectos: 1) es una fuente generadora de empleo desde la siembra hasta la comercialización, 2) ayuda a mejorar la dieta alimenticia de los consumidores, 3) contribuye al aprovechamiento racional de los recursos naturales del país, y 4) los cítricos constituyen una alternativa viable de diversificación agrícola.

La naranja (Citrus sinensis) es una planta que puede adaptarse a diversidad de climas y condiciones, siendo la mejor de éstos el clima sub-tropical (Zapparolli, 1991).

Bajo estas condiciones se obtiene una cosecha estacional en invierno, fruta con buen color externo, jugo de alta calidad con buen contenido de sólidos solubles totales (SST) expresados en grados Brix y un buen balance SST/ácidos (Zapparolli, 1991).

En Guatemala, las condiciones son de clima tropical (Zapparolli, 1991). Un hecho importante que hay que tener presente es que en Guatemala se cultivan en gran escala y conocen por limones a las limas ácidas (Citrus aurantifolia), aunque también se cultiva en muy baja escala al limón verdadero (Citrus limon).

La mayor parte de la producción cítrica se utiliza para el consumo interno como fruta fresca. El nivel de exportación es mínimo y se restringe a El Salvador, Honduras y el sur de México; no obstante, se trabaja para buscar otros mercados mediante la industrialización (Salguero, 1992).

El cultivo de los cítricos se inició en Guatemala desde los tiempos de la Colonia. En el año 1966, el Ministerio de Agricultura implementó el Proyecto de Fomento del Cultivo de los Cítricos. En los años 70's la Asociación Nacional del Café, ANACAFE, implementó un programa de diversificación agropecuaria para las zonas cafetaleras, dentro del cual se incluían a los cítricos como una de las alternativas. A partir de 1980, la tendencia de las plantaciones de cítricos ha crecido de forma muy lenta ya que se ha ido definiendo en base a la demanda del mercado interno y la de los países a los que exporta (Zaparolli, 1991).

Según Zaparolli (1991), bajo las condiciones de clima tropical que existe en Guatemala, el cultivo de naranja presenta una serie de problemas muy ligados al clima, dentro de los principales:

- a. Cosecha repartida en mayor número de meses por floración más prolongada. Constituye una ventaja para la agro-industria al ampliarse su período de funcionamiento, pero también se cosecha fruta con diferentes grados de maduración.
- b. La falta de cierto grado de frío no permite la coloración natural externa de la fruta, aún cuando interiormente ha alcanzado el grado comercial de madurez adecuado.
- c. Las naranjas que se desean destinar para la producción de jugos, poseen un contenido bajo de SST.

d. El color del jugo de naranjas de las zonas bajas, tiende a ser muy pálido.

Por lo tanto, se recomienda sembrar naranjas en regiones con altitudes de 500 a 1500 msnm., y con las condiciones de humedad y temperaturas adecuadas (Zaparolli, 1991). En el caso de las mandarinas, se encuentran los mismos problemas que en naranjas, principalmente, persistencia del color verde de la cáscara en fruta internamente madura (Zaparolli, 1991).

El naranjo agrio (*C. aurantium*) fue el patrón de uso principal para naranja dulce durante varias décadas en diversos países por ser resistente a la gomosis causada por *Phytophthora* sp. Aún existen viveros particulares que continúan usando este patrón, esta es una razón por la cual Guatemala también presenta las condiciones para la diseminación de la Tristeza (Salguero, 1992; y Flores, 1993).

La producción ha aumentado de 1978 a 1990 debido al incremento de área sembrada y al mejoramiento de las técnicas de producción. En Guatemala hay cerca de 5850 hectáreas (Ha) plantadas en un 85% con naranja dulce, 5% de limón criollo, 6% de limón persa, un 3% con mandarina y el resto de otros cítricos como toronjas, tangelos, limas dulces, etc. (Salguero, 1992).

La recopilación más reciente con información relacionada con los cítricos en Guatemala fue hecha en 1990 por el Proyecto Desarrollo de la Fruticultura del Programa MOSCAMED, los datos se muestran en los siguientes cuadros (Zaparolli, 1991).

CUADRO 1. Superficie plantada y Producción de Cítricos.  
Guatemala, 1990.

CULTIVO	SUPERF. PLANTADA (Has)	SUPERF. PROD. (Has)	PROD. 1989-90 (TM)	DEPARTAMENTOS PRINCIPALES (AREA SEMBRADA)
NARANJA DULCE	5000	4000	74282	Escuintla (43%) Santa Rosa (22%) Quetzaltenango (12%) Suchitepéquez (8%) Izabal (8%)
LIMON CRIOLLO	300	278	7834	El Progreso (60%) Escuintla (32%)
LIMON PERSA	350	267	4575	Escuintla (35%) Zacapa (19%) San Marcos (12%) Quetzaltenango (14%) Retalhuleu (8%) Suchitepéquez (8%)
MANDARINA	200	182	2264	Santa Rosa (47%) Retalhuleu (25%) Quetzaltenango (14%)
TOTAL	5850	4727	88955	

FUENTE: Programa MOSCAMED, Proyecto Desarrollo de la Fruticultura (tomado de Zaparolli, 1991, p 8).

CUADRO 2. Productividad de los cítricos (rendimiento/hectárea, TM/Ha).

CULTIVO	COSECHA 1978/79			COSECHA 1989/90		
	PROD. (TM)	SUP. PROD. (Has)	PRODUC-TIVIDAD	PROD. (TM)	SUP. PROD. (Has)	PRODUC-TIVIDAD
N. DULCE	30666	2743	11.18	74282	4000	18.57
LIMONES	4830	445	10.85	12409	545	22.77
- Persa				7834	278	28.18
- Criollo				4575	267	17.13
MANDARINA				2264	182	12.44
TOTAL	35496	3188	11.13	88955	4727	18.82

FUENTE: Censo Agropecuario Nacional, 1979  
Programa MOSCAMED, Proyecto Desarrollo de la Fruticultura (tomado de Zaparolli, 1991, p 10).

## 2. VARIEDADES DE CITRICOS

Hay gran variedad de cítricos: naranjas, limones, mandarinas, limas, toronjas, pomelos y sus híbridos. Todos estos frutos son muy apreciados para su consumo, ya sea como fruta fresca, en jugos, mermeladas, como condimentos, aceites esenciales para la industria de bebidas o deshidratado con fines de exportación (Zaparolli, 1991).

### a. Naranja dulce (*Citrus sinensis*)

Información recabada por Zaparolli (1991) señala que en Guatemala se producen alrededor de 18 variedades de naranja dulce, siendo éstas las siguientes:

- |                                     |                  |
|-------------------------------------|------------------|
| 1. Valencia (10 selecciones)        | 10. Person Brown |
| 2. Washington (4 selecciones)       | 11. Ruby Red     |
| 3. Jaffa (2 selecciones)            | 12. Westin       |
| 4. Hamlin (2 selecciones)           | 13. Lue Gin Gon  |
| 5. Victoria (pulpa blanca, criolla) | 14. Glen Summer  |
| 6. Rabinal (criolla, 2 selecciones) | 15. Shamouti     |
| 7. Valencia-Cuyuta                  | 16. Pineapple    |
| 8. Coloteca (criolla)               | 17. Carter Navel |
| 9. Momosteca (criolla)              | 18. Ruby Blood   |

De estas variedades, sólo cinco se producen a nivel comercial:

#### a.1. Valencia (selecciones No. 4 y No. 5)

Esta variedad es la más cultivada en Guatemala, tanto por ser más tardía como por su capacidad de adaptación a las diversas condiciones del país, que abarcan desde las zonas costeras hasta las regiones de clima subtropical. Su período de madurez va de octubre al mes de abril, en algunas regiones la producción máxima

va de noviembre a enero.

Este árbol de porte erecto es de gran talla y vigoroso. Sus frutos son de forma esférica, de tamaño mediano, su cáscara es lisa y bien coloreada, la pulpa es jugosa y acidulada, y prácticamente carece de semillas. Se consume principalmente como fruta fresca y procesado como jugo.

#### a.2. Washington

Se diferencia de las demás por dos características bien definidas: 1) presencia en el seno del ápice de un fruto pequeño y rudimentario llamado "navel" (ombligo), y 2) aspermia muy acusada (no produce semillas), debido a la ausencia del polen funcional.

Estos árboles son de talla y vigor mediano y se ven perjudicados por los climas calurosos y secos. Sus frutos son grandes, de forma esférica más o menos alargada terminando en navel, la cáscara es medianamente gruesa punteada y de buen color, es moderadamente jugosa, crujiente y sin semillas. Se consume principalmente para jugo.

#### a.3. Jaffa

Esta variedad no tiene mucha demanda en Guatemala. El árbol es moderadamente productivo. El fruto suele ser demasiado grande, de cáscara gruesa y rugosa y de escaso jugo. Se consume principalmente como fruta fresca.

#### a.4. Hamlin

Esta variedad es precoz, vigorosa, muy productiva y poco sensible al frío. El fruto es de cáscara lisa, bien coloreada y con pocas semillas.

#### a.5. Victoria

Se cataloga como "criolla" y se conoce comúnmente como "de azúcar". Es un tipo de naranja blanca que ha sido reproducida por semilla durante mucho tiempo. El árbol es vigoroso, productivo y espinoso. Los frutos tienen semillas y son bastante carnosos.

#### b. Mandarinas (Citrus reticulata)

Básicamente en Guatemala se cultivan seis variedades:

1. Dancy
2. Satsuma
3. King
4. Ponkan
5. Freemont
6. Mediterránea

##### b.1. Dancy

Es la variedad que tiene mayor demanda, principalmente por su resistencia al transporte. Se cultiva en regiones cálidas y húmedas y su maduración va de noviembre a enero.

El árbol es vigoroso y de gran talla. El fruto es de forma aplanada o piriforme, de tamaño variable, la cáscara puede llegar a ser de color rojo intenso, adherida al endocarpio. Las semillas son escasas y pequeñas.

##### b.2. Satsuma

Se caracteriza porque la cáscara no colorea completamente al madurar el fruto. Es muy productiva y madura de octubre a febrero de acuerdo a la zona.

Los árboles son de tamaño mediano, resistentes al frío y produce flores muy grandes. El fruto tiene cáscara rugosa, la pulpa es jugosa, de color naranja y no tiene semillas.

### b.3. King

Esta variedad se adapta bien a los climas subtropicales y tropicales debido a que sus frutos necesitan de mucho calor para que sean de buena calidad, por esto mismo, su maduración es tardía.

Los frutos son relativamente grandes, con cáscara rugosa y gruesa, con un número variable de semillas.

## c. Limas ácidas (Citrus aurantifolia)

En Guatemala se les conoce como limones y a nivel de comercio siguen en importancia a las naranjas dulces, los más trabajados son dos:

### c.1. Criollo

Se cultiva principalmente en las zonas más cálidas con riego y se usa en la producción de aceites esenciales, deshidratados y como sustituto del limón en las comidas y bebidas. Los frutos son muy pequeños, globosos o elípticos, de cáscara delgada, lisa y adherida al endocarpio, de color verde amarillento. La pulpa es tierna, jugosa, muy ácida y con un aroma muy característico.

### c.2. Persa

Los frutos son pequeños, ovoides a elípticos, con cáscara delgada, lisa y adherida al endocarpio, de color amarillo limón pálido y casi siempre sin semillas. La pulpa es menos ácida y perfumada que el criollo.

#### d. Limones (Citrus limon)

En Guatemala no se producen comercialmente, pero se tienen producciones muy pequeñas de las variedades:

1. Eureka
2. Lisboa

#### e. Toronjas (Citrus paradisi)

La demanda de toronja es poca en Guatemala, no obstante, se cuenta con jardines clonales con las variedades:

1. Shambar (pulpa roja)
2. Frost Marsh (pulpa blanca)
3. Red Blush (pulpa roja)
4. Reed (pulpa roja)
5. Thompson (pulpa roja)

#### f. Pomelos (Citrus grandis)

En Guatemala no existen variedades, únicamente se tienen dos tipos basados en la coloración de su pulpa: 1) rosados, y 2) blancos.

#### g. Tangelos (híbrido C. reticulata x C. paradisi) (Pomelo Duncan x Mandarina Dancy)

De las cinco variedades que se han trabajado en Guatemala, sólo la variedad Mineola logra reunir las condiciones de calidad (dulzura) comercial, las otras (Orlando, Nova, Semi-Nova, Wekiva) ya no se trabajan.

#### h. Ornamentales (híbridos)

Dentro de los híbridos que se están utilizando con fines ornamentales, sobresalen:

1. Calamondin (C. reticulata var. austera x Fortunella sp.)

2. Kunquat, que en otros países tiene uso industrial para la producción de jaleas y mermeladas
3. Limequat (C. aurantifolia x Fortunella sp.)

### 3. PATRONES O PORTAINJERTOS DE CITRICOS

Los cítricos a nivel comercial se propagan principalmente en forma asexual por medio de injerto. Al contrario, la obtención de patrones se realiza por semilla (Flores, 1993).

La aparición de podredumbre del pie o gomosis, causada por Phytophthora sp., hizo que se suspendiera el cultivo de los cítricos a partir de semilla y ha obligado al injerto de las variedades productoras sobre patrones tolerantes a la enfermedad (Flores, 1993).

El naranjo agrio (Citrus aurantium) fue el patrón favorito durante decenios hasta que se determinó su susceptibilidad hacia la Tristeza (Zaparolli, 1991). El VTC ha promovido la eliminación del naranjo agrio como portainjerto, lo cual representa un pérdida lamentable, ya que se trata del mejor patrón para muchas variedades de Citrus sp. que hoy deben conducirse en patrones alternativos (Marcó, 1991). Si bien estos patrones transfieren resistencia a la enfermedad provocada por el VTC, no llegan a producir una calidad de fruta comparable a la obtenida utilizando el naranjo agrio como patrón (Marcó, 1991).

#### a. Portainjertos de naranjas, mandarinas, toronjas, pomelos y tangelos

El naranjo agrio (C. aurantium), Citranges y C. taiwanica son los patrones que más se utilizan para estos cítricos. Se han

evaluado otros patrones como mandarina Cleopatra y lima Rangpur, pero han presentado una serie de limitantes que no han permitido su adopción (Zaparolli, 1991).

Para plantaciones de naranjas se está reemplazando al naranjo agrio como patrón por otros portainjertos como C. taiwanica y Citranges (troyer y carrizo) (Salguero, 1992).

a.1. Naranjo agrio, Citrus aurantium

Presenta gran afinidad con casi todas las variedades. Es muy resistente a la gomosis (Phytophthora sp.) y armilaria, no presenta problemas con exocortis y es muy susceptible a VTC y a la roña (Elsinoe fawcetti). Las variedades que se injertan sobre él rinden frutos de buena calidad y buen tamaño.

a.2. Citranges (Poncirus trifoliata x Citrus sinensis)

Los Citranges (troyer y carrizo) se caracterizan por su alta susceptibilidad a exocortis, al llegar a convivir con esta enfermedad causan una disminución en el porte de las variedades injertadas sobre él. Su importancia es que son tolerantes a la gomosis y al VTC. El carrizo es además, tolerante a nemátodos del género Radopholus.

a.3. Citrus taiwanica

Es resistente a gomosis, tolerante a VTC y armilaria, y muy tolerante a exocortis. Las variedades que se injertan sobre este patrón producen frutos de buena calidad y de tamaño aceptable (Flores, 1993).

a.4. Mandarina Cleopatra, Citrus reshni Hort. ex tang.

Presenta problemas de gomosis en la herida donde se realiza el injerto y por lo tanto su rendimiento es menor.

a.5. Lima Rangpur, Citrus limonia Osbeck

Es muy susceptible a la roña y exocortis. En el caso de la roña, ésta se presenta en los frutos de las variedades injertadas. En el caso de exocortis, ésta se distribuye internamente, causando quebraduras de ramas productivas en plantaciones de 10 a 12 años de edad.

b. Portainjertos de limas ácidas y limones

El portainjerto más usado actualmente es Citrus macrophylla, dentro de sus principales características:

- es resistente a gomosis y exocortis
- presenta una tolerancia aceptable a la psorosis
- se adapta muy bien a suelos pesados y soporta altas concentraciones de sales solubles y boro
- las variedades que se injertan sobre él, presentan muy buen tamaño y vigor, con frutos de buena calidad y tamaño
- es susceptible a VTC, xiloporosis y suelos con problemas de nemátodos
- poco tolerante a las sequías (Zaparolli, 1991)

La mayoría de plantaciones de limones persa y criollo y en algunos casos naranja, están injertados sobre C. macrophylla, y las limas ácidas están establecidas sobre limón criollo. La mayoría de éstas presentan problemas de gomosis. A pesar de ser susceptibles al VTC, su uso se ha visto obligado, en parte, por las escasas alternativas de patrones tolerantes y por el desconocimiento de sus características propias (Zaparolli, 1991; Flores, 1993; y Granados, 1993).

Es interesante que en las plantaciones de mandarina no se detecten problemas de gomosis en las variedades ni en los portainjertos que, al combinarse con naranjas u otros cítricos, presentan susceptibilidad (Zaparolli, 1991).

#### 4. VARIETADES Y PATRONES DE MAYOR USO EN GUATEMALA

CUADRO 3. Variedades de cítricos existentes en Guatemala (tomado de Salguero, 1992).

ESPECIES	VARIETADES
Naranja dulce <i>Citrus sinensis</i>	- predominantes: Valencia y Washington - otras: Jaffa, Hamlin y Victoria (o de azúcar)
Limas ácidas <i>Citrus aurantifolia</i>	Criollo y Pera
Limonos <i>Citrus limon</i>	Eureka y Lisboa, de menor importancia
Mandarina <i>Citrus reticulata</i>	Dancy, Satsuma y King, en orden de importancia y demanda
Otras especies <i>Citrus sp.</i>	- Toronja, <i>C. paradisi</i> - Pomelos, <i>C. grandis</i> - Híbridos (tangelos y ornamentales)

CUADRO 4. Patrón para limones y limas ácidas utilizado en Guatemala (tomado de Flores, 1993, p 46).

PATRON	CARACTERISTICAS
<i>Citrus macrophylla</i>	- susceptible a VTC - resistente a gomosis y exocortis - tolerancia aceptable a psorosis - se adapta bien a suelos pesados - árboles de buen vigor, con frutos de buena calidad

CUADRO 5. Patrones para naranja dulce y mandarina utilizados en Guatemala (tomado de Flores, 1993, p 45-46).

PATRON	CARACTERISTICAS
Citrango carrizo	<ul style="list-style-type: none"> <li>- resistente a VTC</li> <li>- de crecimiento vigoroso, produce fruto ligeramente ácido</li> <li>- adaptable a gran variedad de suelos</li> <li>- frutos producidos de calidad aceptable, no excelente</li> </ul>
Citrango troyer	<ul style="list-style-type: none"> <li>- produce frutos de buena calidad</li> <li>- tolerante a VTC</li> </ul>
<u>Citrus aurantium</u> (N. agrío)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- altamente susceptible a VTC</li> <li>- no presenta problemas de exocortis</li> <li>- altamente resistente a gomosis</li> <li>- frutos producidos de muy buena calidad</li> </ul>
<u>Citrus taiwanica</u>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- produce frutos de regular calidad</li> <li>- baja resistencia a VTC</li> <li>- altamente resistente a gomosis</li> <li>- muy tolerante a exocortis</li> <li>- responde muy bien a los suelos de textura fina</li> </ul>

#### B. ORIGEN Y PROPAGACION DE LA TRISTEZA DE LOS CITRICOS

El Virus de la Tristeza de los Cítricos (VTC) está distribuido mundialmente. La Tristeza es considerada como la enfermedad más destructiva que ataca a los cítricos. El potencial de propagación de las formas severas del virus y el movimiento de Toxoptera citricidus, su principal vector, hacia nuevas áreas, representan una amenaza constante (Roistacher y Moreno, 1991).

Hace poco más de 60 años no se habían identificado enfermedades causadas por virus. El conocimiento de enfermedades virales en plantas estaba en sus inicios. Hace 45 años, Fawcett y Wallace mostraron que la Tristeza era una infección viral transmitida por brotes y que era devastadora para algunas combinaciones brote-portainjerto, pero benigna para otras.

Demostraron también que el virus no sólo es transmitido a través de material vegetativo, sino que también por varias especies de áfidos (Reuther, 1991).

Se ha estimado que entre los años 1930 y 1980 el Virus de la Tristeza causó la muerte de más de 40 millones de árboles injertados sobre patrón de naranjo agrio en varias regiones de Israel, España, América del Sur (Brasil, Argentina), California y Florida (Garnsey, 1991; Reuther, 1991; y Rocha-Peña y Peña, 1992). Sólo en la década 1940 se cree que en Argentina arrasó con 16 millones de plantas y que en total provocó la muerte de más de 25 millones de cítricos en lo que respecta a Sudamérica (Marcó, 1991). Esta destrucción fue el mayor incentivo para la formación de la Organización Internacional de Virólogos de Cítricos (IOCV) (Roistacher y Moreno, 1991). En la década de 1980 a 1990 causó la muerte de cerca de 6 millones de árboles en Venezuela y pérdidas de consideración en Colombia y Perú (Rocha-Peña y Peña, 1992).

En América, Tristeza de los Cítricos y su vector T. citricidus han migrado de sur a norte en forma casi paralela.

En Panamá se identificó a Toxoptera citricidus en 1986 en la provincia de Chiriquí, para 1988 se encontró también en las provincias de Panamá, Coclé y Los Santos. Para 1991 no se conocía de la existencia del VTC en el país (Fernandez y Bernal, 1991).

Entre 1988-1989 y 1990-1991 se realizaron estudios en Costa Rica los cuales señalaron la presencia del virus a baja incidencia. En 1989 se determinó la presencia del áfido Toxoptera citricidus en la provincia de Limón, en 1991 se constató que las poblaciones eran muy bajas y se inició un tratamiento químico para el combate del

mismo (Fernández, 1991).

En Honduras, la mayoría de patrones de cítricos fueron seleccionados en base a la resistencia a Phytophthora sp., siendo el patrón más usado el naranjo agrio (90%). En 1991 no se había reportado ningún caso de Tristeza (Calderón, 1991).

Un estudio hecho en El Salvador en 1989 demostró la presencia del virus de Tristeza. Además, se constató la presencia de los áfidos vectores Aphis gossypii y Toxoptera aurantii (Claramount, 1991).

México se considera como una de las pocas áreas en el mundo libre de Tristeza; sin embargo, todas las plantaciones son en extremo vulnerables por el hecho que prácticamente toda su citricultura se encuentra injertada sobre patrón de naranjo agrio (Rocha-Peña, 1991; Rocha-Peña y Peña, 1992).

Estados Unidos es uno de los países más interesados en la actualidad en conocer el avance tanto de la enfermedad como su vector T. citricidus. La industria citrícola de 1940-60 de Florida se realizó en naranjo agrio. En 1980, la Tristeza se convirtió en pandemia en Florida, aun cuando no tiene al vector T. citricidus, sino al vector Aphis gossypii, no tan eficiente como el primero. Si el áfido T. citricidus llegara a entrar a Estados Unidos, su citricultura podría quedar totalmente eliminada (Youtsey, 1992).

#### 1. FORMAS DE PROPAGACION

Existen dos formas por las cuales el Virus de la Tristeza puede propagarse:

a. El VTC se transmite con relativa facilidad por injerto de yema y tejido infectado. Según Garnsey y colaboradores la transmisión mecánica se ha logrado sólo mediante la inoculación de muestras parcialmente purificadas en heridas hechas en el tallo de hospederos susceptibles tales como Citrus medica L. y limón Criollo o mexicano (Citrus aurantifolia (Chrystm.) Swingle) (Rocha-Peña y Peña, 1992). La transmisión por semilla no ha sido demostrada (Rocha-Peña y Peña, 1992).

b. Los vectores naturales del VTC son los áfidos. De por sí los áfidos son considerados plagas importantes de los cítricos a nivel mundial. Causan daño directo al extraer la savia, lo cual causa deformación en las hojas y cogollos, caída de flores y frutos tiernos, atraso en el crecimiento de las plantas afectadas, disminución de la calidad de los frutos debido a la presencia de fumagina que interfiere en las funciones fotosintéticas y de intercambio gaseoso, pero el mayor daño es que transmiten enfermedades virales (Monteverde *et al.*, 1977; y Cermeli, 1984).

Entre los áfidos vectores de la Tristeza caben citarse los áfidos negros de los cítricos, Toxoptera citricidus (Kirkaldi) y Toxoptera aurantii (Boyer); el áfido amarillo del algodónero Aphis gossypii Glover; el áfido verde de los cítricos, Aphis spiraecola Patch; el áfido negro del matarratón, Aphis craccivora Koch; el áfido del ajonjolí, Myzus persicae (Sulzer) y Diurmetus jaceae (Linnaeus) (Monteverde *et al.*, 1977).

El principal vector es el áfido Toxoptera citricidus, pero a pesar que es el más eficiente, sus niveles de población suelen ser muy bajos. Sin embargo, en las zonas del mundo donde T. citricidus está presente, como en Brasil y Argentina, la Tristeza se ha diseminado con mayor rapidez y ha causado mayores estragos que en aquellas donde sólo existen las otras especies (Monteverde *et al.*, 1977). Los otros áfidos son menos eficientes, tales como Toxoptera aurantii, Aphis gossypii y A. spiraecola, pero las poblaciones son elevadas por lo que en algunos países han sido la principal forma de propagación de la enfermedad. Tal es el caso de España, donde los principales vectores son A. citricola, A. gossypii y T. aurantii, según el orden de importancia; en Florida, el vector es A. gossypii; en ambos casos, estos vectores fueron los causantes de la diseminación del VTC, causando grandes daños en sus campos citrícolas.

Para controlar al vector por métodos biológicos se pueden utilizar a sus enemigos naturales, los más comunes son los himenópteros parásitos, coleópteros, dípteros y neurópteros depredadores (Monteverde *et al.*, 1977).

## 2. PATRONES SUSCEPTIBLES Y TOLERANTES A VTC

CUADRO 6. Susceptibilidad de los patrones de cítricos a la enfermedad de la Tristeza de los Cítricos (tomada de Reyes y Ruiz, 1984; Rocha-Peña y Padrón-Chávez, 1992, p 9-22; y Flores, 1993, p 45-46).

CARACTERISTICA	PATRON
SUSCEPTIBLES A TRISTEZA	Naranja agrio, <u>Citrus aurantium</u> <u>Citrus macrophylla</u>
TOLERANTES A TRISTEZA	<u>Citrus taiwanica</u> <u>Citrus wolkameriana</u> Pasquale Citrange morton Lima Rangpur, <u>Citrus limonia</u> Osbeck Limón Rugoso, <u>Citrus jambhiri</u> Lush. M. cleopatra, <u>Citrus reshni</u> Hort. ex tang. M. Sunki, <u>Citrus sunki</u> Hort. ex tang. <u>Poncirus trifoliata</u> (L.) Raf. Tangelo Orlando Citrange carrizo ( <u>P. trifoliata</u> x <u>C. sinensis</u> ) Citrange troyer ( <u>P. trifoliata</u> x <u>C. sinensis</u> )
RESISTENTES A TRISTEZA	Citrumelo swingle CPB 4475 ( <u>P. trifoliata</u> x <u>C. grandis</u> )

## 3. ESTUDIOS ANTERIORES REALIZADOS EN GUATEMALA

Guatemala se integró a la Red Internacional del VTC desde el I Taller en CATIE, Turrialba, Costa Rica, en mayo de 1991 (Salguero, 1993).

En septiembre de 1991 se hizo un monitoreo coordinado por CATIE, con la colaboración del ICTA, PROFRUTA y la Universidad de Florida. En éste se colectaron 170 muestras de la región suroriente del país (Zacapa, Chiquimula, Santa Rosa y Jutiapa).

Los resultados de ELISA detallaron que de estas 170 muestras el 2% fue positivo para VTC raza no severa, no encontrándose ni VTC raza severa ni presencia del vector T. citricidus (Lastra et al., 1992). Otros áfidos que sí se hallaron fueron A. spiraecola (55%),

T. aurantii (36%) y Aphis sp. (9%) (Salguero, 1992). Estos resultados fueron presentados por el Dr. Salguero en 1992, en el II Taller del VTC en Maracay, Venezuela.

Sin embargo, dentro de los inconvenientes que presentó este monitoreo podemos citar: 1) el muestreo fue sesgado, los árboles no se seleccionaron en forma sistemática, además, tampoco se cubrió toda la región, sino árboles situados en áreas aledañas a los caminos de la región; 2) la cantidad real de muestras tomadas fue incierta y muy baja para la población citrícola de esa región, por lo que el muestreo es no significativo; 3) no se tomaron datos referentes a localizaciones exactas de los árboles seleccionados; y 4) tampoco se realizó registro de los datos propios de los árboles en cuestión (especie de cítrico, patrón de injerto, edad y condición del mismo) lo que llevó a que para aquellos árboles cuyas muestras resultaron positivas a VTC no pudieron ser identificados ni reubicados para posteriores análisis o para su control.

Las expectativas de diseminación del VTC en Guatemala podría estar limitada por dos factores:

- a. Ausencia del vector T. citricidus: el muestreo realizado en 1991 no detectó la presencia de este vector. Sin embargo, en mayo de 1993 el Dr. Richard Lee, fitopatólogo de la Universidad de Florida, informó que en una gira de recolección de áfidos en Belice encontró especímenes pertenecientes a T. citricidus, aunque su presencia no ha sido confirmada (Granados, 1993). En Honduras y El Salvador sí hay reportes oficiales de la presencia de este vector.

- b. Principales patrones de cítricos utilizados en el país: en 1993 el Dr. Heinz Wutscher, especialista en patrones de cítricos de la Universidad de Florida hizo un reconocimiento de las principales áreas productoras de cítricos en Guatemala y constató que los patrones usados en plantaciones adultas no corresponden únicamente a naranjo agrio sino que también hay híbridos de Poncirus trifoliata, resistentes a Tristeza (Granados, 1993).

### C. VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CITRICOS (VTC)

#### 1. CARACTERISTICAS

El VTC es un virus no sólo importante sino que también muy interesante, pertenece al grupo de los Closterovirus, posee un virión filamentosos y muy flexible, midiendo aproximadamente 11x2000 nm (Niblett, 1991). El estudio de los Closterovirus ha sido difícil y lento porque está restringido al floema, se presenta en bajas concentraciones dentro del huésped, puede tener largos periodos de incubación y es muy difícil de transmitir por métodos mecánicos (Mata, 1993; y Rocha-Peña y Peña, 1992). Este virus se logra transmitir de forma semipersistente por sus vectores, los áfidos, o a través del uso de material vegetativo infectado (Rocha-Peña y Peña, 1992).

El genoma del VTC consiste de una molécula de ARN de hebra simple de cerca de 20 kilobases (Kb),  $13.3 \times 10^6$  daltons, lo que lo convierte en el genoma viral más grande conocido en plantas (Niblett, 1991). Diferentes locus del genoma viral están envueltos en los síndromes de declinamiento y acanalamiento del tallo

(Garnsey *et al.*, 1991).

Durante la replicación, el VTC produce una forma típica de ácido ribonucleico de doble hebra (dsARN) que se denominan "subgenómicos" (dsARNs) por ser de tamaño menor a 20Kb. Estos dsARNs varían en número y tamaño dependiendo de la raza del virus y del hospedero en que se encuentre (Niblett, 1991).

Los dsARNs son lo suficientemente específicos para una cepa de VTC y un hospedero determinados como para lograr conseguir un patrón de diagnóstico específico y poder identificar cepas específicas de VTC (Niblett, 1991).

## 2. FORMAS DE LA ENFERMEDAD

Son dos las formas por las cuales el VTC puede ser dañino a plantas de cítricos:

a. Necrosis del floema en el sitio del injerto en variedades de naranja (Citrus sinensis (L.) Osb.), toronja (C. paradisi L.) y mandarina (C. reticulata Blanco) injertadas en patrón de naranjo agrio (Citrus aurantium L.). El efecto final es un declinamiento gradual o repentino ("quick decline") que ocasiona la muerte del árbol (Garnsey *et al.*, 1991; y Rocha-Peña y Peña, 1992).

Cuando árboles maduros muy susceptibles son infectados por esta forma de VTC, generalmente se marchitan y mueren a las pocas semanas de haber aparecido los primeros síntomas. Cuando son brotes los que están infectados y se propagan sobre el portainjerto naranjo agrio, el árbol resultante no logra desarrollarse plenamente y nunca llega a producir (Garnsey, 1991).

Los síntomas de amarillamiento y paro del desarrollo del árbol se consideran frecuentemente indicadores de la raza severa (Garnsey *et al.*, 1991).

- b. Inducción de acanaladuras o picado del tallo ('stem pitting') provocado por algunas razas del VTC en la copa o en el portainjerto. En casos extremos se presenta un debilitamiento general del árbol con una subsecuente reducción en el rendimiento y en el tamaño del fruto (Garnsey *et al.*, 1991; y Rocha-Peña y Peña, 1992).

Los síntomas de clareamiento de vena, defoliación, acanaladuras en el tallo y paro del desarrollo del árbol son síntomas diagnósticos de infección por VTC en limón criollo o mexicano (*C. aurantifolia* (Chrystm.) Swingle). Sin embargo, la severidad de síntomas en limón mexicano como hospedero indicador del VTC no es predecible de severidad en otros hospederos (Garnsey *et al.*, 1991; y Monteverde *et al.*, 1984).

Otros síntomas generales como amarillamiento de hojas, reducción del crecimiento, epinastia (doblez de la lámina de la hoja hacia el envés) pueden ser diagnósticos de VTC (Monteverde *et al.*, 1984).

La severidad de la enfermedad depende de factores tales como: la raza del virus; la variedad del hospedero y su susceptibilidad a ser infectada; temperatura, la severidad de síntomas se reducen a mayores temperaturas y esto es influenciado por el clima del área (Garnsey *et al.*, 1991).

El potencial destructivo de las razas del VTC que causan el picado del tallo se consideran de importancia económica mayor,

debido a que afecta a los cítricos independientemente del portainjerto utilizado (Rocha-Peña y Peña, 1992).

### 3. METODOS DE DETECCION

Existen varios métodos a través de los cuales puede detectarse el VTC en tejido infectado. Dentro de estos métodos tenemos: uso de plantas indicadoras, inmunodifusión con dodecil sulfato de sodio, inmunofluorescencia, microscopía de luz, microscopía electrónica, el método de ELISA ('Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay'), e inmunoadherencia a membranas de nitrocelulosa (Rocha-Peña y Peña, 1992).

Cada método presenta ventajas, desventajas y distintos niveles de sensibilidad en la detección, por lo que se les dan diferentes usos y aplicaciones. Sin embargo, el método de ELISA se ha convertido de uso necesario para cualquier análisis de VTC por su versatilidad, alta sensibilidad, relativa facilidad y bajo costo (Rocha-Peña y Peña, 1992), por esto mismo, éste es el método que se usó para la elaboración de este trabajo.

#### D. METODO SEROLOGICO DE DETECCION ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

El método serológico de ELISA se ha convertido en el método estándar para la detección de distintos patógenos de cítricos y se ha usado para detectar al VTC desde 1984 (Garnsey y Cambra, 1991; y Powell, 1992).

Hay distintas variaciones del método de ELISA (ver Figura 1), dentro de las cuales figura el ELISA de doble sandwich, que puede categorizarse como directo (DAS) o indirecto (DAS-I) (Powell,

1992).

En el ELISA directo (DAS ELISA) el anticuerpo de cubierta (AcP, Anticuerpo Policlonal de cubierta) se inmoviliza en un soporte sólido (la microplaca de ELISA), luego se agrega el antígeno (V, virus), y luego se agrega anticuerpo conjugado (AcC) específico al virus para completar el sandwich. El anticuerpo conjugado con una enzima (E) (fosfatasa alcalina), cataliza una reacción colorimétrica cuando se agrega el sustrato apropiado (Garnsey y Cambra, 1991; y Powell, 1992).

En el ELISA indirecto (DAS-I ELISA) el virus se detecta usando un anticuerpo conjugado (AcC) que reacciona con un anticuerpo monoclonal no marcado (AcM) que reconoció al virus (Garnsey y Cambra, 1991; y Powell, 1992).

Se han desarrollado diversos tipos de anticuerpos para el VTC, éstos incluyen tanto anticuerpos monoclonales (MAb's) como policlonales. Cada MAb reconoce un único epítipo de la cápside del VTC, así este epítipo debiera estar presente en todas las razas del virus y así poder detectarlo usando un único MAb (Garnsey y Cambra, 1992; y Powell, 1992). Algunos monoclonales reaccionan a una amplia variedad de razas del VTC, pero ninguna de las hasta ahora conocidas reacciona con todas las razas (Garnsey y Cambra, 1992).

Los anticuerpos monoclonales de mayor especificidad que se han desarrollado son el MCA13, producido en el laboratorio del Dr. Garnsey (Florida), el cual reacciona selectivamente con la mayoría de razas severas del VTC; y el 3DF1, producido en el laboratorio del Dr. Cambra (Valencia), que reacciona con la mayoría de razas no severas del virus (Garnsey y Cambra, 1991; Powell, 1992; y Rocha-

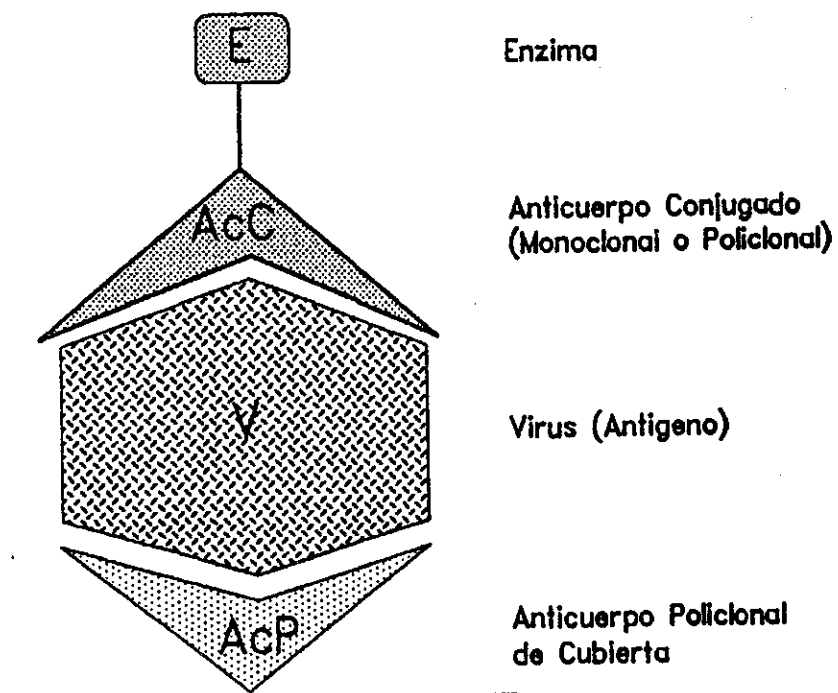
Peña y Peña, 1992).

Dentro de los anticuerpos policlonales tenemos una amplia variedad, siendo quizá los más importantes T30 y T36, aisladas e identificadas en Florida. La cepa T36 es una raza severa que induce declinamiento rápido y brotes amarillentos, reacciona con anticuerpos policlonales y con MCA13. La cepa T30 es una raza no severa eficaz para protección cruzada contra T36 y reacciona también con anticuerpos policlonales, pero no con MCA13 (Niblett, 1991).

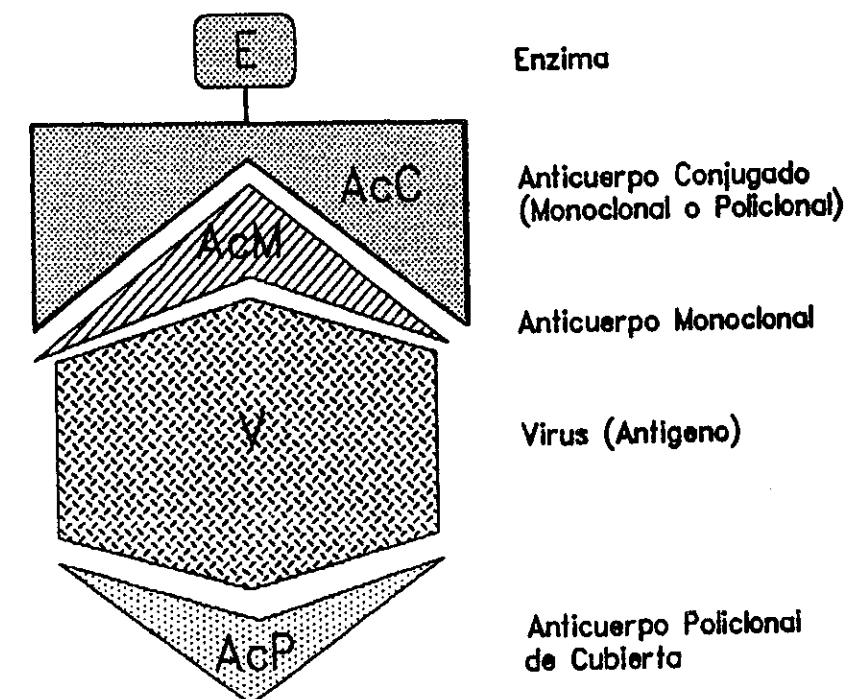
Si bien, los anticuerpos policlonales no pueden distinguir entre razas severas y no severas del VTC, son altamente eficaces para detectar al VTC en general. Lo anterior sumado a la técnica de DAS ELISA da como resultado la oportunidad de usar un sólo método para detectar al VTC, ahorrando tiempo, materiales y dinero al interesado. Y únicamente para aquellas muestras que salgan positivas al VTC se les hará la determinación de raza con el método de DAS-I ELISA usando el anticuerpo monoclonal MCA13.

Se usaron las cepas T30 y T36 como controles positivos y tejido sano como control negativo, anticuerpo policlonal de conejo se usó como cubierta. En el DAS ELISA se usó anticuerpo policlonal de conejo como conjugado; y en el DAS-I se usó anticuerpo monoclonal de ratón específico a razas severas y anticuerpo monoclonal de cabra específico a ratón como conjugado.

FIGURA 1. Representación de ELISA's de doble sandwich.



DOUBLE ANTIBODY SANDWICH



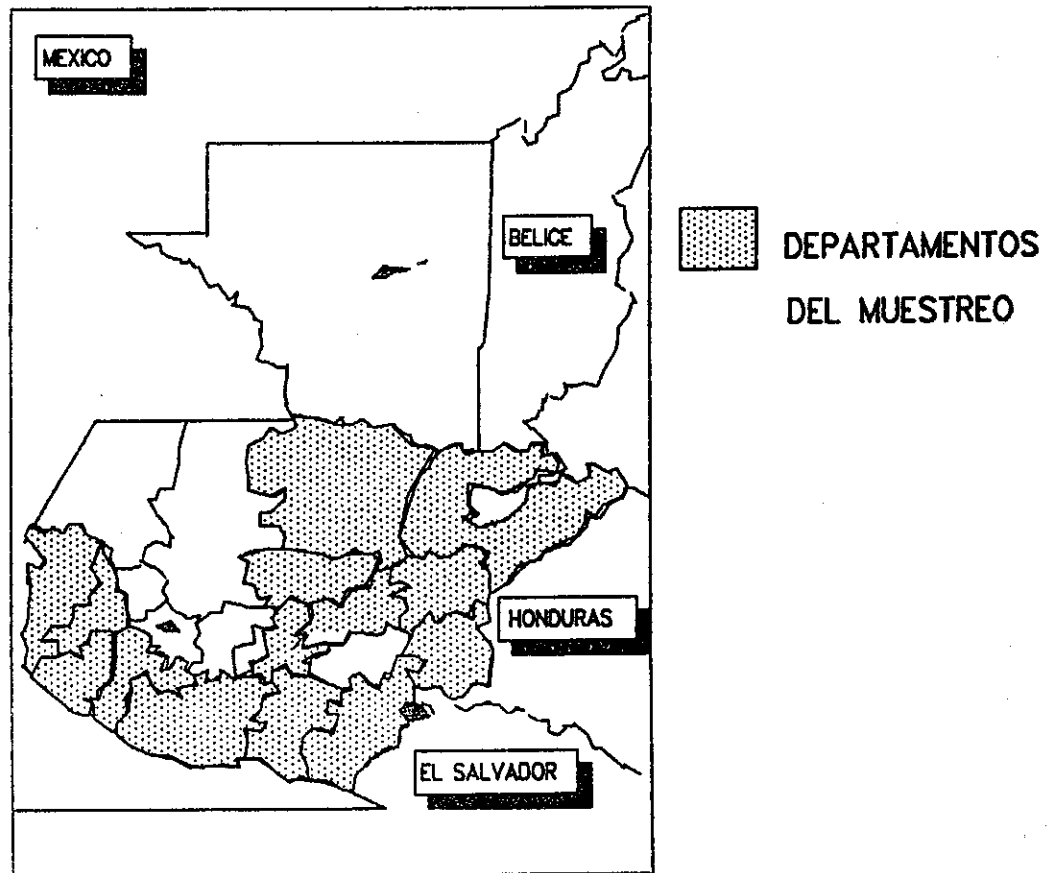
DOUBLE ANTIBODY  
SANDWICH-INDIRECT



## V. METODOLOGIA

Las áreas de cultivos tomadas dentro del marco de estudio incluyen los departamentos: Izabal, Zacapa, Chiquimula, Jutiapa, Alta Verapaz, Baja Verapaz, Guatemala, El Progreso, Santa Rosa, Escuintla, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango y San Marcos, tal y como se observa en la siguiente figura. En estos departamentos se incluyen aquellos de mayor importancia económica (ver Cuadro 1).

**FIGURA 2.** Localización geográfica de los departamentos del muestreo en Guatemala. 1993-1994.



De estos 14 departamentos se colectaron 2388 árboles de 111 fincas, según se detalla a continuación:

CUADRO 7. Distribución de poblaciones de muestreo.

DEPARTAMENTO	No. DE FINCAS	No. DE ARBOLES
Jutiapa	7	229
Zacapa	5	197
Izabal	18	391
Chiquimula	7	135
Santa Rosa	17	370
Escuintla	11	298
Guatemala	4	36
Suchitepéquez	4	56
Retalhuleu	9	68
Quetzaltenango	15	140
San Marcos	2	24
Alta Verapaz	7	220
Baja Verapaz	5	128
El Progreso	1	96

En el campo se recolectaron las muestras de cítricos para ser llevadas al laboratorio donde se les practicó el análisis respectivo de ELISA.

La colecta se realizó por fincas dentro de cada departamento y el número de fincas del muestreo dependió de la productividad del departamento. Dentro de una misma finca se colectaron muestras de árboles de diferentes edades, condiciones vegetativas aparentes, patrones o portainjertos, variedades y especies de cítricos injertados.

## A. FASE DE CAMPO

Los criterios a continuación se basan en trabajos de muestreos para detección del VTC en otros países (Borbón *et al.*, 1992; y Gottwald, 1992).

El estudio puede hacerse en base a algún criterio de zonificación de las áreas de producción, por ejemplo, por fincas dentro de cada departamento a coleccionar muestras, ya que dentro de cada plantación o finca, las condiciones climáticas generales no varían ampliamente (Borbón *et al.*, 1992).

Dentro de una misma plantación se toman muestras de plantas de diferentes edades, condiciones vegetativas aparentes, patrones o portainjertos, variedades y especies de cítricos injertados.

### Metodología

1. La estrategia de muestreo es en forma de diamante, por ser la que presenta la ventaja de regresar al punto de partida dentro de la plantación (Gottwald, 1992).
2. Las muestras a tomar deben ser de variedades y/o patrones susceptibles a VTC, principalmente naranja dulce (valencia u otras variedades) y de plantas injertadas en patrón susceptible, como la naranja agria (*C. aurantifolia*).
3. De los árboles a tomar muestras, debe dárseles preferencia a aquellos que presenten la siguiente sintomatología:
  - a. decaimiento lento
  - b. colapso rápido
  - c. defoliación
  - d. hinchazón de tronco
  - e. hendiduras en la corteza
  - f. clareamiento de venas
  - g. enanismo
  - h. frutos pequeños

4. Las muestras serán compuestas, cada muestra consistirá en submuestras de 4 árboles, tomándoles 2 brotes jóvenes a cada árbol (Borbón *et al.*, 1992). Además, las muestras deben constituirse por árboles de condiciones similares y preferentemente de la misma variedad y patrón de injerto.
5. Los brotes jóvenes deben ser de 5 a 10 cm de longitud (Borbón *et al.*, 1992), se envuelven en servilleta, se aseguran con cinta adhesiva y se identifican con el mismo código que el árbol; todos los brotes que representen una muestra se guardan en una bolsa plástica (Borbón *et al.*, 1992) a fin de tener una bolsa por muestra.
6. En caso que sólo se colecten hojas jóvenes, cuidar que todas incluyan los peciolo.
7. Todas las muestras se conservan a 4°C todo el tiempo (Borbón *et al.*, 1992) evitando que les penetre humedad, hasta que lleguen al laboratorio. En el campo se utiliza una hielera para tal fin y durante las noches deben conservarse en refrigeración. El acarreo de muestras del campo a laboratorio debe ser lo más rápido posible.
8. Si alguna muestra resulta positiva a la serología, se recolecta nueva muestra y se repite la serología por separado.

Las muestras se constituyeron por árboles de condiciones similares y preferentemente de la misma variedad y patrón de injerto.

Al recolectar las muestras en el campo se les tomaron datos de: fecha, localización (finca, departamento), número de muestra (según código), cantidad de árboles por muestra, clase de cítrico, variedad de cítrico, portainjerto o patrón de cultivo y edad del árbol; asimismo, en forma descriptiva, se indicó si los árboles tenían presencia de áfidos ('1') o ausencia de los mismos ('0'), y si los árboles presentaban síntomas visuales externos de la enfermedad ('1') o si tenían aspecto de sanos ('0').

El registro de datos de los árboles y localización de cada árbol en una finca se realiza en una papeleta para tal efecto (ver Apéndice A).

## **B. FASE DE LABORATORIO**

### **1. PREPARACION DE LA MUESTRA**

#### **→ Metodología**

1. Tomar las hojas jóvenes de los brotes y cortarlas dejando libres y enteros al peciolo y la nervadura central.
2. El peciolo y la nervadura se pican fino, para dejar piezas de 1 ó 2 mm de grueso.
3. El material picado se guarda en viales con desecante y papel filtro. El uso de sílica gel acelera el proceso de deshidratación de las muestras y evita también que les penetre humedad.
4. Se identifica el vial con el código de la muestra y se almacena a 4°C hasta su posterior análisis por ELISA.

## 2. METODOS DE ELISA

Basada en los procedimientos de Garnsey y Cambra (1991).

### Metodología para DAS ELISA

#### Preparación de la muestra

1. Reconstituir la muestra dejándola en buffer de extracción a una dilución 1:20 (peso muestra:volumen) durante una hora cuando menos.
2. Homogeneizarla y colocar inmediatamente en la placa de ELISA. Una vez homogeneizada, la muestra tiene una vida máxima de 24 horas.

#### Preparación de los controles

3. Los controles liofilizados T30 y T36 (controles de razas moderada y severa respectivamente) se reconstituyen diluyendo con 1 mL de agua y 4 mL de buffer de extracción para tener una concentración 1:20.
4. El control liofilizado sano ('Healthy Control') se reconstituye diluyendo con 4 mL de agua y 16 mL de buffer de extracción para tener una concentración 1:20.

#### Cubierta de la placa (Immulon II)

5. Colocar 200  $\mu$ L de buffer de cubierta que contengan el anticuerpo de cubierta a concentración 0.25  $\mu$ L/mL. Sellar la placa.
6. Incubar por 4 horas a 30°C.

#### Adición de la muestra

7. Lavar la placa 3 veces con buffer de lavado PBST (buffer salino de fosfatos con Tween 20) durante 3 minutos cada vez.

8. Inmediato adicionar la muestra, 200  $\mu$ L de homogeneizado por pocillo en la placa de ELISA. Correr cada muestra por duplicado.
9. Dentro de las muestras agregar los controles T30, T36 y sano.
10. Sellar e incubar la placa con muestras durante 1 noche a 4°C.

#### Adición del conjugado

11. Lavar la placa 3 veces con buffer PBST durante 3 minutos cada vez.
12. Agregar a cada pocillo 200  $\mu$ L de conjugado a concentración 1:2000 con buffer de conjugado.
13. Sellar e incubar la placa durante 4 horas a 30°C.

#### Adición del sustrato

14. Lavar la placa 3 veces con buffer PBST durante 3 minutos cada vez.
15. Agregar a cada pocillo 200  $\mu$ L del sustrato a concentración 0.6 mg/mL buffer de conjugado.

#### Lectura de la placa

16. Leer la placa en el lector de ELISA a 405 nm a los 30, 60 y 180 minutos.
17. Imprimir los resultados obtenidos.

### Metodología para I-DAS ELISA

#### Preparación de la muestra

1. Reconstituir la muestra dejándola en buffer de extracción a una dilución 1:20 (peso muestra:volumen) durante una hora cuando menos.
2. Homogeneizarla y colocar inmediatamente en la placa de ELISA. Una vez homogeneizada, la muestra tiene una vida máxima de 24

horas.

#### **Preparación de los controles**

3. Los controles liofilizados T30 y T36 (moderado y severo respectivamente) se reconstituyen diluyendo con 1 mL de agua y 4 mL de buffer de extracción para tener una concentración 1:20.
4. El control liofilizado sano se reconstituye diluyendo con 4 mL de agua y 16 mL de buffer de extracción para tener una concentración 1:20.

#### **Cubierta de la placa (primer anticuerpo)**

5. Colocar 200  $\mu$ L de buffer de cubierta que contengan el anticuerpo de cubierta a concentración 0.2  $\mu$ L/mL (1:5000).  
Sellar la placa.
6. Incubar por 4 horas a 30°C.

#### **Adición de la muestra**

7. Lavar la placa 3 veces con buffer PBST durante 3 minutos cada vez.
8. Inmediato adicionar la muestra, 200  $\mu$ L de homogeneizado por pocillo en la placa de ELISA. Correr cada muestra por duplicado.
9. Dentro de las muestras agregar los controles T30, T36 y sano.
10. Sellar e incubar la placa con muestras durante 1 noche a 4°C.

#### **Adición del segundo anticuerpo**

11. Colocar 200  $\mu$ L de buffer de cubierta que contengan el anticuerpo de cubierta a concentración 0.2  $\mu$ L/mL (1:5000).  
Sellar la placa.
12. Incubar por 4 horas a 30°C.

#### Adición del conjugado

13. Lavar la placa 3 veces con buffer PBST durante 3 minutos cada vez.
14. Agregar a cada pocillo 200  $\mu$ L de conjugado a concentración 1:5000 con buffer de conjugado.
15. Sellar e incubar la placa durante 4 horas a 30°C.

#### Adición del sustrato

16. Lavar la placa 3 veces con buffer PBST durante 3 minutos cada vez.
17. Agregar a cada pocillo 200  $\mu$ L del sustrato a concentración 0.6 mg/mL buffer de conjugado.

#### Lectura de la placa

18. Leer la placa en el lector de ELISA a 405 nm a los 30, 60 y 180 minutos.
19. Imprimir los resultados obtenidos.

Para la identificación de las muestras por placa se realiza un mapa en el que se registra el tipo de ELISA (DAS o I-DAS), los anticuerpos utilizados, la concentración de los mismos, los períodos de incubación y se identifica cada celda con una muestra según el código utilizado. Posteriormente, las lecturas de absorbancias a 405 nm de ELISA se registran en un mapa similar, donde se anota el tiempo de lectura y la posición de las celdas se corresponde con las del mapa de identificación.

Para el análisis de datos se calcularon los puntos de corte de placas de ELISA en forma individual, utilizando el criterio de:  $A + t\sigma$ , donde A representa el valor promedio de Absorbancia a 405 nm

de controles negativos a VTC,  $\sigma$  es el valor de la desviación estándar de los controles negativos (n) a VTC, y  $t$  es el valor estadístico de Student, obtenido con un 99.5% de confiabilidad y (n-1) grados de libertad, donde n es el número de controles negativos al VTC. Como criterio propio se utilizó n infinito, por lo tanto, el criterio de punto de corte utilizado fue el de:  $A + 2.5758 \sigma$ , donde ya se ha reemplazado el valor de Student (Owen, 1962).

Como control de calidad, se envió más del 10% de las muestras al laboratorio del Dr. Stephen M. Garnsey y de la Dra. Carmen Henderson del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) de la Universidad de Florida, quienes certificaron las muestras positivas y corroboraron las negativas a través de las mismas técnicas de ELISA utilizadas para este estudio.

Las variables que se analizaron estadísticamente fueron:

#### 1. INDEPENDIENTES

- a. Especie de cítrico
- b. Variedad de patrón o portainjerto

#### 2. DEPENDIENTES

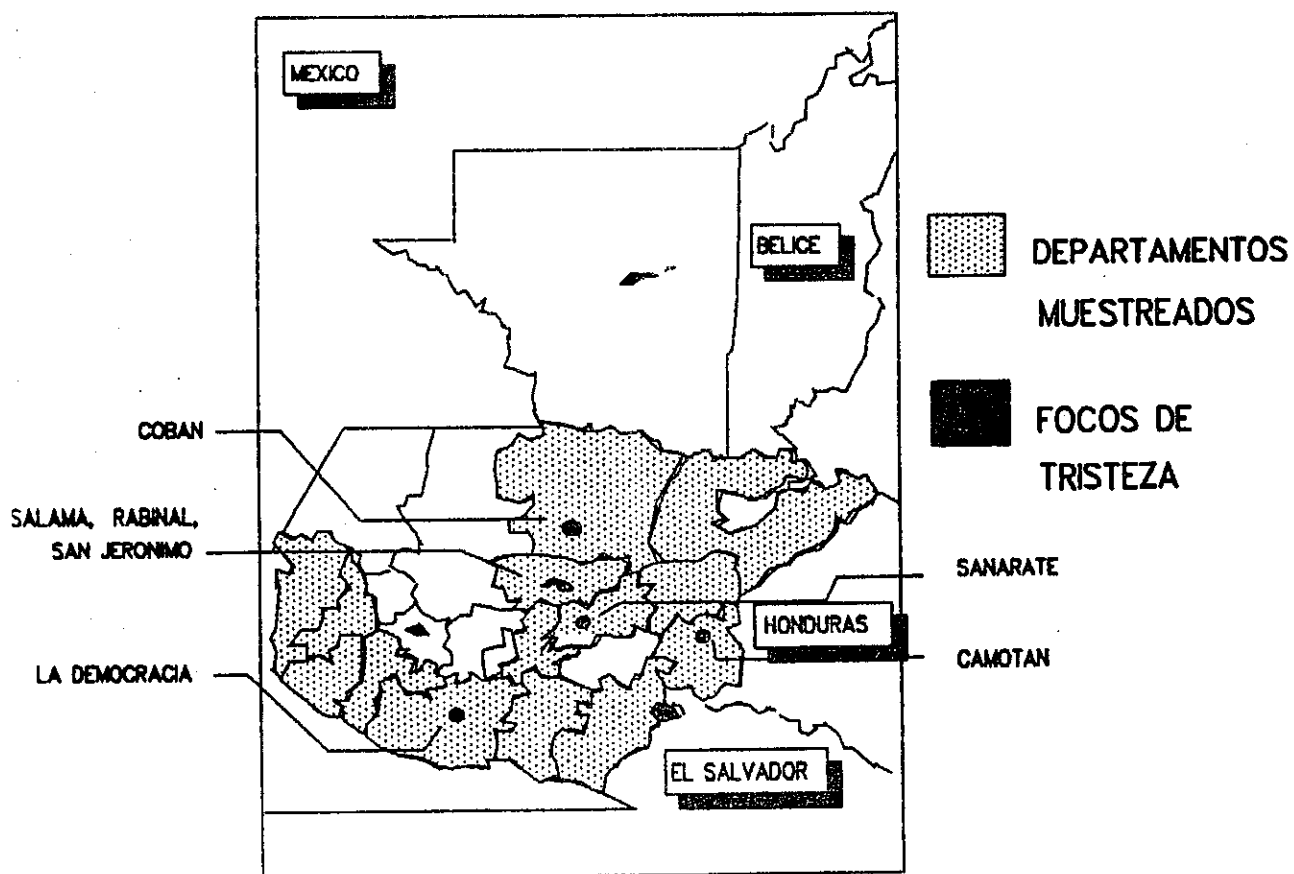
- a. Condición visual del árbol
- b. Presencia de áfidos
- c. Serología de ELISA a VTC

Se estudiaron las interacciones entre incidencia del VTC/especie/portainjerto. Las interacciones entre los factores restantes se consideraron secundarias.

## VI. RESULTADOS

De los departamentos estudiados se encontraron algunas áreas restringidas en las que hay árboles afectados por la presencia del VTC. La prueba de correlación ( $G = 250.25$ ,  $\chi^2_0 = 29.819$ , calculada con 99.5% de confiabilidad y 13 g.l.) señala que sí existe dependencia entre la presencia del VTC y las regiones afectadas. Estas se observan en la siguiente figura.

FIGURA 3. Localización de focos de VTC en plantaciones de cítricos en Guatemala. 1994.



Los resultados de las serologías se encuentran en los Apéndices D y E. Los resultados resumidos de los árboles positivos serológicamente al VTC se muestran en el siguiente cuadro.

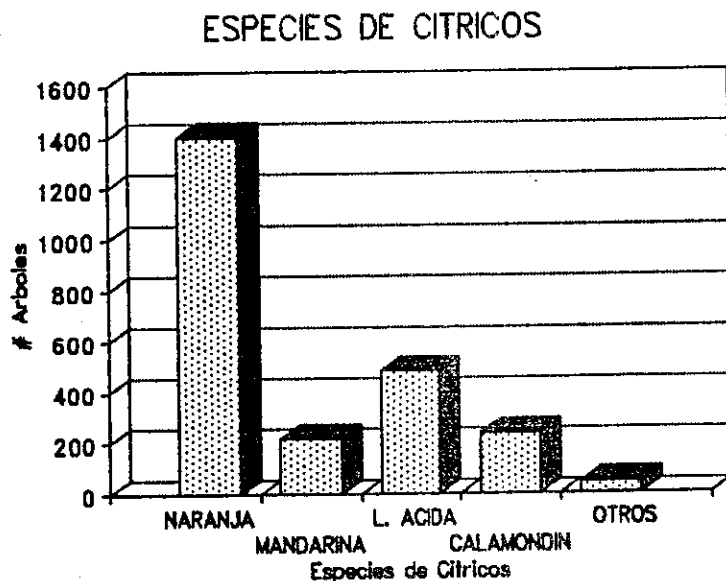
CUADRO 8. Datos generales de los árboles serológicamente positivos al VTC en las regiones del muestreo en Guatemala.

DEPARTAMENTO	FINCA	No. DE ARBOLES	CITRICO	PATRON	CEPA VTC
Chiquimula	Las Delicias	3	mandar.	agrio	moderada
Escuintla	La Democracia	17	calam.	calam.	severa
Alta Verapaz	Vivero DIGESA	8	mandar.	agrio	moderada
Alta Verapaz	Vivero DIGESA	2	tangelo	agrio	moderada
Baja Verapaz	V.Sn.JERONIMO	4	naranja	carrizo	moderada
Baja Verapaz	V.Sn.JERONIMO	4	naranja	carrizo	severa
Baja Verapaz	V.Sn.JERONIMO	4	naranja	rangpur	moderada
Baja Verapaz	V.Sn.JERONIMO	4	mandar.	carrizo	moderada
Baja Verapaz	Chicajón	4	naranja	carrizo	moderada
Baja Verapaz	Guachipilín	12	naranja	agrio	moderada
Baja Verapaz	Guachipilín	8	naranja	agrio	severa
Baja Verapaz	La Aurora	4	naranja	carrizo	severa
Baja Verapaz	El Aguacate	4	toronja	agrio	moderada
El Progreso	Sanarate	16	calam.	calam.	severa

En el muestreo se dio preferencia a los árboles de naranja y aquellos plantados sobre naranjo agrio. Ver las figuras 4 y 5. Las especies del muestreo de cítricos reflejan en gran medida las proporciones de cultivos en Guatemala. La mayor parte de especies colectadas fueron naranjas, seguidas de lima ácida (limones, en Guatemala) y mandarina; el cultivo de toronjas, tangelos, limas dulces y limones (de los llamados 'limones verdaderos') es mínimo. Por ser el calamondín un cultivo relativamente nuevo de exportación para Guatemala y por carecer de información de su susceptibilidad a Tristeza, se le ha dado cierta selectividad dentro del estudio, por lo que su porcentaje representa cerca del 10% de la población cítrica del muestreo.

Por ser tan poco el cultivo de toronjas, tangelos y limas dulces se unieron y catalogaron como 'otros'.

FIGURA 4. Especies de cítricos colectados.



Desde el ingreso del VTC a América, se ha notado que los cultivos afectados a lo largo del continente (Sur y Centroamérica) fueron atacados 'violentamente' porque los cultivos eran basados en patrón de naranjo agrio exclusivamente. Asimismo, en Guatemala se creía que el patrón de uso exclusivo para cítricos era también el naranjo agrio; sin embargo en la figura 5 se observa que el uso de patrones alternativos es mayor del 50%.

Si se eliminara de esta figura al calamondín (puesto que éste se cultiva en 'pie franco', a partir de acodos), los valores de porcentajes se aumentarían.

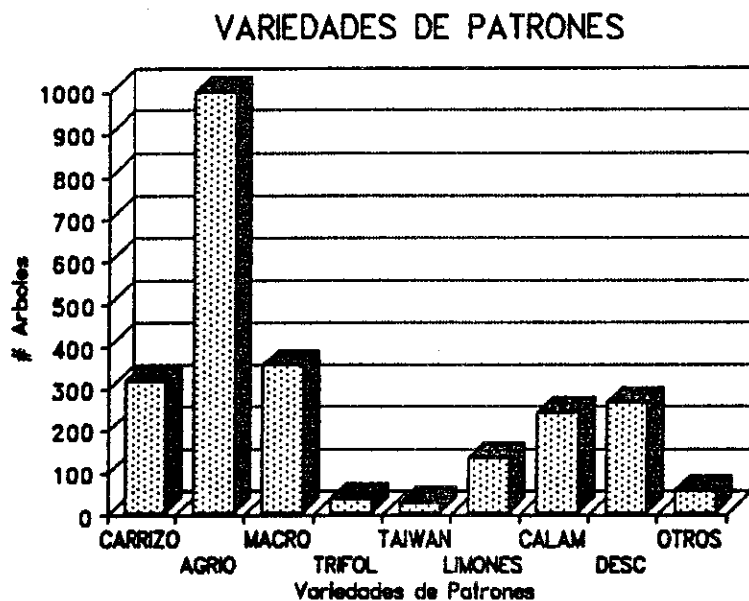
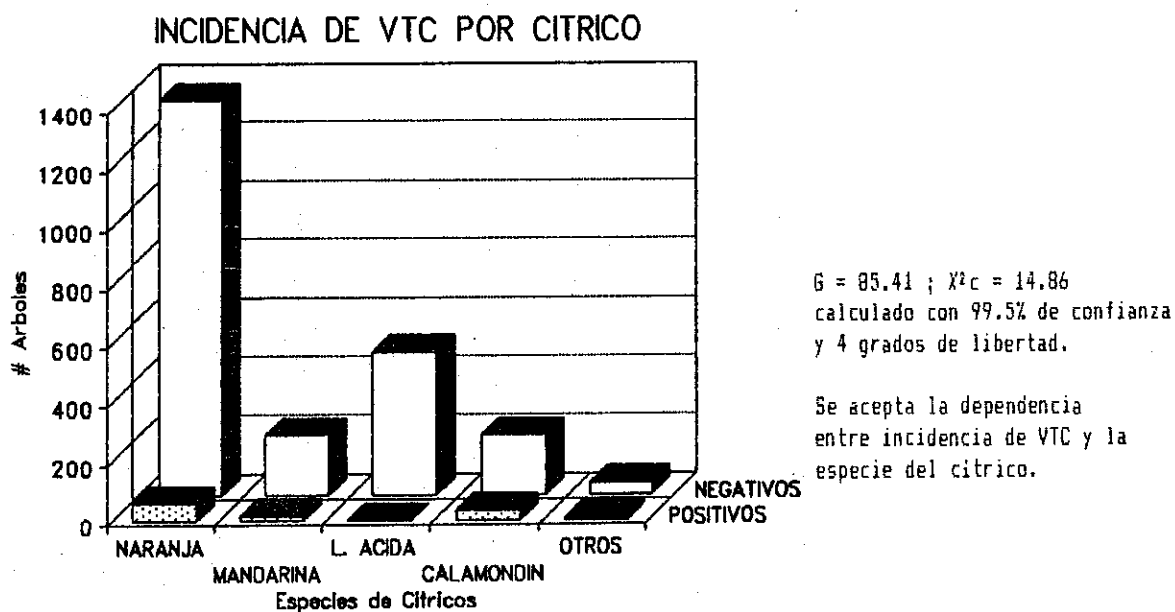


FIGURA 5. Variedades de patrones.

En 1992, Salguero reportó que los patrones *C. taiwanica*, y Citranges troyer y carrizo ya se habían comenzado a implementar en Guatemala, sin embargo, en el presente estudio no se reporta la variedad troyer, posiblemente, debido a que siendo troyer y carrizo híbridos de la misma clase (*P. trifoliata* x *C. sinensis*), las formas físicas de los injertos sean muy similares. Aun así, el uso de los Citranges y del Citrumelo swingle (tolerantes) deben aumentarse, así como el uso de *Poncirus trifoliata* y *Citrus taiwanica* (tolerantes).

De la figura 6 se observa que existe interacción entre la incidencia del VTC y la especie del cítrico. Las especies de cítricos más afectados que se encontraron fueron un 13.9% en calamondines, 6.9% en mandarinas y 13.6% de los 'otros' cítricos

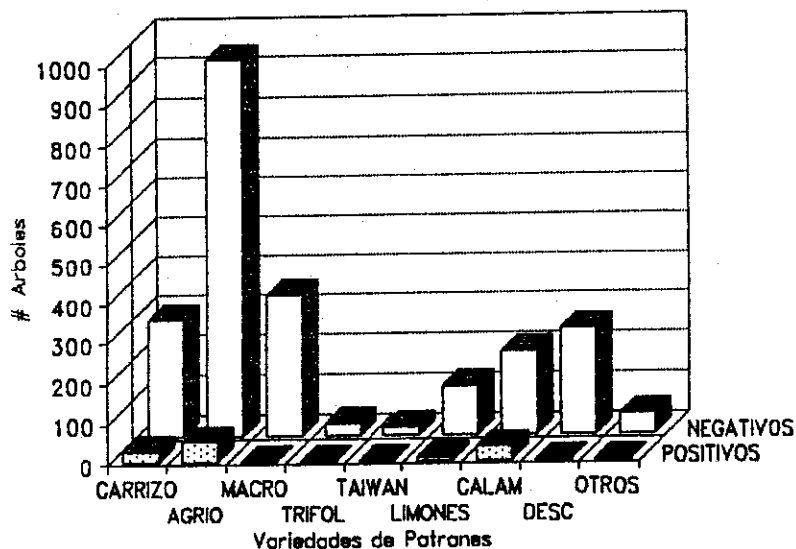


**FIGURA 6.** Incidencia de VTC por especie de cítrico.

(siendo toronjas y tangelos los afectados). Los casos de naranjas (2.8%) se encuentran todavía en un proceso de confirmación. En este estudio no se hallaron árboles de limas ácidas infectadas por el VTC.

En la figura 7 se observa que existe interacción entre la incidencia del VTC y la variedad del patrón de injerto. Los patrones de los árboles que se encontraron más afectados por el VTC (sin contar calamondín, por ser pie franco), son los de naranjo agrio (con 3.7%). Se encontraron pocos casos de limones y carrizo. No se encontraron árboles injertados sobre macrophylla que estuvieran infectados por el VTC.

### INCIDENCIA DE VTC POR PATRON



$G = 78.85$  ;  $\chi^2 c = 21.955$   
 calculado con 99.5% de confianza  
 y 6 grados de libertad.

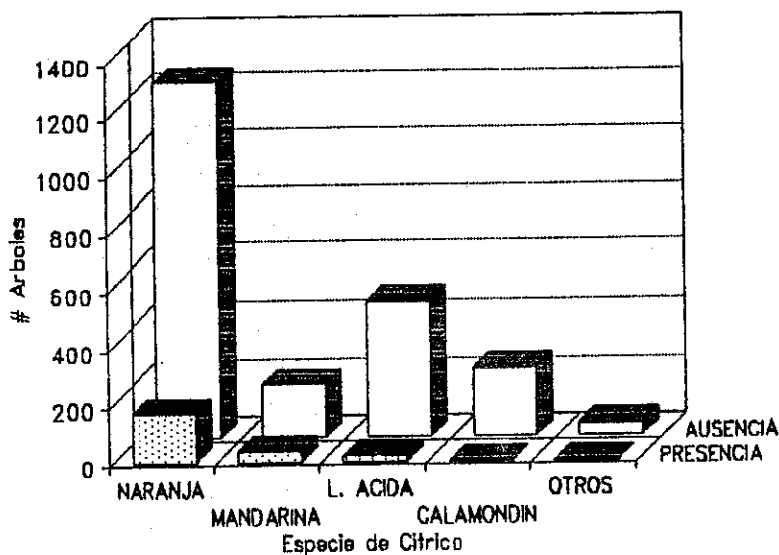
Se acepta la dependencia  
 entre incidencia de VTC y la  
 variedad del portainjerto.

FIGURA 7. Incidencia de VTC por variedad de patrón.

Dentro del estudio se tomaron en cuenta también si había presencia de áfidos y si los árboles presentaban sintomatologías visuales propias de la enfermedad de la Tristeza.

FIGURA 8. Presencia de áfidos por especie de cítrico.

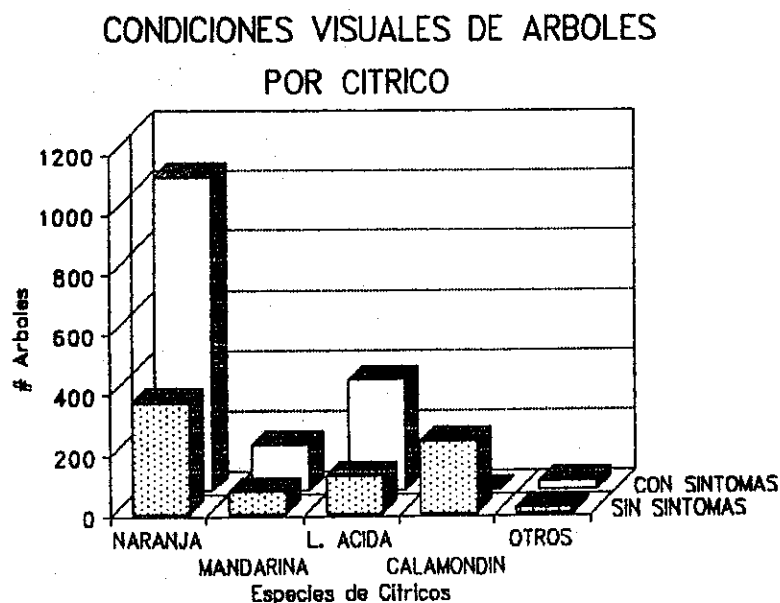
### PRESENCIA DE AFIDOS POR ESPECIE CITRICO



De la figura 8 se aprecia que los árboles de calamondín, de toronjas y tangelos no poseían poblaciones registrables de áfidos, mientras que en limas ácidas la presencia de áfidos es mínima (3.1%); para naranjas y mandarinas la presencia de áfidos se registra en más del 12% de casos, para cada cultivo.

De la figura 9 se observa que sólo en calamondín no se observaron síntomas visuales de Tristeza, mientras que para el resto de cítricos hay un ponderado de 1:3 - 1:2 de árboles presentando sintomatologías.

FIGURA 9. Condiciones visuales de árboles por especie de cítrico



Representando a los patrones de cítricos (figura 10), los que mayor presencia de áfidos reportan son los de carrizo (22.9%) y agrio (9.2%), los otros porcentajes son menores y en el caso de calamondín y trifoliata, la presencia de áfidos es nula.

## PRESENCIA DE AFIDOS POR PATRON

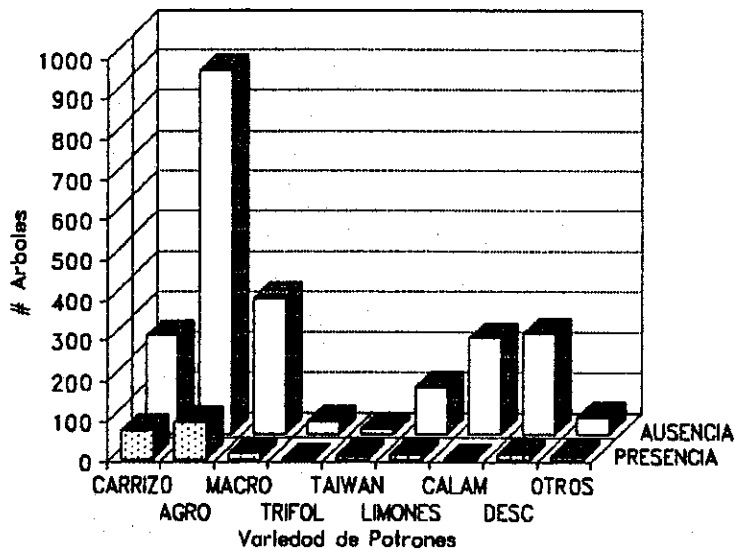
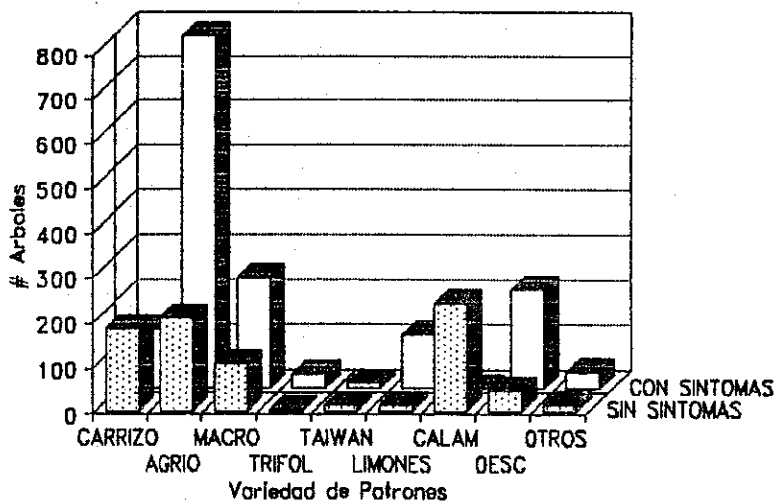


FIGURA 10. Presencia de áfidos por variedad de patrón.

De la figura 11, excluyendo a calamondín, todos los patrones presentan algún porcentaje de sintomatología descriptiva a Tristeza. De estos patrones, sólo se dió el caso para el patrón

FIGURA 11. Condiciones visuales de árboles por variedad patrón.

CONDICIONES VISUALES DE ARBOLES  
POR PATRON

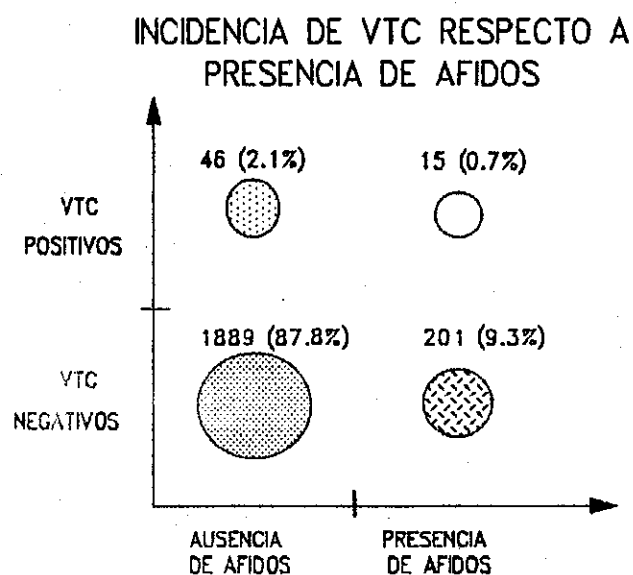
carrizo observar una mayoría tolerante de condición sana, lo cual es acorde al patrón de tolerancia a VTC que se conoce.

Otras de las relaciones que resultan de interés son aquellas donde se comparan las incidencias de VTC contra presencia de áfidos y la sintomatología visual de los árboles.

La siguiente figura intenta ejemplificar las densidades de las subpoblaciones que conforman esta relación. La prueba de correlación indicó que la incidencia del VTC no depende de la presencia de áfidos. No se tomó en consideración al calamondín, para observar el patrón normal de cítricos tradicionales.

Es quizá más que elocuente que la subpoblación más densa es la de árboles 'VTC negativos-libres de áfidos' (87.7% de la población), mientras que el caso totalmente contrario se da para

**FIGURA 12.** Incidencia de VTC respecto a presencia de áfidos.



$G = 4.77$  ;  $\chi^2_c = 7.879$   
calculado con 99.5% de confianza  
y 1 grado de libertad.

Se acepta la no dependencia  
entre incidencia de VTC y la  
presencia de áfidos.

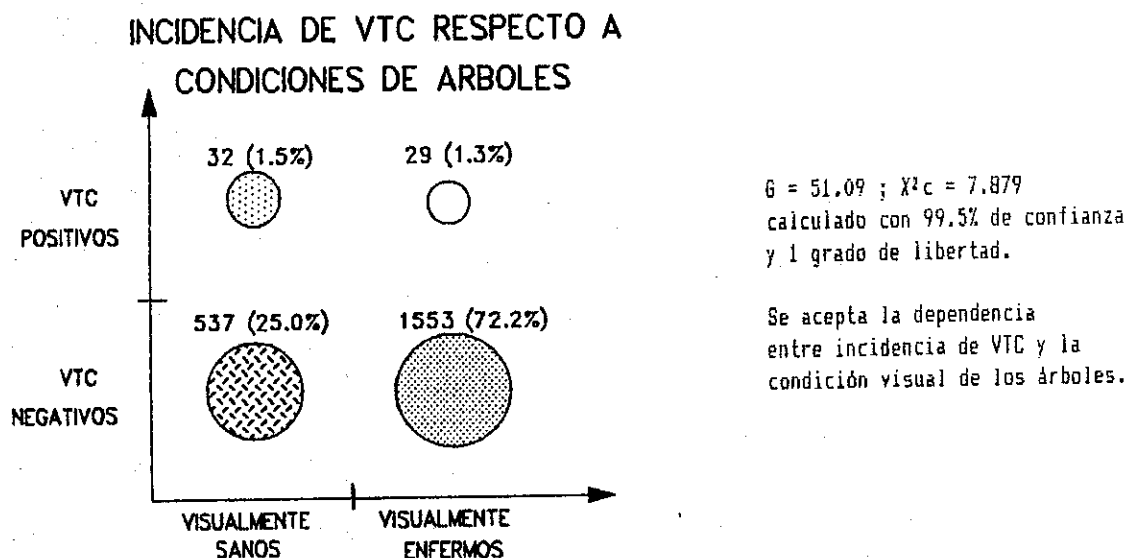
aquellos árboles 'VTC positivos-presencia de áfidos' (0.7% de densidad). Las otras dos subpoblaciones son intermedias, con densidades medias también.

Ahora bien, también podemos hacer una serie de aseveraciones a partir de este gráfico, pero simplificando términos podemos decir:

1. de la población de cítricos, 1 árbol de cada 26 (1:26) está afectado por el VTC; y
2. de la población de cítricos, 1 árbol de cada 9 (1:9) presenta de áfidos.

La figura 13 intenta ejemplificar las densidades de las subpoblaciones que conforman la relación 'Incidencia de VTC respecto a Condiciones visuales del árbol'. La prueba de correlación indicó que la incidencia del VTC depende de forma inversa de la condición visual de los árboles. Tampoco se tomó en consideración al calamondín, para observar el patrón normal de los cítricos tradicionales.

En esta relación, la subpoblación más densa es aquella visualmente sintomática pero sin VTC (en la región de falsos positivos) con una carga del 72.1%. La subpoblación menos densa con un 1.4% se halla en la región de 'verdaderos positivos', o sea, los que teniendo condición de enfermos sí padecen presencia de VTC. Esta vez la región de verdaderos negativos queda como una subpoblación de densidad media.



**FIGURA 13.** Incidencia de VTC respecto a condiciones visuales de los árboles.

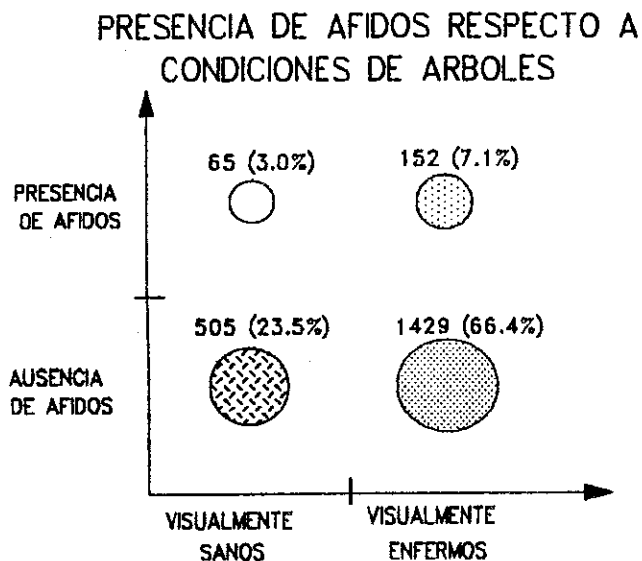
También podemos obtener una serie de aseveraciones a partir de esta gráfica, pero se pueden simplificar a:

1. de la población de cítricos, 1 árbol de cada 26 (1:26) está infectado de VTC; y
2. de la población de cítricos, 1 árbol de cada 3 (1:3) presenta síntomas visuales de Tristeza.

En la figura 14 se ejemplifican las densidades de las subpoblaciones que conforman la relación 'Presencia de áfidos respecto a Condiciones visuales los árboles'. Aquí la subpoblación más densa la ocupan los árboles visualmente sintomáticos pero libres de áfidos (66.4%), y la subpoblación menos densa la ocupan los árboles asintomáticos con áfidos presentes (3.0%).

En esta relación se esperaba que las subpoblación 'Ausencia de áfidos-Condición sana' fuera la mayor y que la subpoblación 'Presencia de áfidos-Condición enferma' la menor; sin embargo, ambas tienen las poblaciones medias.

FIGURA 14. Presencia de áfidos respecto a condiciones visuales de los árboles.



Dentro del estudio también se intentó hacer un reconocimiento de las variedades de patrones que se tienen en uso para el cultivo de cítricos.

Tanto para naranjas como para mandarinas, el patrón más usado es el naranjo agrio, seguido del Citrange carrizo. El uso de carrizo tiende a ser del 20% en ambos casos, el naranjo agrio se usa en un 40% para mandarinas y en un 60% para naranjas.

El uso de *P. trifoliata* y *C. taiwanica* es muy reducido en ambos casos, mientras que limones se usan en bajo porcentaje para

## PATRONES MAS USADOS PARA CULTIVO DE NARANJAS

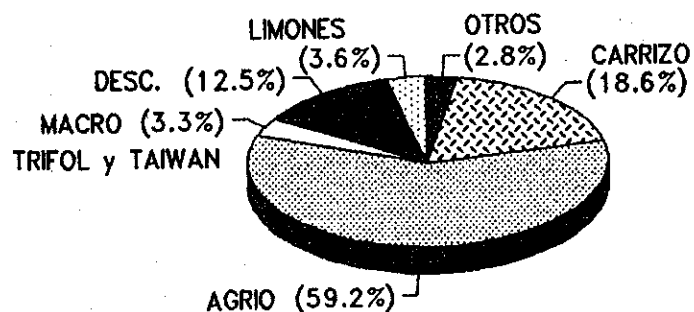
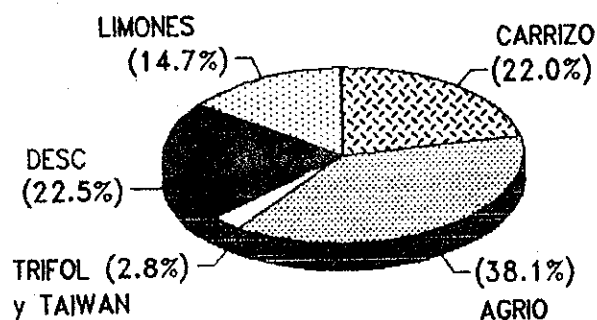


FIGURA 15. Patrones más usados para cultivo de naranjas.

naranjas (3.6%), para mandarinas se utilizan en un considerable porcentaje (14.7%). El uso del patrón macrophylla se observó mínimo para los cultivos de naranjas y mandarinas.

FIGURA 16. Patrones más usados para cultivo de mandarinas.

## PATRONES MAS USADOS PARA CULTIVO DE MANDARINAS



También para el cultivo de toronjas, tangelos y otros cítricos minoritarios, se tienen en uso los patrones carrizo y otros patrones en un porcentaje muy bajo (15.9% combinados), y el agravante que los patrones conocidos de mayor uso son agrio (34.1%) y macrophylla (15.9%), ambos muy susceptibles a Tristeza.

FIGURA 17. Patrones más usados para cultivos de toronjas, tangelos y otros.

### PATRONES MAS USADOS PARA CULTIVOS DE TORONJAS, TANGELOS Y OTROS

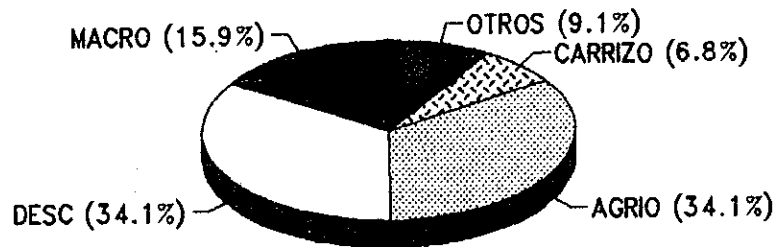
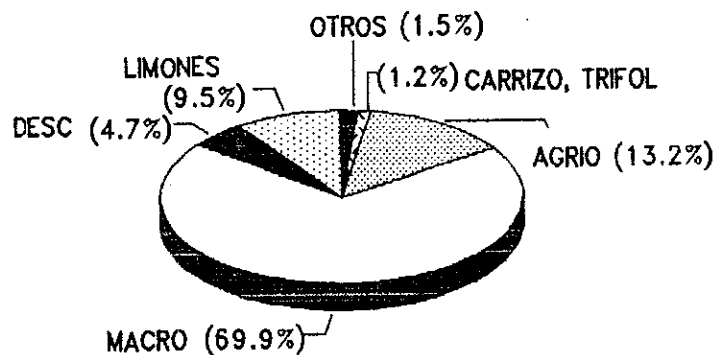


FIGURA 18. Patrones más usados para cultivo de limas ácidas.

### PATRONES MAS USADOS PARA CULTIVO DE LIMAS ACIDAS



En la figura 18 se observa que el cítrico de mayor uso para limas ácidas (limones) es macrophylla (69.9%) seguido de agrio (13.2%) y limones (9.5%). Dada la circunstancia de uso de patrones para limas ácidas, se esperaría un alto porcentaje de incidencia de Tristeza en limas ácidas.

Tanto para el cultivo de naranjas como para mandarinas, toronjas y tangelos, existe siempre un porcentaje elevado de uso de patrones que no lograron ser identificados.

Para ver la forma de dispersión de la edad de los árboles respecto a los factores: incidencia del VTC, especie de cítrico y variedad de portainjerto sería necesario estudiar individualmente cada especie de cítrico. La edad se consideró un factor secundario, por lo que las siguientes relaciones involucran a todas las especies de cítricos para dar una idea en general de las relaciones.

Respecto a las edades de los árboles, la mayoría de árboles oscilan entre 1 y 15 años, sin embargo, individualmente, las frecuencias más altas se localizan en 20 años (7.7%), 15 años (19.4%), 12 años (7.7%), 10 años (9.5%), 8 años (6.8%), 5 años (11.0%), y 1-2 años (11.2%).

Gran parte de naranjas tienen 15 años, gran parte de limas ácidas tienen 5 años y la mayoría de árboles entre 1 y 2 años son calamondines.

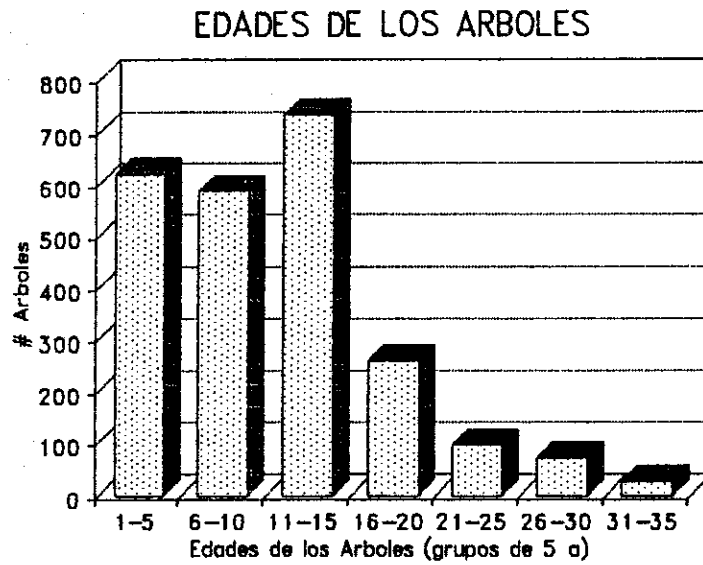
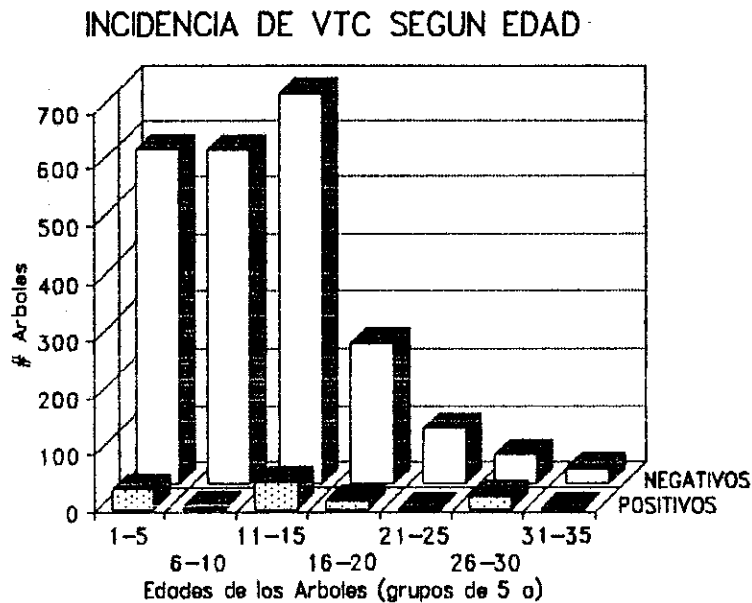


FIGURA 19. Edades de los árboles.

Desglosando los grupos de edades, las mandarinas positivas al VTC tienen 7, 12 y 15 años, asimismo, los casos positivos de tangelos son de 15 años y toronjas, 12 años. Los casos positivos

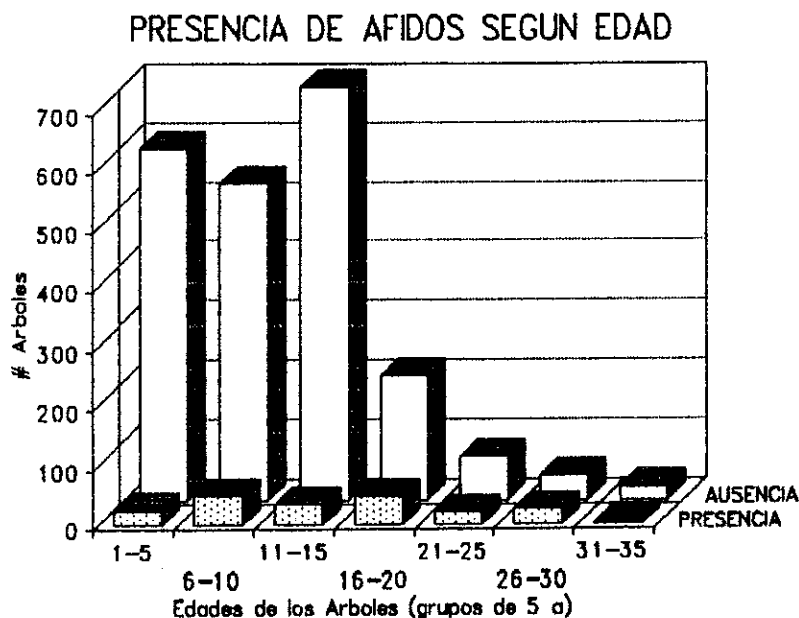
FIGURA 20. Incidencia de VTC según edad.



de naranjas tienen 12, 20 y 26 años, árboles maduros. No así para los calamondines que son los cítricos enfermos más jóvenes, ya que estos cultivos tienen entre 1 y 2 años de edad.

En la figura 21 se observan que las frecuencias máximas ocurren entre 16-20 años (18.9%), 21-25 años (24.0%) y 26-30 años (40.0%), por lo que podríamos decir que la presencia de áfidos aumenta (en %) según la edad de los árboles.

FIGURA 21. Presencia de áfidos según edad.



En la figura 22 se observa que los árboles de mayor edad presentan mayor porcentaje de sintomatologías de Tristeza provocadas por diversas causas ajenas a la enfermedad, así pues los máximos relativos se encontraron en 11-15 años (78.9%), 16-20 años (73.7%) y 21-25 años (94.8%). Tampoco se tomó en cuenta qué tanto influye la especie del cítrico, la región y la estación del año en el resultado.

## CONDICIONES VISUALES DE ARBOLES POR EDAD

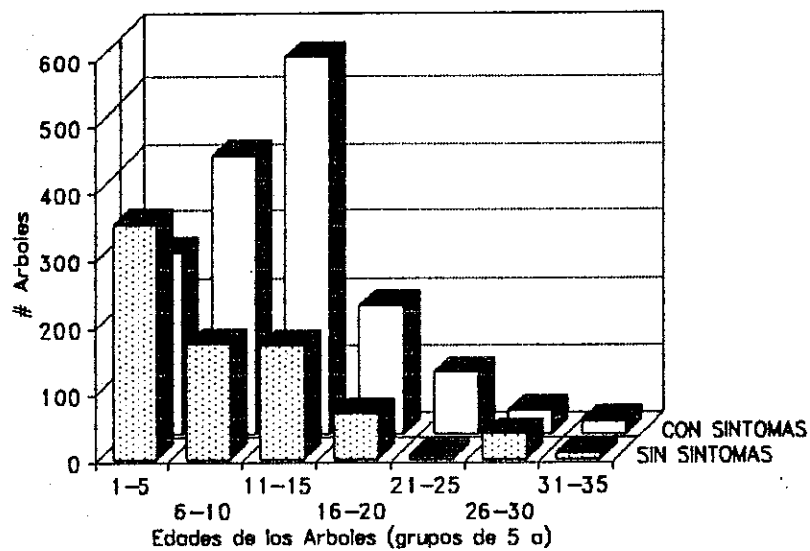


FIGURA 22. Condiciones visuales de árboles por edad.

## VII. DISCUSION

No puede afirmarse que los datos recabados correspondan en un cien por ciento a toda la República de Guatemala, ya que como se sabe, éste es el primer muestreo sistemático que representa de manera significativa a los cultivos de cítricos en Guatemala.

Este muestreo que representa aproximadamente el 5% de la población cítrica es lo suficiente significativo como para generalizar las tendencias de cultivo de cítricos y las condiciones que en estas regiones imperen. Este criterio fue el que se tomó de los lineamientos que sigue OIRSA para el estudio de cualquier enfermedad a nivel nacional que no se haya reportado anteriormente.

La colecta de muestras (febrero.93 - junio.94) comprende una región mayor a la prevista inicialmente, así pues, el muestreo comprendió a los departamentos de Jutiapa, Izabal, Chiquimula, Zacapa, Santa Rosa y Escuintla, más la expansión que comprendió a Guatemala, Suchitepéquez, Retalhuleu, Quetzaltenango, San Marcos, Alta Verapaz, Baja Verapaz y El Progreso.

Además, al inicio el estudio se definió para que la colecta de muestras perteneciera a árboles mayores de 5 años, sin embargo, el apareamiento de nuevas fincas constituyó la principal causa del muestreo de árboles jóvenes. El estudio se amplió y se sesgó también al incluir a los cultivos de calamondines.

La expansión del muestreo proporcionó datos más significativos, no sólo de la situación de la enfermedad en el país, sino también de otra serie de datos de interés:

1. Especies actuales de cítricos en producción (activos).

La actualización de estos datos indicó que en Guatemala no se cultivan solamente los cítricos de mayor importancia económica, sino que también hay un mínimo porcentaje de las otras especies.

2. Diversidad de patrones en uso.

Bajo la suposición que Guatemala era otro de los países que basaba sus cultivos exclusivamente en patrón de naranjo agrio, se comprobó que los cultivos no se limitan sólo al naranjo agrio, sino que hay diversidad de patrones en uso, lo cual disminuye las probabilidades de propagación de la enfermedad.

3. Edades de los cítricos productivos.

A nivel comercial, los cultivos citrícolas productivos tienden a tener entre 10-15 años, de lo que puede decirse que se trabajaron con cultivos maduros, lo que implica que es necesaria la creación de nuevos cultivos, de preferencia: 1) de material vegetativo certificado, y 2) utilizando nuevas variedades y patrones, tolerantes y resistentes tanto para Tristeza como para otras enfermedades.

4. Ingreso de la enfermedad.

Inicialmente se esperó encontrar la enfermedad en las regiones fronterizas con los países centroamericanos, una especie de 'frente de ingreso' de la enfermedad, por proceso de migración. Sin embargo, el estudio del área expandida reveló

que dadas las ubicaciones de las áreas enfermas, no era posible que hubieran ocurrido por proceso de migración del vector, lo que dejó en claro la otra alternativa, por utilización de material vegetativo infectado.

#### Serología ELISA.

A través de las técnicas de ELISA se corroboró la presencia de Tristeza reportada en 1992 por Lastra y colaboradores. Sin embargo, en este estudio se añade que no sólo hay presencia de cepas moderadas del Virus de la Tristeza de los Cítricos como reportaron en 1992, sino que en 1994 ya se han detectado cepas severas de la enfermedad.

Los árboles positivos al VTC (enfermos) se localizan en fincas y viveros determinados (son focos específicos): finca Las Delicias, Chicajón, Guachipilín, La Aurora y El Aguacate; y viveros de San Jerónimo y DIGESA (figura 3). Como no son tan extensas las áreas de estas fincas, es probable que si se aplican las medidas de control respectivas se logre el saneamiento de estas áreas afectadas.

Después de realizados los primeros ELISA's fue necesario repetir algunas muestras positivas en forma separada para poder determinar individualmente a los árboles infectados. Así pues, esto sucedió primero con las mandarinas en Chiquimula; segundo con los calamondines de Escuintla y El Progreso; tercero con varias muestras de Alta Verapaz (mandarina y toronja).

Baja Verapaz es la última de las regiones donde se han encontrado varias muestras positivas y dudosas. Falta identificar

individualmente a los árboles porque las muestras fueron recolectadas por grupos. En las regiones de este departamento hay duda en lo que respecta a unas muestras de naranja que se reportan cultivadas sobre patrón carrizo y rangpur. Dependiendo de la reconfirmación de estas muestras se modificará el índice de incidencia del VTC en el país y el índice de afección del VTC hacia naranjas.

De los casos enviados a los Estados Unidos, los resultados coincidieron con los obtenidos en Guatemala. Algunas de las inconveniencias en las lecturas de las placas fueron corregidas de formas equivalentes, como la práctica de preadsorber al conjugado con tejido sano a efecto de reducir el fondo de las placas, problema principalmente para las muestras del departamento de Baja Verapaz.

Los árboles positivos a Tristeza tienen entre 7, 12, 15, 20 y 26 años, y los árboles más jóvenes son los de calamondín, entre 1 y 2 años, siendo que hay mayor incidencia en las edades de 1-5 y 11-15 años, a nivel de porcentajes. No es posible asociar la incidencia del VTC con la edad del árbol porque el muestreo tuvo sesgo hacia árboles mayores de 5 años, con la excepción de los árboles de calamondín. Tampoco es posible determinar desde hace cuánto es que estos árboles se infectaron con el virus, si al momento de cultivo con material infectado o después porque sólo se han encontrado vectores poco eficientes del VTC y no se tienen datos previos acerca de la vida de los árboles, ni por qué es que no se ha logrado una dispersión masiva de la enfermedad por medio de algún vector, pero se estima que la infección ocurrió por

métodos mecánicos de cultivo, usando material infectado, importado posiblemente de Florida.

#### Prácticas de cultivo.

Tanto para naranjas como para mandarinas, el patrón más usado es el naranjo agrio seguido del Citrange carrizo. Sin embargo, el naranjo agrio se usa en mayor porcentaje para naranjas, esto puede deberse, en gran parte, a que los cultivos de naranjas fueron los primeros en implantarse y por lo tanto, por ser tan viejos, se hicieron con los patrones de uso de entonces: Citrus aurantium (naranjo agrio).

Macrophylla se utiliza muy poco para cultivos de naranjas y mandarinas, esto podría disminuir la probabilidad de susceptibilidad de estos cultivos a la enfermedad, ya que hasta el momento estos dos cítricos figuran dentro de los cítricos más susceptibles a Tristeza en Guatemala. Queda siempre la alternativa de implementar el uso de patrones resistentes, principalmente los híbridos Citrumelo swingle y Citranges carrizo y troyer.

Los casos positivos de VTC encontrados en patrones de limones y carrizo son poco comunes ya que ambos son tolerantes al virus.

Para el cultivo de limas ácidas, los patrones de mayor uso son macrophylla y agrio, por lo que se esperaría un alto porcentaje de incidencia de Tristeza en éstas. Sin embargo, la incidencia de Tristeza en limas ácidas es nula hasta el momento, de hecho, contrario a lo que se esperaba, no se encontró árbol alguno injertado sobre macrophylla que estuviera infectado por el VTC, aún cuando éstos se reportan como muy susceptibles al virus. Es

probable que este comportamiento se deba a la posibilidad de que no existan vectores o focos de enfermedad cercanos a las áreas de cultivo o incluso a que el material inicial de cultivo fuera libre del virus. Además, para poder hacer una conclusión definitiva respecto a la incidencia nula de Tristeza en limas ácidas hay que hacer un muestreo total en la república, cultivos que no se tomaron en cuenta anteriormente y principalmente cultivos que se hallen en los alrededores de los focos de la enfermedad.

Para el cultivo de toronjas, tangelos y otros cítricos minoritarios, se tienen en uso principalmente a agrio y macrophylla, y en menores porcentajes a carrizo y otros. De estas, las árboles positivos al VTC están sobre patrón agrio, esto explica el alto porcentaje de incidencia (13.6%) en estos cultivos.

El mismo caso se da con mandarinas, los árboles positivos están plantados sobre patrón agrio y este patrón representa el (38.1%) de uso para este cultivo.

El caso de las naranjas es distinto, el patrón agrio sigue siendo el de mayor uso, sin embargo, la mayoría de las muestras reportadas positivas y dudosas están plantadas sobre el patrón carrizo y otras sobre rangpur. De aquí que se crea conveniente la reconfirmación de la serología para estas muestras y en todo caso la reconfirmación de el patrón de cultivo.

Afidos.

Según los resultados obtenidos, la incidencia del VTC no implica presencia de áfidos. La figura 12 que representa las densidades de poblaciones e incidencia de VTC respecto a la

presencia de áfidos es quizá la única que se acople a los resultados esperados. Esto favorece la posibilidad que el fenómeno de dispersión del VTC a través de vectores sea nula y que a través de un control efectivo de vectores específicos al VTC, no sea posible la dispersión de la enfermedad. Pero si hay Tristeza en Guatemala, la presencia de los vectores específicos a la enfermedad definitivamente acelerará el proceso de dispersión.

Dentro del estudio se observó que la presencia de áfidos en los cultivos se da en muy bajo porcentaje: 1) entre regiones (fincas, cultivos), y 2) entre árboles en cada región. La presencia de áfidos aumenta (en %) según la edad de los árboles; sin embargo, no se tomó en cuenta qué tanto influye la especie del cítrico, la región y la estación del año en el resultado.

No se encontró patrón alguno respecto a la especie de cítrico. En los calamondines, la presencia de áfidos es nula, pero dada la incidencia tan alta del VTC en estos cultivos, la presencia de áfidos podría provocar un foco de dispersión de la enfermedad. Quizás aquí intervenga a favor el hecho que a los cultivos de calamondín se les presten los cuidados adecuados necesarios para no tener presencia de áfidos ni de otras plagas. Esta misma razón dejaría pendiente de conocer si alguna especie de los áfidos vectores pudiera tener predilección por calamondines y poder desarrollar ciclos de vida en los mismos.

Dentro de los patrones de cítricos con mayor presencia de áfidos están carrizo (22.9%) y agrio (9.2%), los porcentajes de los otros patrones son menores y en el caso de trifoliata, la presencia

de áfidos es nula.

Dentro de los áfidos colectados se notó que las especies son muy variadas, dentro de las colectas realizadas para el estudio no se encontraron especímenes del Toxoptera citricidus, tan sólo algunos especímenes de Toxoptera aurantii, aunque en muy bajo porcentaje, de lo cual podría deducirse que si no llegara a tener una alta tasa de reproducción, no representaría peligro para los cultivos de cítricos.

Dado que todavía no se reportan casos de presencia de T. citricidus en Guatemala, es importante implementar monitoreos continuos y amplios (i.e., que abarquen franjas, perímetros gruesos) para detectar la entrada del vector a Guatemala y en tal caso crear medidas de control y/o erradicación (p.ej., control biológico).

Si las serologías de los árboles dudosos se confirman como positivas, entonces se avisora un gran problema debido a dos razones:

1. en Guatemala se daría el caso que el patrón Citrange carrizo y lima rangpur son susceptibles a Tristeza, lo cual sería excepcional ya que éstos se reportan como tolerantes a la enfermedad;
2. ya existen informes oficiales de la presencia del Toxoptera aurantii, si la poblaciones de Toxoptera aurantii llegaran a aumentar, la enfermedad de la Tristeza es muy propensa a que comience a diseminarse, principalmente entre aquellas especies de cítricos con altos índices de áfidos como lo son carrizo y agrío; y

3. si el T. citricidus (vector más eficiente del VTC) ingresa a Guatemala, todo el proceso se aceleraría causando grandes daños, ya que el 69.6% de los cultivos está basado en los patrones C. carrizo, C. aurantium y C. macrophylla (los patrones con mayores incidencias de VTC en Guatemala).

Por otro lado, no es factible afirmar que no influye la época del año, ya que si bien el muestreo duró aproximadamente 16 meses, este se realizó por regiones distintas en distintas épocas del año. Sería conveniente remitirse a estudiar cada región durante períodos más largos, para verificar si la presencia de áfidos es o no constante, y si las poblaciones son constantes o aumentan aceleradamente.

#### Condiciones visuales de los árboles.

De la figura 13, la prueba de correlación indicó que la sintomatología visual de los árboles no implica incidencia del VTC, es más, la relación hallada indica una dependencia de forma inversa. Por consiguiente, la condición visual de los árboles no debe tomarse como parámetro para guiarse si un árbol puede estar enfermo de Tristeza. Un gran porcentaje de árboles presentan sintomatologías descriptivas a Tristeza, por lo que se esperaría que un porcentaje equitativo estuviera enfermo de Tristeza, sin embargo, no ocurrió así. La mayor subpoblación es aquella visualmente sintomática pero sin VTC y la menor subpoblación la conforman aquellos que teniendo condición de enfermos sí padecen presencia de VTC.

Sólo algunos de los árboles que presentan los síntomas padecen de Tristeza, lo que indica que en el estudio no se tomaron en cuenta los 'síntomas cruzados' que pueden producir otras enfermedades de cítricos, o que existen muchas otras causas por las cuales un árbol presente síntomas similares, como otras enfermedades o deficiencias nutricionales. Además, los síntomas que se consideraron como 'característicos' son los reportados en otros países, no se tomó en consideración las características climáticas que imperan en las regiones citrícolas de Guatemala.

En el caso de calamondín, la sintomatología de estas plantas va en contradicción con la serología de las mismas, los calamondines son los cítricos con mayor incidencia de Tristeza (13.6%).

La contradicción del calamondín se debe probablemente a que en la práctica de cuidados de este cultivo les podan continuamente las hojas maduras y por ello no es posible observar los síntomas en las hojas tan tiernas. También puede ser que siendo árboles muy jóvenes y dado que el fin de los árboles es para exportación, las condiciones físicas las preparan para ser las mejores posibles.

Al inicio del estudio se le dió cierta preferencia a los cultivos de calamondín, una de las razones fue porque no se tenía información alguna de este cultivo referente al VTC, por lo tanto, puede que no sólo sea susceptible sino que también sea asintomático. Un estudio posterior continuado y supervisado de calamondines respecto a Tristeza podría dar resultados que apoyen las causas aquí propuestas.

Dentro de la población de cítricos, los árboles de mayor edad presentan mayor porcentaje de sintomatologías de Tristeza, provocadas quizá por diversas causas ajenas a la enfermedad. Puede estar también relacionado como círculo vicioso al hecho que con la edad también aumenta la presencia de áfidos en los cítricos y también pueden influir la especie del cítrico, la región y la estación del año en los resultados.



En Guatemala, en las limas ácidas de variedades criollo y persa no se detectó al virus, aún cuando eran injertadas sobre C. macrophylla.

En Guatemala, las mandarinas, tangelos y toronjas muestran mayor incidencia al Virus de la Tristeza que las naranjas.

En Guatemala la condición general de un árbol cítrico de cultivo tradicional es:

- 1) libre de Tristeza,
- 2) libre de áfidos, y
- 3) con síntomas visuales de la enfermedad causadas por diversas causas.

En Guatemala la condición de los calamondines es: 1) libres de áfidos, 2) sin síntomas aparentes de la enfermedad, y 3) con una incidencia del VTC del 13.9%, de cepas severas.

A pesar que ya existe Tristeza en Guatemala, no se han reportado casos de muertes masivas en las plantaciones.



## VIII. CONCLUSIONES

La enfermedad de la Tristeza de los Cítricos se encuentra en Guatemala, tanto cepas severas como moderadas. Su presencia se debe probablemente al uso de material vegetativo infectado como fuente para injertos y acodos.

El índice promedio de incidencia de Tristeza es de 3.9%.

En Guatemala, los árboles de especies de calamondines y mandarinas son los que presentan mayores índices de incidencia del Virus de la Tristeza de los Cítricos.

En Guatemala, el patrón agrario (*C. aurantium*) es el que presenta mayor incidencia de afección del Virus de la Tristeza de los Cítricos.

La incidencia del VTC no depende de la edad del árbol.

La incidencia del VTC no implica presencia de áfidos ni síntomas visuales del árbol.

La condición visual de los árboles no es buen parámetro guía para identificar árboles con problemas de Tristeza.

La disposición geográfica de árboles VTC-positivos señala que las áreas afectadas son focos, por lo que es posible que sean erradicados del país.

De los casos positivos a Tristeza encontrados, hay 52.1% de casos severos y 47.9% de casos moderados de la enfermedad.

De los casos de Tristeza severa, el 67.3% se halló en especies de calamondín, las especies restantes pertenecían a naranjas sobre patrones agrario y carrizo.



## IX. RECOMENDACIONES

Se recomienda preparar áreas para nuevos cultivos con las características óptimas de resistencia a enfermedades. Asimismo, implementar el uso de patrones resistentes a Tristeza como Citrumelo swingle y sustituir al naranjo agrio (*C. aurantium*).

Se sugiere implementar monitoreos continuos y amplios para detectar la entrada del vector a Guatemala y crear medidas de control y/o erradicación.

Realizar un estudio de áfidos en cítricos y determinar cuáles son las poblaciones existentes. Además, estudiar cada región durante períodos más largos para determinar sus ciclos de vida y verificar si la presencia de áfidos es o no constante.

La condición visual de los árboles no debe ser utilizado como parámetro guía de identificación de árboles con problemas de la enfermedad de la Tristeza.

Realizar un estudio que contemple las variaciones de sintomatologías visuales de árboles y su relación con la incidencia de la enfermedad.

Realizar un muestreo en el departamento de Jalapa, que aunque no es un departamento importante en producción de cítricos, se encuentra en una localización media entre focos de la enfermedad.

Ampliar el muestreo del departamento de El Progreso, para aumentar la colecta de muestras de limas ácidas y determinar su afección por Tristeza.

Como se conocen árboles sanos, se sugiere tomar material de ellos y prepararlos para utilizarlo en minimizar los problemas de exceso de fondo en las placas. Además, se sugiere utilizar material sano de cítrico de la misma especie que las muestras que se estén analizando.

Preparar pool de blancos o pool de tejido sano a partir de muestras del país, y utilizarlo cada vez en las placas, para tomar las lecturas de éstos como posibles puntos de corte.

En las fincas con árboles positivos a la serología de ELISA: finca Las Delicias, Chicajón, Guachipilín, La Aurora, El Aguacate, y viveros de San Jerónimo y DIGESA se sugiere como control inmediato:

1. Cerrar temporalmente los viveros (i.e., cuarentena fitosanitaria).
2. Hacer las pruebas de ELISA a TODOS los árboles pertenecientes a los viveros y monitorear la presencia de áfidos en la región.
3. Eliminar los árboles que resulten infectados.
4. Conseguir los registros de los árboles "procreados" a partir de las especies enfermas y de la actual localización de las mismas para muestrear las especies hijas infectadas y tomar las medidas de control necesarias (como las anteriores).

Es prioritario que las autoridades pertinentes se organicen para crear la necesidad de erradicar la enfermedad de la Tristeza de los Cítricos.

Que el Comité Nacional de Tristeza de los Cítricos (CNTC) implemente y lleve a cabo las medidas fitosanitarias respectivas:

1. cuarentena fitosanitaria;
2. erradicación de los árboles enfermos;
3. creación de comités de divulgación de la enfermedad de la Tristeza.

Además de:

4. creación de jardines clonales con control sanitario;
5. implementación de variedades y patrones resistentes a Tristeza;
6. creación de un laboratorio para cultivo de tejidos para estudios posteriores de la enfermedad en Guatemala; y
7. implementación de un laboratorio para realizar la certificación de material vegetativo.

Imponer cuarentena a los viveros estatales, ya que aparentemente son éstos los focos originales de infección, que propician la dispersión de la enfermedad.



## X. LITERATURA CITADA

- Borbón, J.C., A.J. Abud, P.J. Millán, J. Asiático y N. Abreu. 1992. Presencia de la Tristeza de los Cítricos y Toxoptera citricidus (Kirkaldy) en la República Dominicana. In: Lastra, R.; R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey y R.K. Yokomi. Citrus Tristeza Virus and Toxoptera citricidus in Central America: Development of Management Strategies and Use of Biotechnology for Control. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.
- Calderón, P. 1991. Situación Actual del Virus de la Tristeza en el Cultivo de Cítricos en Honduras. In: Lastra, R.; R. Lee, M. Rocha-Peña y C.L. Niblett Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Cermeli, M. 1984. Especies de Afidos que Atacan los Cítricos en Venezuela. In: Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Maracay, Venezuela. Publicación Especial No. 14-02, Trabajo No. 35.
- Claramount, J. 1991. Situación Actual del Virus de la Tristeza de los Cítricos en El Salvador. In: Lastra, R.; R. Lee, M. Rocha-Peña, y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- De Mata, M. 1993. Virus de la Tristeza de los Cítricos. In: De Mata, M.; y Granados, J.C. Virus de la Tristeza Amenaza la Citricultura del País. Seminario. p 11-18. Universidad de la Valle de Guatemala, Guatemala.
- Fernández, O.M. 1991. Situación del Virus de la Tristeza de los Cítricos en Costa Rica. In: Lastra, R.; R. Lee, M. Rocha-Peña, y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Fernandez, O. y J.A. Bernal. 1991. Situación Actual del Virus de la Tristeza de los Cítricos en Panamá. In: Lastra, R.; R. Lee, M. Rocha-Peña y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Flores, L.A. 1993. Impacto Económico ante la Ocurrencia del Virus de la Tristeza (VTC) de los Cítricos (Citrus sp.) en Guatemala. Tesis. Universidad Rafael Landívar, Guatemala. 106 pp.
- Garnsey, S.M. 1991. Citrus Tristeza Virus. In: Lastra, R.; R. Lee, M. Rocha-Peña y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and

- the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Garnsey, S.M. y M. Cambra. 1991. Enzyme Linked Immunosorbent Assays for Citrus Pathogens. In: Lastra, R.; R. Lee, M. Rocha-Peña y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Garnsey, S.M. y M. Cambra. 1992. Serological Diversity among CTV Isolates and Its Effects on Diagnosis. In: Lastra, R.; R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey y R.K. Yokomi. Citrus Tristeza Virus and Toxoptera citricida in Central America: Development of Management Strategies and Use of Biotechnology for Control. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.
- Garnsey, S.M., E.L. Civerolo, D.J. Gumpf, R.K. Yokomi y R.F. Lee. 1991. Development of a Worldwide Collection of Citrus Tristeza Virus Isolates. In: *Proc. 11th Inter. Organ. Citrus Virol.* 113-120. Riverside, California.
- Gottwald, T.R. 1992. CTV Epidemiology and Disease Survey Strategies. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey, y R.K. Yokomi. Citrus Tristeza Virus and Toxoptera citricida in Central America: Development of Management Strategies and Use of Biotechnology for Control. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.
- Granados, J.C. 1993. Diagnóstico para la Detección del Virus de Tristeza de Cítricos (VTC) y de su Vector Toxoptera Citricida. In: De Mata, M. y J.C. Granados. Virus de la Tristeza Amenaza la Citricultura del País. Seminario. p 28-36. Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala.
- Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey y R.K. Yokomi, R.K. 1992. Summary of Information on Presence of Citrus Tristeza Virus and Its Efficient Aphid Vector Toxoptera citricida in the Caribbean Basin. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey y R.K. Yokomi. Citrus Tristeza Virus and Toxoptera citricida in Central America: Development of Management Strategies and Use of Biotechnology for Control. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.
- Marcó, G. 1991. Citrus Tristeza Virus in Argentina. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.
- Monteverde, E.E., N.B. de Martínez, A. Ordozgoitti, F. Geraud, J.C. Marín y G. Faillace, G. 1977. La Tristeza de los

Cítricos. Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Maracay, Venezuela. Boletín Informativo No. 1, 24 pp.

Monteverde, E.E., J.R. Ruíz, y M. Espinoza. 1984. Observaciones Preliminares sobre las Razas del Virus de la Tristeza presentes en Venezuela. *Agronomía Tropical* (Venezuela) 34(1-3):189-198.

Niblett, C.L. 1991. Application of Complementary DNA (cDNA) Techniques to Research and Control of Citrus Tristeza Virus (CTV). In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Owen, D.B. 1962. *Handbook of Statistical Tables*. p 27-46. Addison-Wesley Publishing Co., Massachusetts.

Powell, C.A. 1992. Progress on CTV Strain Differentiation. Serological Methods. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey y R.K. Yokomi. Citrus Tristeza Virus and Toxoptera citricidus in Central America: Development of Management Strategies and Use of Biotechnology for Control. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.

Reuther, W. 1991. The Citrus Clonal Program. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Reyes, F.J. y J.R. Ruíz. 1984. Comportamiento en Vivero de Patrones Cítricos Tolerantes a Tristeza. *Agronomía Tropical* 34(4-6):35-41.

Rocha-Peña, M. 1991. Situación Actual del Virus de la Tristeza de los Cítricos en México. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña y C.L. Niblett. Workshop on Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricida in Central America and the Caribbean Basin. CATIE, Turrialba, Costa Rica.

Rocha-Peña, M.A. y J.E. Padrón-Chávez. 1992. Precauciones y Usos de Portainjertos de Cítricos Tolerantes al Virus de la Tristeza. Publicación especial No. 2. INIFAP/SARH. Campo Experimental Terán, México. 48 pp.

Rocha-Peña, M.A. y M.A. Peña. 1992. Situación Actual del Virus Tristeza los Cítricos en México. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey y R.K. Yokomi. Citrus Tristeza Virus and Toxoptera citricidus in Central America: Development of Management Strategies and Use of Biotechnology for Control. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.

- Rocha-Peña, M.A.; y Peña, M.A. 1992. El Virus de la Tristeza y sus Insectos Vectores: Amenaza Potencial para la Citricultura en Mexico. Publicación especial No. 1. INIFAP/SARH. Campo Experimental Terán, México. 48 pp.
- Roistacher, C.N. 1977. Elimination of Citrus Pathogens in Propagative Budwood. I. Budwood Selection, Indexing and Ther motherapy. *Proc. Int. Soc. Citriculture* 3:965-972.
- Roistacher, C.N.; y Moreno, P. 1991. The Worldwide Threat from Destructive Isolates of Citrus Tristeza Virus - A Review. In: *Proc. 11th Inter. Organ. Citrus Virol.* (1991) 7-19. Riverside, California.
- Salguero, V. 1992. Citricultura y Citrus Tristeza Virus/Toxoptera citricidus (Kirkaldy) en Guatemala. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey y R.K. Yokomi. Citrus Tristeza Virus and Toxoptera citricidus in Central America: Development of Management Strategies and Use of Biotechnology for Control. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.
- Salguero, V. 1993. Historia y Dispersión del Virus de la Tristeza de los Cítricos y sus Vectores. In: De Mata, M. y J.C. Granados. Virus de la Tristeza Amenaza la Citricultura del País. Seminario. p 1-10. Universidad del Valle de Guatemala, Guatemala.
- Youtsey, C.O. 1992. The Florida Citrus Budwood Registration Program. History. In: Lastra, R., R. Lee, M. Rocha-Peña, C.L. Niblett, F. Ochoa, S.M. Garnsey y R.K. Yokomi. Citrus Tristeza Virus and Toxoptera citricidus in Central America: Development of Management Strategies and Use of Biotechnology for Control. Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela.
- Zaparolli, E.R. 1991. Situación de la Producción, Industria y Comercialización de Cítricos en Guatemala. Proyecto Desarrollo de la Fruticultura, MOSCAMED. Guatemala. 45 pp.







## Preparación de soluciones

**Buffer salino de fosfatos, PBS**

8.00 g NaCl

0.20 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>2.90 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12 H<sub>2</sub>O(1.15 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> anhidro)

0.20 g KCl

Disolver en 1.0 L de agua.

El pH debe ser 7.2 a 7.4.

**Buffer de lavado, PBST**

1.0 L PBS

0.5 mL Tween 20

Almacenar a 4°C.

**Buffer de extracción**

1.0 L PBST

20.0 g PVP40

Almacenar a 4°C.

**Buffer de sustrato**

10 mL dietanolamina

Diluir a 100 mL con agua para tener una solución al 10%.

El pH debe ser de 9.8.

Esta solución debe ser fresca.

Mantenerla en oscuridad.

Agregar las tabletas de sustrato a concentración de 0.6 mg/mL.

**Buffer de cubierta**1.59 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>2.93 g NaHCO<sub>3</sub>0.20 g NaN<sub>3</sub>

Disolver en 1.0 L de agua.

El pH debe ser 9.6.

Almacenar a 4°C.

Al momento de cubrir la placa, agregar el anticuerpo de cubierta a la concentración respectiva (DAS o I-DAS).

**Buffer para segundo anticuerpo**

1.0 L buffer de cubierta.

El pH debe ser 9.6.

Al momento de cubrir la placa, agregar el segundo anticuerpo a una concentración de 1:5000.

**Buffer de conjugado**

1.0 L PBST

20.0 g PVP40

2.0 g ovoalbúmina

0.20 g NaN<sub>3</sub>

Almacenar a 4°C.

Agregar el conjugado a una dilución 1:2000 ó 1:5000 para DAS o I-DAS respectivamente.

## APENDICES

### APENDICE A. CROQUIS UTILIZADOS Y PREPARACION DE SOLUCIONES

Para el efecto de registro de datos de los árboles y localización de cada árbol en una finca, se traza en una hoja de portada un croquis que esquematice a la finca y la ubicación de los árboles debidamente identificados y en la papeleta siguiente (y cuantas más sean necesarias) identificándola por finca y fecha de colecta, se apuntan los datos por árbol, tal y como se muestra en los croquis siguientes:

---

---

#### HOJA DE COLECTAS

Finca: \_\_\_\_\_

Localización: \_\_\_\_\_

Fecha de colecta: \_\_\_\_\_

#### CROQUIS DE LA FINCA





APENDICE B. DATOS BRUTOS DE LAS PLACAS DE ELISA

CUADRO 9. Puntos de corte de las placas de ELISA.

PLACA No.	TIPO PLACA	LECTURA hrs	PUNTO CORTE	PLACA No.	TIPO PLACA	LECTURA hrs	PUNTO CORTE
3	DAS	2:00	0.375	28	I-DAS	1:00	0.041
5	DAS	2:00	0.074	30	DAS	1:00	0.289
6	DAS	2:00	0.052	31	DAS	1:00	1.016
7	DAS	2:00	0.104	32	I-DAS	1:00	0.352
8	DAS	2:00	1.004	33	I-DAS	1:00	1.066
9	DAS	1:20	0.217	34	DAS	1:00	0.163
10	DAS	1:30	0.159	35	DAS	1:00	0.191
14	DAS	1:00	0.102	36	DAS	2:00	0.442
15	DAS	1:00	0.104	37	DAS	2:00	0.382
16	DAS	1:00	0.219	38	DAS	2:00	0.303
17	DAS	1:00	0.122	39	DAS	2:00	0.564
19	I-DAS	2:00	0.017	40	DAS	2:00	0.388
21	DAS	1:00	0.526	41	DAS	2:00	0.577
22	DAS	1:00	0.00	42	DAS	2:00	0.428
23	DAS	1:40	0.204	43	DAS	2:00	0.585
23	DAS	1:30	0.068	44	DAS	1:30	0.361
24	DAS	2:00	0.346	45	DAS	1:30	0.338
24	DAS	1:30	0.139	46	I-DAS	0:40	0.248
25	DAS	1:15	0.164	47	I-DAS	0:40	0.332
25	DAS	1:00	0.782	48	DAS	1:30	0.051
26	DAS	1:15	0.088	49	DAS	1:30	0.078
26	DAS	1:00	0.346	50	I-DAS	1:30	0.052
27	I-DAS	1:00	0.065	51	I-DAS	1:30	0.138



**APENDICE C. CODIGOS UTILIZADOS PARA LA IDENTIFICACION DE DATOS**

+-----+  
| DEPARTAMENTOS |  
+-----+

- |                |                     |                   |
|----------------|---------------------|-------------------|
| 1 - JUTIAPA    | 6 - ESCUENTLA       | 11 - SAN MARCOS   |
| 2 - ZACAPA     | 7 - GUATEMALA       | 12 - ALTA VERAPAZ |
| 3 - IZABAL     | 8 - SUCHITEPEQUEZ   | 13 - BAJA VERAPAZ |
| 4 - CHIQUIMULA | 9 - RETALHULEU      | 14 - EL PROGRESO  |
| 5 - SANTA ROSA | 10 - QUETZALTENANGO |                   |

I.

+-----+  
| CITRICOS |  
+-----+

- |                |                |
|----------------|----------------|
| 1 - NARANJA    | 4 - CALAMONDIN |
| 2 - MANDARINA  | 5 - OTROS      |
| 3 - LIMA ACIDA |                |

II.

+-----+  
| VARIEDADES |  
+-----+

1- NARANJA	2- MANDARINAS	3- L. ACIDA	4- CALAMONDIN	5- OTROS
1 - VALENCIA	7 - DANCY	12 - CRIOLLO	14 - CALAMONDIN	15 - LIMA DULCE
2 - WASHINGTON	8 - CLEOPATRA	13 - PERSA	(Citrus mitis)	16 - TORONJA
3 - JAFFA	9 - CLEMENTINA			17 - TANGELO
4 - RABINAL	10 - KING, KARA			18 - DESCONOCIDOS
5 - AGRIO	11 - OTRAS MAND's			19 - OTROS, VARIOS
6 - OTRAS NARANJAS	China			Macrophylla
Hamlin	Queen			Limon Lisboa
Cuyuta	Satsum			Limon Real
Victoria	California			Limon Eureka
Pineapple	Fremor			
Carter Navel				
Mineola				

III.

+-----+  
| PATRONES |  
+-----+

- |                 |                |                              |
|-----------------|----------------|------------------------------|
| 1 - CARRIZO     | 5 - TAIWANICA  | 9 - L. REAL                  |
| 2 - AGRIO       | 6 - L. CRIOLLO | 10 - L. EUREKA               |
| 3 - MACROPHYLLA | 7 - L. RANGPUR | 11 - CALAMONDIN (PIE FRANCO) |
| 4 - TRIFOLIATA  | 8 - L. RUGOSO  | 12 - DESCONOCIDOS            |
|                 |                | 13 - OTROS                   |
|                 |                | Toronja                      |
|                 |                | Lima                         |
|                 |                | Naranja                      |
|                 |                | Persa                        |

ABREVIATURAS:

DPT	Departamento	ED	Edad (anos)	AF	Afidos	ELISA 0	- Negativo
MST	Muestra	DAS	ELISA dir.	0	- Ausencia	1	- Positivo
# AR/MST	# arboles/nst	DAS-I	ELISA ind.	1	- Presencia	CEPAS	ELISA
CIT	Citrico	A1	Lectura 1	CON	Condicion	0	- Ninguna
VAR	Variedad citrico	A2	Lectura 2	0	- Sana	1	- Moderada
PAT	Patron	Xi	Promedio	1	- Enferma	2	- Severa



# APENDICE D. DATOS BRUTOS GENERALES

DPT	AR/		CIT	VAR	ED	PAT	a	AF	CON	DAS			DAS - I			TRISTEZA		OBSERVACIONES
	MST	MST								A1	A2	X das	A1	A2	X i	ELISA	CEPA	
1	1	1	1	2	2	7	0	1	0.02	0.01	0.015				0	0	5, 0.074	
1	2	4	1	1	2	7	0	1	0.02	0.07	0.045				0	0		
1	3	3	1	2	2	7	0	1	0.02	0.02	0.02				0	0		
1	4	2	2	10	12	7	0	1	0.03	0.04	0.035				0	0		
1	5	1	3	12	6	7	0	1	0.03	0.03	0.03				0	0		
1	6	4	1	1	2	6	0	1	0.03	0.06	0.045				0	0		
1	7	3	2	10	12	7	0	1	0.03	0	0.015				0	0		
1	8	5	3	12	8	10	0	1	0.06	0.03	0.045				0	0		
1	9	5	3	12	8	10	0	1	0.04	0.03	0.035				0	0		
1	10	4	3	12	8	10	0	1	0.01	0.02	0.015				0	0		
1	11	2	1	1	2	10	0	1	0.02	0.02	0.02				0	0		
1	12	4	1	1	2	8	0	1	0.04	0.04	0.04				0	0		
1	13	4	1	1	2	8	0	1	0.05	0.05	0.05				0	0		
1	14	4	1	1	2	8	0	1	0.06	0.05	0.055				0	0		
1	15	4	1	1	2	7	0	1	0.02	0.04	0.03				0	0		
1	16	4	1	1	2	8	0	1	0.05	0.05	0.05				0	0		
1	17	3	1	1	2	8	0	1	0.02	0.03	0.025				0	0		
1	18	4	1	1	2	8	0	1	0.02	0.04	0.03				0	0		
1	19	3	1	1	2	8	0	1	0	0.03	0.015				0	0		
1	20	1	1	1	2	8	0	1	0.02	0.01	0.015				0	0		
1	21	4	2	7	9	10	0	1	0.04	0.05	0.045				0	0		
1	22	4	2	7	9	10	1	1	0.06	0.03	0.045				0	0		
1	23	4	2	7	9	10	0	1	0.06	0.04	0.05				0	0		
1	24	4	2	7	9	10	0	1	0.07	0.06	0.065				0	0		
1	25	4	2	7	9	10	0	1	0.02	0.02	0.02				0	0		
1	26	4	2	7	9	10	0	1	0.02	0.02	0.02				0	0		
1	27	4	2	7	9	10	0	1	0.02	0.02	0.02				0	0		
1	28	4	1	1	2	10	0	1	0.02	0.03	0.025				0	0		
1	29	4	1	1	2	10	0	1	0.04	0.05	0.045				0	0		
1	30	3	1	2	2	10	0	1	0.03	0.04	0.035				0	0		
1	31	2	1	2	2	10	0	1	0.05	0.05	0.05				0	0		
1	34	3	1	2	8	11	0	1	0.31	0.29	0.3				0	0	21, 0.526	
1	35	4	1	1	8	11	0	1	0.05	0.04	0.045				0	0	5, 0.074	
1	36	1	2	7	8	11	0	1	0.02	0.02	0.02				0	0		
1	37	4	1	1	8	11	0	1	0.03	0.03	0.03				0	0		
1	38	4	1	1	8	11	0	1	0.05	0.03	0.04				0	0		
1	39	4	1	1	8	11	0	1	0.04	0.06	0.05				0	0		
1	40	4	1	2	8	11	0	1	0.04	0.03	0.035				0	0		
1	41	4	1	2	2	20	0	1	0.03	0.03	0.03				0	0		
1	42	4	1	2	2	20	0	1	0.03	0.03	0.03				0	0		
1	43	4	1	1	2	20	0	1	0	0	0				0	0	7, 0.104	
1	44	4	1	1	2	20	0	1	0	0	0				0	0		
1	45	4	2	11	2	15	0	1	0	0	0				0	0		
1	46	4	1	1	2	15	0	1	0.07	0.06	0.065				0	0		
1	47	3	1	2	2	15	0	1	0.04	0.04	0.04				0	0		
1	48	4	5	17	2	20	0	1	0.09	0.08	0.085				0	0		
1	49	3	3	13	2	20	0	1	0.07	0.07	0.07				0	0		
1	50	4	1	1	2	8	0	1	0.1	0.1	0.1				0	0		

1 51	2	2	7	2 10	0	1	0.02	0.02	0.02	0	0
1 52	4	1	1	2 7	0	1	0.02	0.03	0.025	0	0
1 53	3	1	2	2 8	0	1	0	0	0	0	0
1 54	4	1	1	2 8	1	1	0.04	0.03	0.035	0	0
1 55	4	1	1	2 9	0	1	0.05	0.06	0.055	0	0
1 56	4	3	13	2 5	0	1	0.07	0.08	0.075	0	0
1 57	4	3	13	2 5	0	1	0.07	0.06	0.065	0	0
1 58	4	3	13	2 5	0	1	0.07	0.07	0.07	0	0
1 59	4	3	13	2 5	0	1	0.02	0.02	0.02	0	0
1 60	4	3	13	2 5	0	1	0.04	0.04	0.04	0	0
1 61	4	3	13	2 5	0	1	0	0.02	0.01	0	0
1 62	4	3	12	6 5	0	1	0.04	0.04	0.04	0	0
1 63	4	3	12	6 5	0	1	0.1	0.08	0.09	0	0
1 64	4	3	12	6 5	0	1	0.08	0.08	0.08	0	0
1 65	4	3	12	6 5	0	1	0.09	0.09	0.085	0	0
1 66	4	3	12	6 4	0	1	0.31	0.3	0.305	0	0
										21, 0.526	
2 1	3	3	12	2 5	0	1	0.04	0.02	0.03	0	0
2 2	4	3	12	2 5	0	1	0.02	0.02	0.02	0	0
2 3	4	3	12	3 5	1	1	0.02	0.02	0.02	0	0
2 4	1	3	12	12 5	0	1	0	0.02	0.01	0	0
2 5	4	3	12	3 5	0	1	0.09	0.07	0.08	0	0
2 6	4	3	12	3 5	0	1	0.09	0.07	0.08	0	0
2 7	4	3	12	3 5	0	1	0.05	0.03	0.04	0	0
2 8	4	3	12	3 5	0	1	0.1	0.08	0.09	0	0
2 9	4	3	12	3 5	0	1	0.1	0.1	0.1	0	0
2 10	4	3	12	3 5	0	1	0.02	0.03	0.025	0	0
2 11	4	1	1	12 5	1	0	0.01	0.04	0.025	0	0
2 12	4	1	1	12 5	1	1	0.08	0.02	0.05	0	0
2 13	4	3	12	3 5	0	1	0.06	0.05	0.055	0	0
2 14	4	3	12	3 5	0	1	0.06	0.05	0.055	0	0
2 15	4	3	12	3 5	0	1	0.06	0.06	0.06	0	0
2 16	4	3	13	3 5	0	0	0.92	0.55	0.735	0	0
2 17	4	3	13	3 5	0	0	0.81	0.89	0.85	0	0
2 18	4	3	13	3 5	0	0	0.88	0.89	0.885	0	0
2 19	1	5	19	3 5	0	1	0.87	0.87	0.87	0	0
2 20	4	3	13	3 5	0	1	0.89	0.93	0.91	0	0
2 21	1	3	13	3 5	0	1	0.67	0.51	0.59	0	0
2 22	1	5	18	12 5	0	1	0.84	0.84	0.84	0	0
2 23	1	3	12	6 5	0	1	0.75	0.78	0.765	0	0
2 24	4	3	13	3 5	0	1	0.82	0.82	0.82	0	0
2 25	4	3	13	3 5	0	1	0.92	0.87	0.895	0	0
2 26	4	3	13	3 5	0	1	0.97	0.96	0.965	0	0
2 27	4	3	13	3 10	0	1	0.9	0.89	0.895	0	0
2 28	4	3	13	3 10	0	1	0.85	0.84	0.845	0	0
2 29	4	3	13	3 10	0	1	0.93	0.79	0.86	0	0
2 30	4	3	13	3 10	0	1	0.83	0.81	0.82	0	0
2 31	4	3	13	3 10	0	1	0.95	0.91	0.93	0	0
2 32	4	3	13	3 10	0	1	0.93	0.9	0.915	0	0
2 33	4	3	13	3 10	0	1	0.82	0.76	0.79	0	0
2 34	4	3	13	3 10	0	1	0.96	0.84	0.9	0	0
2 35	4	3	13	3 10	0	1	0.86	0.74	0.8	0	0
2 36	4	3	13	3 10	0	1	0.91	0.74	0.825	0	0
										7, 0.104	
										8, 1.004	

2 37	3	3	13	3 10	0	1	0.73	0.87	0.8	0	0	
2 38	1	3	13	3 10	0	0	0.69	0.74	0.715	0	0	
2 39	1	3	13	3 15	0	1	0.15	0.13	0.14	0	0	9, 0.217
2 40	1	2	18	12 6	0	1	0.18	0.14	0.16	0	0	
2 41	4	1	18	12 15	0	0	0.12	0.19	0.155	0	0	
2 42	4	1	18	12 15	0	1	0.14	0.16	0.15	0	0	
2 43	4	1	18	12 15	0	1	0.1	0.13	0.115	0	0	
2 44	1	1	5	2 15	0	1	0.12	0.11	0.115	0	0	
2 45	2	1	18	12 15	0	1	0.11	0.1	0.105	0	0	
2 46	4	3	13	12 15	0	1	0.2	0.16	0.18	0	0	
2 47	4	3	12	12 15	0	1	0.15	0.21	0.18	0	0	
2 48	2	3	12	12 15	0	1	0.16	0.16	0.16	0	0	21, 0.526
2 113	1	3	12	3 8	0	1	0.09	0.1	0.095	0	0	14, 0.102
2 114	1	3	12	3 8	0	1	0	0.05	0.025	0	0	
2 115	1	3	12	3 8	1	1	0.04	0.03	0.035	0	0	
2 116	1	3	12	3 8	0	0	0.06	0.06	0.06	0	0	
2 117	1	3	12	3 8	0	1	0.04	0.03	0.035	0	0	
2 118	1	3	12	3 8	0	1	0.04	0.07	0.055	0	0	
2 119	1	3	12	3 8	0	0	0.06	0.05	0.055	0	0	
2 120	1	3	12	3 8	0	1	0.03	0.06	0.045	0	0	
2 121	1	3	12	3 8	0	1	0.07	0.09	0.08	0	0	
2 122	1	3	12	3 8	0	0	0.03	0.02	0.025	0	0	
2 123	1	3	12	3 8	1	0	0.05	0.04	0.045	0	0	
2 124	1	3	12	3 8	0	0	0.06	0.02	0.04	0	0	
2 125	1	3	12	3 8	0	1	0.03	0.03	0.03	0	0	
2 126	1	3	12	3 8	0	1	0.06	0.04	0.05	0	0	
2 127	1	3	12	3 8	0	1	0.03	0.05	0.04	0	0	
2 128	1	3	12	3 8	0	1	0.06	0.12	0.09	0	0	
2 129	1	1	1	12 8	0	0	0.14	0.02	0.08	0	0	
2 130	1	3	12	3 8	0	1	0.04	0.03	0.035	0	0	
2 131	1	3	12	3 8	0	1	0.05	0.06	0.055	0	0	
2 132	1	3	12	3 8	0	1	0.51	0.04	0.275	0	0	
2 133	1	3	12	3 8	0	1	0.03	0.02	0.025	0	0	
2 134	1	3	12	3 8	0	1	0.06	0.05	0.055	0	0	
2 135	1	3	12	3 8	0	1	0.06	0.06	0.06	0	0	
2 136	1	3	12	3 8	0	1	0.22	0.07	0.145	0	0	
2 137	1	3	12	3 8	0	1	0.02	0.08	0.05	0	0	
2 138	1	3	12	3 8	0	1	0.02	0.02	0.02	0	0	
2 139	1	3	12	3 8	0	1	0.04	0.03	0.035	0	0	
2 140	1	3	12	3 8	0	1	0.05	0.05	0.05	0	0	
2 141	1	3	12	3 8	0	1	0.01	0.02	0.015	0	0	
2 142	1	1	1	12 8	0	1	0.06	0.05	0.055	0	0	
2 143	1	3	12	3 8	0	1	0.02	0.03	0.025	0	0	
2 144	1	3	12	3 8	0	1	0.05	0.04	0.045	0	0	
2 145	1	3	12	3 8	0	1	0.02	0.03	0.025	0	0	
2 146	1	3	12	3 8	0	1	0	0.01	0.005	0	0	
2 147	1	3	12	3 8	0	1	0.04	0.06	0.05	0	0	
2 148	1	3	12	3 8	0	1	0.02	0.02	0.02	0	0	15, 0.104
2 149	1	3	12	3 8	0	1	0.04	0.03	0.035	0	0	
2 150	1	3	12	3 8	0	1	0.03	0.04	0.035	0	0	
3 1	2	1	5	2 5	0	1	0.19	0.15	0.17	0	0	6, 0.052
3 2	3	3	13	2 3	0	1	0.11	0.13	0.12	0	0	

3	3	4	1	1	2	3	0	1	0.08	0.13	0.105	0	0
3	4	4	1	1	2	3	0	1	0.09	0.13	0.11	0	0
3	5	3	1	1	2	3	0	1	0.14	0.16	0.15	0	0
3	6	4	1	1	2	3	0	1	0.08	0.11	0.095	0	0
3	7	3	1	1	2	3	1	1	0.08	0.09	0.085	0	0
3	8	3	3	13	2	3	0	1	0.07	0.09	0.08	0	0
3	9	4	1	1	2	3	0	1	0.04	0.05	0.045	0	0
3	10	2	1	1	2	3	0	1	0.1	0.11	0.105	0	0
3	11	4	1	1	12	3	0	1	0.07	0.08	0.075	0	0
3	12	4	2	7	12	3	0	1	0.09	0.08	0.085	0	0.375
3	13	4	1	1	12	5	0	1	0.15	0.16	0.155	0	0
3	14	3	1	1	12	5	0	1	0.28	0.19	0.235	0	0
3	15	4	1	1	2	15	0	1	0.26	0.31	0.285	0	0
3	16	4	1	1	2	15	0	1	0.27	0.28	0.275	0	0
3	17	2	1	1	2	15	0	1	0.29	0.34	0.315	0	0
3	18	3	2	11	2	15	0	1	0.31	0.3	0.305	0	0
3	19	3	1	1	2	15	0	1	0.29	0.32	0.305	0	0
3	20	3	2	11	2	15	0	0	0.02	0.03	0.025	0	0
3	21	2	1	1	2	15	0	0	0.27	0.28	0.275	0	0
3	22	4	2	7	2	15	0	0	0.15	0.12	0.135	0	0
3	23	2	2	7	2	15	0	1	0.23	0.25	0.24	0	0
3	24	1	5	19	2	15	0	0	0.3	0.31	0.305	0	0
3	25	4	1	1	2	14	0	1	0.32	0.35	0.335	0	0
3	26	4	1	1	2	14	1	1	0.19	0.19	0.19	0	0
3	27	3	1	1	2	14	0	1	0.25	0.24	0.245	0	0
3	28	4	2	18	12	8	0	1	0.02	0.01	0.015	0	0
3	29	4	1	18	12	20	0	1	0.07	0.06	0.065	0	0
3	30	4	1	18	12	20	0	1	0.13	0.13	0.13	0	0
3	31	4	1	18	12	20	0	1	0.2	0.18	0.19	0	0
3	32	4	1	1	12	14	0	1	0.18	0.17	0.175	0	0
3	33	1	1	1	12	14	0	1	0.18	0.15	0.165	0	0
3	34	4	2	18	12	10	0	1	0.15	0.16	0.155	0	0
3	35	2	1	18	12	14	0	1	0.28	0.28	0.28	0	0
3	36	1	3	13	12	10	0	1	0	0.02	0.01	0	0
3	37	4	1	1	2	10	0	1	0.08	0.07	0.075	0	0
3	38	4	2	18	2	10	0	1	0.12	0.12	0.12	0	0
3	39	1	2	18	2	10	0	1	0.19	0.18	0.185	0	0
3	40	3	1	18	2	10	0	1	0.18	0.17	0.175	0	0
3	41	2	1	18	2	10	0	1	0.23	0.21	0.22	0	0
3	42	4	1	1	2	8	0	1	0.19	0.19	0.19	0	0
3	43	4	1	1	2	8	0	1	0.16	0.16	0.16	0	0
3	44	4	1	1	2	13	0	1	0.06	0.04	0.05	0	0
3	45	3	1	1	2	13	0	1	0.12	0.11	0.115	0	0
3	46	1	3	12	12	4	6	0	0.14	0.18	0.16	0	0
3	47	2	1	1	5	6	0	1	0.19	0.2	0.195	0	0
3	48	1	1	2	2	6	0	1	0.18	0.19	0.185	0	0
3	49	1	1	1	2	13	0	0	0.2	0.2	0.2	0	0
3	50	1	2	18	2	13	0	0	0.2	0.18	0.19	0	0
3	51	4	1	1	5	9	1	1	0.22	0.2	0.21	0	0
3	52	1	1	18	12	10	0	1	0.15	0.12	0.135	0	0.052
3	53	1	5	15	12	10	0	0	0.09	0.12	0.105	0	0
3	54	3	1	18	12	6	0	1	0.16	0.17	0.165	0	0
3	55	1	2	18	12	7	0	1	0.04	0.03	0.035	0	0

3 56	1	3	12	6	8	0	1	0.12	0.11	0.115	0	0
3 57	1	1	18	12	8	0	1	0.07	0.05	0.06	0	0
3 58	1	1	5	12	8	0	1	0.1	0.05	0.075	0	0
3 59	2	5	16	13	8	0	1	0.11	0.17	0.14	0	0
3 60	1	3	18	12	6	0	1	0.12	0.16	0.14	0	0
3 61	4	1	18	12	10	0	1	0.17	0.18	0.175	0	0
3 62	3	1	18	12	10	0	1	0.18	0.15	0.165	0	0
3 63	4	1	1	2	12	0	1	0.14	0.12	0.13	0	0
3 64	2	2	18	12	10	0	1	0.16	0.19	0.175	0	0
3 65	4	1	1	2	12	0	1	0.04	0.07	0.055	0	0
3 66	4	1	1	12	6	0	1	0.12	0.16	0.14	0	0
3 67	4	1	1	12	6	0	1	0.2	0.17	0.185	0	0
3 68	4	1	1	12	12	0	1	0.13	0.14	0.135	0	0
3 69	1	2	18	12	12	0	0	0.09	0.07	0.08	0	0
3 70	4	1	1	12	10	0	1	0.09	0.11	0.1	0	0
3 71	1	1	1	12	10	0	1	0.14	0.15	0.145	0	0
3 72	2	2	18	12	10	0	1	0.17	0.12	0.145	0	0
3 73	3	1	18	12	15	0	1	0.06	0.05	0.055	0	0
3 74	2	1	5	12	5	0	0	0.08	0.06	0.07	0	0
3 75	4	1	1	12	5	0	1	0.08	0.12	0.1	0	0
3 76	1	1	1	12	5	0	1	0.09	0.06	0.075	0	0
3 77	4	2	18	2	5	0	1	0.06	0.06	0.06	0	0
3 78	4	2	18	2	5	0	1	0.02	0	0.01	0	0
3 79	4	2	18	2	5	0	1	0.05	0.04	0.045	0	0
3 80	4	1	1	2	15	0	1	0.1	0.09	0.095	0	0
3 81	4	1	1	2	15	0	1	0.1	0.12	0.11	0	0.345
3 82	4	1	1	2	15	0	1	0.1	0.11	0.105	0	0
3 83	4	1	1	2	15	0	1	0.12	0.11	0.115	0	0
3 84	2	1	1	2	15	0	1	0.16	0.16	0.16	0	0
3 85	1	1	5	2	15	0	0	0.07	0.08	0.075	0	0.102
3 86	4	1	1	2	15	0	1	0.3	0.27	0.285	0	0.345
3 87	4	1	1	2	15	0	1	0.27	0.28	0.275	0	0
3 88	1	1	1	2	15	0	1	0.34	0.34	0.34	0	0
3 89	1	1	2	2	15	0	1	0.1	0.12	0.11	0	0
3 90	4	1	1	2	15	0	1	0.1	0.12	0.11	0	0
3 91	4	1	1	2	15	0	1	0.15	0.16	0.155	0	0
3 92	4	1	1	2	15	0	1	0.17	0.16	0.165	0	0
3 93	2	3	18	12	15	0	1	0.19	0.19	0.19	0	0
3 94	4	1	1	12	6	0	1	0.22	0.24	0.23	0	0
3 95	4	1	1	12	6	0	0	0.31	0.33	0.32	0	0
3 96	4	1	1	12	6	0	1	0.3	0.63	0.465	0	0.526
3 97	2	1	1	12	10	0	1	0.13	0.11	0.12	0	0.345
3 98	1	2	18	12	15	0	0	0.09	0.09	0.09	0	0
3 99	3	1	1	12	12	0	1	0.16	0.17	0.165	0	0
3 100	1	3	15	12	7	0	0	0.21	0.13	0.17	0	0
3 101	1	3	19	12	7	0	1	0.21	0.17	0.19	0	0
3 102	4	1	1	12	12	0	1	0.19	0.18	0.185	0	0
3 103	4	1	1	12	12	0	1	0.31	0.3	0.305	0	0
3 104	4	1	1	12	12	0	1	0.33	0.35	0.34	0	0
3 105	2	3	13	10	15	0	1	0.08	0.09	0.085	0	0
3 106	2	1	1	10	15	0	1	0.11	0.1	0.105	0	0
3 107	2	2	18	10	15	0	1	0.14	0.13	0.135	0	0
3 108	1	1	1	10	15	0	1	0.21	0.15	0.18	0	0

3 109	2	5	18	12	15	0	1	0.19	0.18	0.185	0	0
3 110	2	2	18	2	10	0	0	0.19	0.16	0.175	0	0
3 111	3	1	1	2	15	0	1	0.31	0.28	0.295	0	0
3 112	1	2	18	6	20	0	0	0.31	0.3	0.305	0	0
3 113	1	1	1	4	20	0	0	0.13	0.11	0.12	0	0
3 114	1	1	1	13	15	0	1	0.14	0.13	0.135	0	0
3 115	3	1	1	12	15	0	1	0.13	0.13	0.13	0	0
3 116	1	2	18	12	15	0	1	0.16	0.17	0.165	0	0
3 117	2	3	18	12	8	0	0	0.14	0.15	0.145	0	0
3 120	4	2	7	12	12	0	1	0.17	0.18	0.175	0	0
3 121	4	2	7	12	12	0	1	0.3	0.33	0.315	0	0
3 122	4	2	7	12	12	0	1	0.28	0.26	0.27	0	0
3 123	1	2	7	12	12	0	1	0.26	0.27	0.265	0	0
3 125	2	1	18	5	15	0	0	0.6	0.77	0.685	0	0
3 126	3	1	18	12	15	0	0	0.48	0.53	0.505	0	0
3 127	2	2	9	12	15	0	0	0.66	0.77	0.715	0	0
3 128	2	2	7	12	15	0	0	0.54	0.63	0.585	0	0
3 129	3	1	1	12	15	0	0	0.75	0.81	0.78	0	0
3 130	2	1	1	12	15	0	1	0.69	0.73	0.71	0	0
3 131	2	3	13	12	15	0	1	0.51	0.66	0.585	0	0
3 132	1	1	6	5	15	0	1	0.81	0.89	0.85	0	0
3 133	1	2	11	5	15	0	0	0.66	0.62	0.64	0	0
3 134	1	2	7	5	15	0	0	0.65	0.66	0.655	0	0
3 135	1	1	3	5	15	0	0	0.81	0.81	0.81	0	0
3 136	1	1	2	5	15	0	0	0.96	0.98	0.97	0	0
3 137	4	1	1	12	15	0	1	0.9	0.93	0.915	0	0
3 138	3	1	1	12	15	0	1	0.84	0.81	0.825	0	0
3 139	2	2	18	12	15	0	1	0.62	0.51	0.565	0	0
3 140	2	1	1	12	15	0	1	0.69	0.43	0.56	0	0
3 141	4	1	1	2	5	0	1	0.4	0.41	0.405	0	0
3 142	4	1	1	2	5	0	1	0.39	0.42	0.405	0	0
3 143	4	1	1	2	5	0	1	0.36	0.4	0.38	0	0
3 144	4	1	1	2	5	0	1	0.39	0.42	0.405	0	0
3 145	4	1	1	2	3	0	1	0.15	0.06	0.105	0	0
3 146	4	1	2	5	2	0	1	0.13	0.08	0.105	0	0
4 1	4	1	1	2	12	1	1	0.04	0.04	0.04	0	0
4 2	4	1	1	2	12	1	1	0.17	0.17	0.17	0	0
4 3	4	1	1	2	12	0	1	0.18	0.2	0.19	0	0
4 4	2	1	1	2	12	0	1	0.18	0.2	0.19	0	0
4 5	1	1	2	2	12	0	1	0.18	0.16	0.17	0	0
4 6	3	1	1	2	12	0	1	0.13	0.14	0.135	0	0
4 7	1	1	2	2	12	0	1	0.18	0.12	0.15	0	0
4 8	4	1	1	2	12	0	1	0.16	0.11	0.135	0	0
4 9	4	1	1	2	12	0	1	0.17	0.18	0.175	0	0
4 10	3	1	1	2	12	0	1	0.18	0.2	0.19	0	0
4 12	4	1	1	2	12	0	1	0.21	0.16	0.185	0	0
4 13	1	1	1	2	12	0	1	0.17	0.18	0.175	0	0
4 14	1	2	18	2	12	0	0	0.11	0.12	0.115	0	0
4 15	1	3	13	2	12	0	0	0.1	0.11	0.105	0	0
4 16	3	1	1	2	12	0	0	0.11	0.11	0.11	0	0
4 17	3	1	18	2	4	1	1	0.12	0.12	0.12	0	0
4 18	1	1	2	2	4	0	0	0.11	0.14	0.14	0	0

8, 1.004

36, 0.442

34, 0.163

23, 0.07

9, 0.217

4	19	4	1	1	2	20	0	1	0.2	0.17	0.185	0	0				
4	20	1	1	1	2	5	0	0	0.1	0.1	0.1	0	0				
4	21	4	1	1	2	20	0	1	0.11	0.1	0.105	0	0				
4	22	4	1	1	2	20	1	1	0.14	0.15	0.145	0	0				
4	23	1	1	2	12	20	0	1	0.12	0.11	0.115	0	0				
4	24	1	2	18	12	20	0	0	0.09	0.06	0.075	0	0				
4	25	4	1	1	2	20	0	0	0.14	0.08	0.11	0	0				
4	26	1	2	18	12	15	0	0	0.1	0.09	0.095	0	0				
4	27	3	1	1	2	20	0	1	0.13	0.13	0.13	0	0				
4	28	3	1	18	12	20	0	1	0.09	0.09	0.09	0	0				
4	29	4	1	18	12	20	0	1	0.12	0.12	0.12	0	0				
4	30	1	1	18	12	15	0	1	0.13	0.15	0.14	0	0				
4	31	4	1	18	2	15	0	1	0.05	0.05	0.05	0	0	10, 0.159			
4	32	4	1	18	2	15	0	1	0.09	0.1	0.095	0	0				
4	33	4	1	18	2	15	0	1	0.09	0.08	0.085	0	0				
4	34	4	1	18	2	15	0	1	0.1	0.1	0.1	0	0				
4	35	1	1	2	2	15	0	1	0.11	0.12	0.115	0	0				
4	36	1	1	1	2	15	0	1	0.12	0.13	0.125	0	0				
4	37	2	1	2	2	15	0	1	0.14	0.14	0.14	0	0				
4	38	1	2	7	12	15	0	1	0.13	0.13	0.13	0	0				
4	39	3	1	2	2	15	0	1	0.05	0.07	0.06	0	0				
4	40	4	1	18	2	15	0	1	0.08	0.08	0.08	0	0				
4	41	3	5	18	12	10	0	1	0.11	0.1	0.105	0	0				
4	42	1	1	18	12	10	0	0	0.11	0.11	0.11	0	0				
4	43	3	1	18	2	10	0	1	0.11	0.12	0.115	0	0				
4	44	4	5	18	12	10	0	1	0.13	0.12	0.125	0	0				
4	46	3	1	18	12	10	0	0	0.14	0.14	0.14	0	0				
4	47	1	5	18	12	10	0	0	0.2	0.19	0.195	0	0				
4	48	1	1	18	12	20	0	1	0.06	0.06	0.06	0	0				
4	49	1	1	2	12	5	0	1	0.09	0.08	0.085	0	0				
4	50	1	3	18	12	5	0	1	0.09	0.11	0.1	0	0				
4	51	1	2	18	12	5	0	0	0.12	0.12	0.12	0	0				
4	52	1	1	18	12	15	0	1	0.14	0.14	0.14	0	0				
4	53	1	1	1	2	12	0	1	0	0	0	0	0	34, 0.163			
4	54	1	1	1	2	12	0	1	0.18	0.08	0.13	0	0				
4	55	1	1	1	2	12	0	1	0.06	0.05	0.055	0	0				
4	56	1	2	18	2	12	0	1	0.11	0.12	0.115	0	0				
4	57	1	2	18	2	12	0	1	0.21	0.23	0.22	0	0	36, 0.442			
4	58	1	2	18	2	12	0	1	0.29	0.28	0.285	0	0				
4	59	1	2	18	2	12	0	1	0.49	0.53	0.51	0	0				
4	60	1	2	18	2	12	1	1	0.05	0.06	0.055	0	0	34, 0.163			
4	61	1	2	18	2	12	1	1	0.68	0.7	0.69	1	1	36, 0.442			
4	62	1	2	18	2	12	1	1	0.03	0.03	0.03	0	0	34, 0.163			
4	63	1	2	18	2	12	1	0	0.65	0.66	0.655	0.1	0.05	0.075	1	1	23, .204 / 33, 1.066
4	64	1	2	18	2	12	1	0	0.58	0.55	0.565	0.1	0.05	0.075	1	1	
5	1	4	3	13	3	25	0	1	0.04	0.05	0.045	0	0	15, 0.104			
5	2	4	3	13	3	25	0	1	0.03	0.05	0.04	0	0				
5	3	4	3	13	3	25	0	1	0.03	0.04	0.035	0	0				
5	4	4	3	13	3	25	1	1	0.04	0.04	0.04	0	0				
5	5	4	3	13	3	5	0	1	0.03	0.03	0.03	0	0				
5	6	4	3	13	3	5	0	1	0.02	0.02	0.02	0	0				
5	7	4	3	13	3	5	0	1	0.04	0.04	0.04	0	0				

5	8	2	5	19	3	5	0	1	0.04	0.04	0.04	0	0	
5	10	4	3	13	3	20	0	1	0.05	0.03	0.04	0	0	
5	11	4	3	13	3	20	0	1	0.04	0.04	0.04	0	0	
5	12	4	3	13	3	20	0	1	0.03	0.04	0.035	0	0	
5	13	4	3	13	3	20	0	1	0.05	0.05	0.05	0	0	
5	15	4	3	13	3	5	0	0	0.05	0.08	0.065	0	0	
5	16	4	3	13	3	5	0	1	0.02	0.03	0.025	0	0	
5	17	4	3	13	3	5	0	0	0.03	0.03	0.03	0	0	
5	18	4	3	13	3	5	0	1	0.12	0.02	0.07	0	0	
5	19	4	3	13	3	5	0	1	0.05	0.05	0.05	0	0	
5	20	4	3	13	3	6	0	0	0.04	0.04	0.04	0	0	
5	21	4	3	13	3	6	0	1	0	0	0	0	0	22, 0.000
5	22	4	3	13	3	6	0	1	0.04	0.04	0.04	0	0	15, 0.104
5	23	4	1	2	2	8	0	0	0.03	0.04	0.035	0	0	
5	24	4	1	2	2	8	0	1	0.04	0.05	0.045	0	0	
5	25	4	1	2	2	8	0	0	0.03	0.02	0.025	0	0	
5	26	4	1	2	2	8	0	1	0.03	0.03	0.03	0	0	
5	27	4	1	1	2	8	0	1	0.03	0.04	0.035	0	0	
5	28	4	1	1	2	8	0	1	0.03	0.03	0.03	0	0	
5	29	4	1	1	2	8	0	0	0.04	0.03	0.035	0	0	
5	30	4	1	2	2	15	0	1	0	0	0	0	0	22, 0.000
5	31	4	1	1	2	13	0	0	0	0	0	0	0	
5	32	4	1	2	2	15	0	1	0.03	0.04	0.035	0	0	15, 0.104
5	33	4	1	1	2	15	0	1	0.05	0.06	0.055	0	0	
5	34	4	1	2	2	20	0	1	0.05	0.05	0.05	0	0	
5	35	4	1	1	2	10	0	1	0.1	0.08	0.09	0	0	17, 0.131
5	36	4	1	2	4	15	0	1	0.14	0.11	0.125	0	0	
5	37	4	1	2	2	15	0	1	0.1	0.11	0.105	0	0	
5	38	4	2	7	4	15	0	1	0.1	0.11	0.105	0	0	
5	39	4	1	2	4	25	0	1	0.09	0.09	0.09	0	0	
5	40	10	1	1	1	2	0	0	0.13	0.12	0.125	0	0	16, 0.219
5	41	3	1	1	1	2	0	0	0.1	0.09	0.095	0	0	
5	42	3	1	1	1	9	0	0	0.06	0.05	0.055	0	0	
5	43	3	1	1	1	7	0	0	0.08	0.09	0.085	0	0	
5	44	10	1	1	1	7	0	1	0.14	0.16	0.15	0	0	
5	45	3	1	1	1	7	0	0	0.2	0.21	0.205	0	0	
5	46	5	1	1	1	7	0	0	0.22	0.21	0.215	0	0	
5	47	1	3	12	1	7	0	1	0.2	0.19	0.195	0	0	
5	48	2	1	1	1	7	0	1	0.12	0.13	0.125	0	0	
5	49	1	1	1	2	7	0	1	0.08	0.09	0.085	0	0	
5	50	1	1	1	2	7	0	1	0.1	0.11	0.105	0	0	
5	51	7	1	1	2	10	0	0	0.17	0.16	0.165	0	0	
5	52	5	1	1	1	12	0	1	0.16	0.17	0.165	0	0	
5	53	1	1	1	1	2	0	1	0.22	0.18	0.2	0	0	
5	54	4	1	1	2	15	0	1	0.17	0.17	0.17	0	0	
5	55	1	1	1	2	25	0	1	0.21	0.21	0.21	0	0	
5	56	1	1	1	2	25	0	1	0.05	0.05	0.05	0	0	
5	57	1	1	1	2	25	0	1	0.04	0.03	0.035	0	0	
5	58	1	1	1	2	25	0	1	0.04	0.06	0.05	0	0	
5	59	1	3	12	2	25	0	0	0.11	0.12	0.115	0	0	
5	60	3	3	12	2	9	0	0	0.03	0.03	0.03	0	0	
5	61	1	3	12	2	15	0	1	0.12	0.07	0.095	0	0	
5	62	1	2	18	2	15	0	1	0.17	0.16	0.165	0	0	

5 63	1	3	12	2	9	0	0	0.13	0.18	0.155	0	0
5 64	2	3	12	2	9	0	0	0.06	0.05	0.055	0	0
5 65	4	1	1	12	13	0	1	0	0	0	0	22, 0.000
5 66	4	1	1	12	12	0	1	0	0	0	0	
5 67	4	1	1	12	11	1	1	0	0	0	0	
5 68	4	1	1	12	15	0	1	0	0	0	0	
5 69	4	1	2	7	20	1	1	0	0	0	0	
5 70	4	1	1	7	22	0	1	0	0	0	0	
5 71	4	1	1	1	12	1	1	0	0	0	0	
5 72	4	1	1	2	12	0	1	0	0	0	0	
5 73	4	1	1	2	15	0	1	0	0	0	0	
5 74	4	1	1	2	15	0	1	0	0.01	0.005	0	BASURA
5 75	4	1	1	2	15	0	1	0	0	0	0	
5 76	4	1	1	2	10	0	1	0	0	0	0	
5 77	4	1	1	2	34	0	1	0	0	0	0	
5 78	4	1	1	2	34	0	1	0	0	0	0	
5 79	4	1	1	2	25	0	1	0	0	0	0	
5 80	4	1	1	2	20	0	1	0	0	0	0	
5 81	4	1	1	2	20	0	1	0	0	0	0	
5 82	4	1	1	2	20	0	1	0.01	0.01	0.01	0	BASURA
5 83	4	1	1	2	15	0	0	0	0	0	0	
5 84	4	3	13	3	9	0	0	0	0	0	0	
5 85	4	1	1	2	6	0	0	0	0	0	0	
5 86	4	1	1	2	6	0	1	0	0	0	0	
5 87	3	1	1	2	25	1	1	0.02	0.03	0.025	0	BASURA
5 88	3	1	1	2	25	1	1	0	0	0	0	
5 89	3	1	2	2	25	1	1	0	0	0	0	
5 90	3	1	1	2	25	0	1	0	0	0	0	
5 91	3	1	1	2	15	0	1	0	0	0	0	
5 92	1	2	18	2	12	0	1	0	0	0	0	
5 93	2	1	1	2	15	0	1	0	0	0	0	
5 94	3	1	1	2	15	0	1	0	0	0	0	
5 95	3	1	1	2	15	0	1	0.01	0	0.005	0	BASURA
5 96	3	1	1	2	20	0	1	0	0	0	0	
5 97	1	3	13	2	20	0	1	0	0	0	0	
5 98	3	1	1	2	10	0	1	0	0	0	0	
5 99	3	1	1	2	25	0	1	0	0.01	0.005	0	BASURA
5 100	3	1	1	2	25	0	1	0	0	0	0	
5 101	2	1	1	2	15	0	1	0.16	0.18	0.17	0	23, 0.2045
5 102	1	1	1	2	10	0	0	0	0	0	0	
5 103	3	1	1	2	18	0	0	0.08	0.11	0.095	0	
5 104	3	1	2	1	20	0	1	0.19	0.2	0.195	0	
5 105	3	2	18	1	20	0	1	0.14	0.15	0.145	0	
5 106	2	1	1	2	20	0	1	0.19	0.13	0.16	0	
5 107	1	2	18	2	20	0	1	0.01	0	0.005	0	
5 108	3	1	1	2	20	0	1	0.16	0.13	0.145	0	
5 109	3	1	1	2	20	0	1	0.07	0.07	0.07	0	
5 110	3	1	1	2	25	0	1	0.13	0.13	0.13	0	
5 111	3	1	1	2	25	0	1	0.2	0.2	0.2	0	
6 1	3	1	1	2	24	1	1	0	0	0	0	
6 2	3	1	1	2	24	1	1	0.17	0.09	0.13	0	
6 3	3	1	1	2	24	0	1	0	0	0	0	

6	4	3	1	1	2	24	0	1	0.03	0	0.015	0	0	
6	5	3	1	1	2	22	0	1	0.02	0	0.01	0	0	
6	6	3	1	1	2	10	0	1	0	0.04	0.02	0	0	24, 0.346
6	7	1	1	1	2	10	0	1	0	0.02	0.01	0	0	
6	8	3	3	13	3	10	1	0	0.03	0	0.015	0	0	
6	9	3	1	1	2	20	0	1	0.02	0.05	0.035	0	0	
6	10	3	1	1	2	10	0	1	0.14	0.2	0.17	0	0	
6	11	3	1	1	13	15	0	1	0.08	0.12	0.1	0	0	
6	12	3	1	1	13	15	0	1	0.15	0.2	0.175	0	0	
6	13	3	1	1	13	10	0	1	0.12	0.13	0.125	0	0	
6	14	3	1	1	13	15	1	1	0.1	0.13	0.115	0	0	
6	15	3	1	1	13	35	1	1	0.04	0.07	0.055	0	0	
6	16	3	1	1	13	35	0	1	0.03	0	0.015	0	0	
6	17	3	1	1	13	10	0	1	0.06	0.05	0.055	0	0	
6	18	3	1	1	13	10	0	1	0.21	0.19	0.2	0	0	
6	19	3	1	1	13	10	0	1	0.32	0.3	0.31	0	0	
6	20	3	1	1	13	30	0	1	0.09	0.08	0.085	0	0	
6	21	3	1	1	13	30	0	1	0.18	0.17	0.175	0	0	
6	22	3	3	13	3	15	0	1	0.03	0.03	0.03	0	0	
6	23	3	3	13	3	15	0	1	0	0	0	0	0	
6	24	3	3	13	3	15	0	1	0	0.01	0.005	0	0	
6	25	3	3	13	3	15	0	1	0.14	0.15	0.145	0	0	
6	26	3	3	13	3	15	0	1	0.11	0.22	0.165	0	0	
6	27	3	3	13	3	15	0	1	0.11	0.13	0.12	0	0	
6	28	3	3	13	3	15	0	1	0.12	0.14	0.13	0	0	
6	29	3	3	13	3	15	0	1	0.14	0.15	0.145	0	0	
6	30	3	3	13	3	15	0	1	0.11	0.15	0.13	0	0	
6	31	3	5	16	12	20	0	0	0.07	0.06	0.065	0	0	
6	32	3	1	1	2	18	1	1	0	0	0	0	0	
6	33	3	1	1	2	18	1	2	0.03	0.04	0.035	0	0	
6	34	3	1	1	2	18	1	1	0.08	0.07	0.075	0	0	
6	35	3	1	1	1	14	0	1	0.11	0.08	0.095	0	0	23, .204
6	36	3	1	1	1	14	0	1	0.17	0.13	0.15	0	0	
6	37	1	1	1	7	15	0	1	0.08	0.06	0.07	0	0	16, 0.219
6	38	1	1	1	7	15	0	1	0.08	0.08	0.08	0	0	
6	39	1	1	1	7	15	0	1	0.1	0.12	0.11	0	0	
6	40	1	2	8	2	15	0	1	0.07	0.07	0.07	0	0	
6	41	1	2	8	2	15	0	1	0.13	0.06	0.095	0	0	
6	42	4	2	8	2	15	0	1	0.22	0.18	0.2	0	0	
6	43	6	2	8	2	15	0	1	0	0	0	0	0	19, 0.017
6	44	4	2	8	2	15	0	1	0.09	0.08	0.085	0	0	16, 0.219
6	45	3	3	13	2	2	0	1	0.04	0.04	0.04	0	0	
6	46	3	3	13	2	2	0	1	0.06	0.06	0.06	0	0	
6	47	2	1	1	7	11	0	1	0.09	0.12	0.105	0	0	
6	48	5	1	1	4	6	0	1	0.2	0.08	0.14	0	0	
6	49	4	1	1	4	5	0	1	0.07	0.06	0.065	0	0	
6	50	4	1	1	4	5	0	1	0.2	0.19	0.195	0	0	
6	51	1	1	1	4	8	0	1	0.21	0.2	0.205	0	0	
6	52	1	1	1	4	8	0	1	0.1	0.11	0.105	0	0	17, 0.131
6	53	1	3	13	4	8	0	1	0.07	0.1	0.085	0	0	
6	54	3	3	13	4	8	0	1	0.11	0.11	0.11	0	0	
6	55	5	1	1	1	8	0	1	0.08	0.08	0.08	0	0	
6	56	1	4	14	11	2	0	0	0.34	0.43	0.395	0	0	30, 0.289 @FONDO

6 57	1	4	14	11	2	0	0	0.45	0.42	0.435				0	0	@FONDO
6 58	1	4	14	11	2	0	0	1.26	1.25	1.255	0.55	0.47	0.51	1	2	30, .289 / 32, .352
6 59	1	4	14	11	2	0	0	0.44	0.37	0.405				0	0	30, 0.289 @FONDO
6 60	1	4	14	11	2	0	0	0.44	0.39	0.415				0	0	@FONDO
6 61	1	4	14	11	2	0	0	0.41	0.5	0.455				0	0	@FONDO
6 62	1	4	14	11	2	0	0	0.59	0.6	0.595				0	0	25', 0.782
6 63	1	4	14	11	2	0	0	1.23	1.23	1.23	0.22	0.22	0.22	1	2	25', .782 / 28, .041
6 64	1	4	14	11	2	0	0	0.56	0.51	0.535				0	0	25', 0.782
6 65	1	4	14	11	2	0	0	0.53	0.49	0.51				0	0	
6 66	1	4	14	11	2	0	0	0.55	0.56	0.555				0	0	
6 67	1	4	14	11	2	0	0	0.53	0.53	0.53				0	0	
6 68	3	4	14	11	2	0	0	0	0.01	0.005				0	0	
6 69	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	
6 70	1	4	14	11	2	0	0	0.46	0.43	0.445				0	0	30, 0.289 @FONDO
6 71	1	4	14	11	2	0	0	1	1.07	1.035	0.42	0.43	0.425	1	2	30, .289 / 32, .3525
6 72	1	4	14	11	2	0	0	0.51	0.50	0.545				0	0	30, 0.289 @FONDO
6 73	1	4	14	11	2	0	0	0.63	0.61	0.62				0	0	@FONDO
6 74	1	4	14	11	2	0	0	1.06	1.1	1.08	0.51	0.47	0.49	1	2	30, .289 / 32, .3525
6 75	1	4	14	11	2	0	0	0.25	0.27	0.26				0	0	30, 0.289 @FONDO
6 76	1	4	14	11	2	0	0	1.19	1.07	1.13	0.42	0.5	0.46	1	2	30, .289 / 32, .3525
6 77	1	4	14	11	2	0	0	0.37	0.35	0.36				0	0	30, 0.289 @FONDO
6 78	1	4	14	11	2	0	0	0.39	0.42	0.405				0	0	@FONDO
6 79	1	4	14	11	2	0	0	0.39	0.36	0.37				0	0	@FONDO
6 80	1	4	14	11	2	0	0	0.68	0.64	0.66				0	0	@FONDO
6 81	1	4	14	11	2	0	0	0.53	0.57	0.55				0	0	@FONDO
6 82	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	26, 0.088
6 83	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	
6 84	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	
6 85	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	
6 86	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	
6 87	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	
6 88	1	4	14	11	2	0	0	0.59	0.6	0.595				0	0	25', 0.782
6 89	1	4	14	11	2	0	0	0.58	0.57	0.575				0	0	
6 90	1	4	14	11	2	0	0	0.57	0.59	0.58				0	0	
6 91	1	4	14	11	2	0	0	0.61	0.63	0.62				0	0	
6 92	1	4	14	11	2	0	0	0.54	0.61	0.575				0	0	
6 93	1	4	14	11	2	0	0	1.2	1.2	1.2	0.26	0.26	0.26	1	2	25', .782 / 28, .041
6 94	1	4	14	11	2	0	0	0.35	0.32	0.335	0.06	0.05	0.055	1	2	48, .071 / 50, .052
6 95	1	4	14	11	2	0	0	0.56	0.54	0.55	0.47	0.44	0.455	1	2	
6 96	1	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	26, 0.088
6 97	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	
6 98	1	4	14	11	2	0	0	0	0.02	0.01				0	0	48, 0.071
6 99	1	4	14	11	2	0	0	1.26	1.26	1.26	0.52	0.48	0.5	1	2	30, .289 / 32, .352
6 100	1	4	14	11	2	0	0	0.27	0.27	0.27				0	0	42, 0.428
6 101	1	4	14	11	2	0	0	0.65	0.42	0.535	0.48	0.49	0.485	1	2	48, .071 / 50, .052
6 102	1	4	14	11	2	0	0	1.13	1.07	1.1	0.46	0.5	0.48	1	2	30, .289 / 32, .352
6 103	1	4	14	11	2	0	0	0.07	0	0.035				0	0	48, 0.071
6 104	3	4	14	11	2	0	0	0.05	0.01	0.03				0	0	26, 0.088
6 105	3	4	14	11	2	0	0	0	0	0				0	0	
6 106	1	4	14	11	2	0	0	0.31	0.31	0.31	0.59	0.21	0.4	1	2	45, .338 / 47, .332
6 107	1	4	14	11	2	0	0	0.37	0.43	0.4				0	0	42, 0.428
6 108	1	4	14	11	2	0	0	0.97	1.07	1.02	0.39	0.55	0.47	1	2	30, .289 / 32, .352
6 109	1	4	14	11	2	0	0	1.26	1.13	1.195	0.54	0.56	0.55	1	2	

6 110	1	4	14	11	2	0	0	0.72	0.72	0.72	0.45	0.41	0.43	1	2	48,.071 / 50,.052
6 111	1	4	14	11	2	0	0	0.01	0	0.005				0	0	48, 0.071
6 112	1	4	14	11	2	0	0	0.64	0.61	0.625				0	0	30, 0.289 eFONDO
6 113	1	4	14	11	2	0	0	0.54	0.52	0.53				0	0	eFONDO
6 114	1	4	14	11	2	0	0	0.34	0.36	0.35				0	0	eFONDO
6 115	1	4	14	11	2	0	0	0.29	0.28	0.285				0	0	eFONDO
6 116	1	4	14	11	2	0	0	1.21	1.26	1.235	0.4	0.45	0.425	1	2	30,.289 / 32,.352
6 117	1	4	14	11	2	0	0	0.31	0.35	0.33				0	0	30, 0.289 eFONDO
6 118	1	4	14	11	2	0	0	0.63	0.62	0.625				0	0	25', 0.782
6 119	1	4	14	11	2	0	0	0.66	0.63	0.645				0	0	
6 120	1	4	14	11	2	0	0	0.75	0.72	0.735				0	0	
6 121	1	4	14	11	2	0	0	0.62	0.63	0.625				0	0	
6 122	1	4	14	11	2	0	0	0.62	0.62	0.62				0	0	
6 123	1	4	14	11	2	0	0	0.59	0.59	0.59				0	0	
6 124	1	4	14	11	2	0	0	0.67	0.64	0.655				0	0	
6 125	1	4	14	11	2	0	0	0.6	0.6	0.6				0	0	
6 126	1	4	14	11	2	0	0	0.61	0.59	0.6				0	0	
6 127	1	4	14	11	2	0	0	1.22	1.22	1.22	0.27	0.27	0.27	1	2	25',.782 / 28,.041
6 128	1	4	14	11	2	0	0	0.56	0.56	0.56				0	0	25', 0.782
6 129	1	4	14	11	2	0	0	0.65	0.59	0.62				0	0	
6 130	1	4	14	11	1	0	0	0.4	0.35	0.375				0	0	30, 0.289 eFONDO
6 131	1	4	14	11	1	0	0	0.39	0.39	0.39				0	0	eFONDO
6 132	1	4	14	11	1	0	0	0.42	0.64	0.53				0	0	31, 1.016
6 133	1	4	14	11	1	0	0	0.49	0.5	0.495				0	0	30, 0.289 eFONDO
6 134	1	4	14	11	1	0	0	0.78	0.84	0.81				0	0	31, 1.016
6 135	1	4	14	11	1	0	0	0.54	0.55	0.545				0	0	30, 0.289 eFONDO
6 136	1	4	14	11	1	0	0	0.87	0.78	0.825				0	0	31, 1.016
6 137	1	4	14	11	1	0	0	0.79	0.73	0.76				0	0	
6 138	1	4	14	11	1	0	0	0.72	0.68	0.7				0	0	
6 139	1	4	14	11	1	0	0	0.75	1	0.875				0	0	
6 140	1	4	14	11	1	0	0	0.65	0.83	0.74				0	0	
6 141	1	4	14	11	1	0	0	0.68	0.67	0.675				0	0	
6 142	1	4	14	11	1	0	0	0.71	0.65	0.68				0	0	
6 143	1	4	14	11	1	0	0	0.85	0.81	0.83				0	0	
6 144	1	4	14	11	1	0	0	0.81	0.84	0.825				0	0	
6 145	1	4	14	11	1	0	0	0.87	0.72	0.795				0	0	
6 146	1	4	14	11	1	0	0	0.89	0.76	0.825				0	0	
6 147	1	4	14	11	1	0	0	0.85	0.77	0.81				0	0	
6 148	1	4	14	11	1	0	0	0.79	0.93	0.86				0	0	
6 149	1	4	14	11	1	0	0	0.73	0.76	0.745				0	0	
6 150	1	4	14	11	1	0	0	0.84	0.92	0.88				0	0	
6 151	1	4	14	11	1	0	0	0.92	0.93	0.925				0	0	
6 152	1	4	14	11	1	0	0	0.88	0.9	0.89				0	0	
6 153	1	4	14	11	1	0	0	0.67	0.7	0.685				0	0	
6 154	1	4	14	11	1	0	0	0.58	0.63	0.605				0	0	
6 155	1	4	14	11	1	0	0	0.71	0.67	0.69				0	0	
6 156	1	4	14	11	1	0	0	0.78	0.93	0.855				0	0	
6 157	1	4	14	11	1	0	0	0.6	0.55	0.575				0	0	
6 158	1	4	14	11	1	0	0	0.87	0.87	0.87				0	0	
6 159	1	4	14	11	1	0	0	0.74	0.66	0.7				0	0	
6 160	1	4	14	11	1	0	0	0.81	0.59	0.7				0	0	
6 161	1	4	14	11	1	0	0	0.61	0.58	0.595				0	0	
6 162	1	4	14	11	1	0	0	0.63	0.67	0.65				0	0	

6 163	1	4	14	11	1	0	0	0.65	0.88	0.765	0	0	
6 164	1	4	14	11	1	0	0	0.71	0.81	0.76	0	0	
6 165	1	4	14	11	1	0	0	0.8	0.69	0.745	0	0	
6 166	1	4	14	11	1	0	0	0.76	0.78	0.77	0	0	
6 167	1	4	14	11	1	0	0	0.82	0.84	0.83	0	0	
6 168	1	4	14	11	1	0	0	0.63	0.85	0.74	0	0	
6 169	1	4	14	11	1	0	0	0.65	0.71	0.68	0	0	
6 170	1	4	14	11	1	0	0	0.69	0.69	0.69	0	0	
6 171	1	4	14	11	1	0	0	0.84	0.92	0.88	0	0	
6 172	1	4	14	11	1	0	0	0.76	0.77	0.765	0	0	
6 173	1	4	14	11	1	0	0	0.61	0.63	0.62	0	0	
6 174	1	4	14	11	1	0	0	0.73	0.75	0.74	0	0	
7 1	4	3	13	13	6	0	0	0	0	0	0	0	23, 0.204
7 2	2	3	13	13	6	1	0	0.03	0	0.015	0	0	
7 3	4	3	13	3	6	0	1	0	0	0	0	0	
7 4	4	3	13	3	6	0	1	0	0	0	0	0	
7 5	4	1	1	2	6	0	0	0	0	0	0	0	
7 6	3	1	1	2	6	0	0	0.05	0.04	0.045	0	0	
7 7	4	3	13	2	15	0	0	0	0	0	0	0	
7 8	1	3	12	6	11	0	1	0.19	0.17	0.18	0	0	
7 9	1	3	13	13	11	0	0	0.13	0.11	0.12	0	0	
7 10	1	5	15	13	11	0	1	0.17	0.11	0.14	0	0	
7 11	1	1	1	13	20	0	0	0.07	0.08	0.075	0	0	
7 12	1	1	1	13	20	0	0	0	0	0	0	0	
7 13	1	1	1	13	20	0	0	0.15	0.1	0.125	0	0	
7 14	1	1	1	13	20	0	0	0.14	0.09	0.115	0	0	
7 15	1	1	1	13	20	0	0	0.03	0	0.015	0	0	
7 16	1	3	12	6	20	0	0	0.03	0.01	0.02	0	0	
7 17	1	5	15	13	20	0	1	0.15	0.17	0.16	0	0	
7 18	1	1	5	2	20	0	0	0	0	0	0	0	
8 1	4	1	1	2	15	0	1	0.3	0.26	0.28	0	0	24, 0.346
8 2	4	1	1	2	15	0	1	0.27	0.29	0.28	0	0	
8 3	4	1	1	2	15	0	1	0.3	0.26	0.28	0	0	
8 4	4	1	1	2	15	0	0	0.26	0.24	0.25	0	0	
8 5	4	1	1	2	15	0	0	0.13	0.14	0.135	0	0	
8 6	4	1	1	2	15	0	1	0.2	0.17	0.185	0	0	
8 7	4	1	1	2	15	0	1	0.13	0.13	0.13	0	0	
8 8	4	1	1	2	15	1	1	0.16	0.13	0.145	0	0	
8 9	4	1	1	2	6	0	0	0	0	0	0	0	26, 0.088
8 10	4	1	1	2	6	1	0	0	0	0	0	0	
8 11	4	3	13	3	6	0	0	0	0	0	0	0	
8 12	4	3	13	3	6	0	0	0	0	0	0	0	
8 13	4	1	1	2	5	1	0	0	0	0	0	0	
8 14	4	1	1	2	5	0	1	0	0	0	0	0	
9 1	4	2	7	1	20	0	0	0.03	0.05	0.04	0	0	23, 0.073
9 2	4	2	7	1	20	1	1	0.04	0.06	0.05	0	0	
9 3	4	1	2	2	20	0	1	0	0	0	0	0	
9 4	4	1	2	2	20	0	1	0.02	0.01	0.015	0	0	
9 5	4	1	2	2	20	1	1	0.05	0.05	0.05	0	0	
9 6	4	1	2	1	10	0	0	0.06	0.05	0.055	0	0	

9	7	4	1	2	1	10	0	0	0.05	0.06	0.055	0	0	
9	8	4	1	1	1	20	0	0	0	0	0	0	0	
9	9	4	2	7	1	13	0	0	0.06	0.06	0.06	0	0	
9	10	4	2	7	1	10	1	0	0.04	0.05	0.045	0	0	
9	11	4	2	7	1	6	1	0	0.02	0.01	0.015	0	0	
9	12	4	1	2	1	8	0	0	0	0	0	0	0	
9	13	4	3	13	2	5	0	1	0	0	0	0	0	
9	14	4	2	7	1	8	0	0	0	0	0	0	0	
9	15	4	2	7	1	7	0	0	0.01	0	0.005	0	0	
9	16	4	2	7	1	5	1	0	0.06	0.04	0.05	0	0	
9	17	4	1	1	1	1	0	0	0.1	0.11	0.105	0	0	24', 0.139
10	1	4	1	1	2	19	0	1	0.01	0.06	0.035	0	0	24', 0.139
10	2	4	1	1	1	19	1	0	0.03	0.02	0.025	0	0	
10	3	4	1	1	2	19	0	0	0.04	0.04	0.04	0	0	
10	4	4	1	1	2	10	0	1	0.03	0.04	0.035	0	0	
10	5	4	1	1	2	10	1	1	0.08	0.09	0.085	0	0	
10	6	4	1	1	2	25	0	1	0.09	0.1	0.095	0	0	
10	7	4	1	1	2	25	1	1	0.12	0.11	0.115	0	0	
10	8	4	1	1	2	25	0	1	0.06	0.07	0.065	0	0	
10	9	4	2	11	2	25	0	1	0.09	0.11	0.1	0	0	
10	10	4	1	1	2	6	0	0	0.08	0.05	0.065	0	0	
10	11	4	1	1	2	6	0	0	0.08	0.09	0.085	0	0	
10	12	4	1	1	2	6	1	0	0.13	0.13	0.13	0	0	
10	13	4	3	13	3	5	0	0	0.03	0.01	0.02	0	0	
10	14	4	1	1	1	5	0	0	0.06	0.07	0.065	0	0	
10	15	4	1	1	1	19	0	0	0.07	0.06	0.065	0	0	
10	16	4	1	1	1	19	0	0	0.04	0.05	0.045	0	0	
10	17	4	1	1	1	8	1	0	0.01	0.02	0.015	0	0	
10	18	4	1	1	1	8	1	1	0.03	0.03	0.03	0	0	
10	19	4	1	1	1	8	0	0	0.07	0.11	0.09	0	0	
10	20	4	1	1	1	8	1	1	0.06	0.08	0.07	0	0	
10	21	4	1	1	1	8	0	0	0.08	0.08	0.08	0	0	
10	22	4	1	1	2	35	0	1	0.1	0.13	0.115	0	0	
10	23	4	1	1	2	35	0	0	0.09	0.09	0.09	0	0	
10	24	4	1	1	1	35	0	0	0.06	0.08	0.07	0	0	
10	25	4	1	1	1	15	0	0	0.03	0.02	0.025	0	0	
10	26	4	1	1	1	15	0	0	0.02	0.02	0.02	0	0	
10	27	4	1	1	1	15	0	0	0.1	0.09	0.095	0	0	
10	28	4	3	13	3	6	0	0	0.01	0.03	0.02	0	0	
10	29	4	1	1	1	26	0	1	0.13	0.11	0.12	0	0	
10	30	4	1	1	1	26	0	0	0.09	0.09	0.09	0	0	
10	31	4	1	1	1	26	0	0	0.06	0.07	0.065	0	0	
10	32	4	1	1	1	22	0	1	0.06	0.06	0.06	0	0	
10	33	4	1	1	1	22	0	0	0	0	0	0	0	
10	34	4	1	1	1	30	0	1	0.03	0.01	0.02	0	0	
10	35	4	1	1	1	30	0	1	0.03	0	0.015	0	0	
11	1	4	3	13	3	3	0	0	0	0	0	0	0	23', 0.073
11	2	4	3	13	3	3	0	0	0	0	0	0	0	
11	3	4	3	13	3	3	0	0	0.09	0.07	0.08	0	0	
11	4	4	3	13	3	3	0	0	0.05	0.06	0.055	0	0	
11	5	4	3	13	3	4	0	0	0	0.03	0.015	0	0	
11	6	4	1	1	3	4	0	0	0.02	0.02	0.02	0	0	

12	2	4	3	12	3	5	0	0	0.08	0.08	0.08	0	0	34, 0.163
12	3	4	3	12	3	5	0	1	0.09	0.14	0.115	0	0	
12	4	4	3	12	3	5	0	0	0.09	0.09	0.09	0	0	
12	5	4	3	12	3	5	0	0	0.09	0.08	0.085	0	0	
12	6	4	3	12	3	5	0	1	0.06	0.09	0.075	0	0	
12	7	4	3	12	3	4	0	0	0.1	0.06	0.08	0	0	
12	8	4	3	12	3	4	0	0	0.1	0.1	0.1	0	0	
12	9	4	3	12	6	20	0	1	0.44	0.4	0.42	0	0	36, 0.442
12	10	4	3	12	3	4	0	1	0.07	0.06	0.065	0	0	34, 0.163
12	11	4	1	1	2	15	0	0	0.09	0.09	0.09	0	0	
12	12	4	1	2	2	15	0	0	0.11	0.11	0.11	0	0	
12	13	4	1	1	2	15	0	0	0.14	0.12	0.13	0	0	
12	14	4	1	1	2	15	0	0	0.15	0.12	0.135	0	0	
12	15	4	1	1	2	15	0	1	0.29	0.31	0.3	0	0	36, 0.442
12	16	4	1	1	2	15	0	1	0.12	0.14	0.13	0	0	34, 0.163
12	17	4	1	1	2	15	0	1	0.11	0.15	0.13	0	0	
12	18	4	1	1	2	15	0	0	0.21	0.16	0.185	0	0	36, 0.442
12	19	4	1	1	2	15	0	1	0.12	0.12	0.12	0	0	34, 0.163
12	20	4	1	1	2	15	0	1	0.14	0.14	0.14	0	0	
12	21	4	1	1	5	18	1	0	0.13	0.15	0.14	0	0	
12	22	4	1	1	1	18	0	0	0.1	0.13	0.115	0	0	
12	23	4	1	1	1	18	0	0	0.06	0.09	0.075	0	0	
12	24	4	1	1	1	18	0	0	0.14	0.15	0.145	0	0	
12	25	4	1	1	1	18	1	1	0.37	0.35	0.36	0	0	36, 0.442
12	26	4	1	1	1	18	1	1	0.15	0.15	0.15	0	0	35, 0.191
12	27	4	1	1	1	18	1	1	0.18	0.17	0.175	0	0	
12	28	4	1	1	1	18	1	1	0.18	0.16	0.17	0	0	
12	29	4	1	1	1	18	0	1	0.15	0.26	0.205	0	0	
12	30	4	1	1	1	18	0	0	0.16	0.16	0.16	0	0	
12	32	4	1	2	1	12	0	1	0.13	0.13	0.13	0	0	
12	33	4	1	2	1	12	0	1	0.13	0.12	0.125	0	0	
12	38	4	1	1	2	15	1	1	0.15	0.13	0.14	0	0	
12	39	4	1	1	2	15	0	0	0.19	0.18	0.185	0	0	
12	40	4	1	1	2	15	0	0	0.19	0.2	0.195	0	0	
12	41	4	1	1	2	15	0	1	0.17	0.16	0.165	0	0	
12	42	4	1	1	2	15	0	1	0.13	0.16	0.145	0	0	
12	43	4	2	7	2	15	0	0	0.18	0.18	0.18	0	0	
12	44	4	1	1	2	10	0	0	0.21	0.2	0.205	0	0	
12	45	4	1	1	2	12	0	0	0.14	0.14	0.14	0	0	
12	46	4	5	19	3	12	0	0	0.13	0.11	0.12	0	0	
12	47	4	1	2	2	15	0	0	0.17	0.16	0.165	0	0	
12	48	4	1	2	2	15	0	0	0.17	0.16	0.165	0	0	
12	50	4	1	1	2	15	0	0	0.11	0.15	0.13	0	0	
12	57	1	3	12	6	12	0	0	0.29	0.29	0.29	0	0	37, 0.564
12	58	1	1	1	1	12	0	1	0.38	0.38	0.38	0	0	
12	59	1	1	1	1	12	0	1	0.38	0.44	0.41	0	0	
12	60	1	1	1	1	12	0	1	0.38	0.45	0.415	0	0	
12	61	1	1	1	1	12	0	1	0.43	0.48	0.455	0	0	
12	62	1	1	1	1	12	0	1	0.42	0.47	0.445	0	0	
12	63	1	1	1	1	12	0	1	0.36	0.42	0.39	0	0	
12	64	1	2	11	1	12	0	1	0.44	0.51	0.475	0	0	
12	65	1	5	16	1	14	0	1	0.32	0.44	0.38	0	0	
12	66	1	2	10	1	12	0	1	0.37	0.42	0.395	0	0	

12 67	1	1	6	1 12	0	0	0.35	0.39	0.37							0	0	
12 68	1	5	16	1 14	0	1	0.35	0.4	0.375							0	0	
12 69	1	1	6	1 12	0	1	0.29	0.33	0.31							0	0	
12 70	1	2	7	1 14	0	1	0.41	0.41	0.41							0	0	
12 71	1	2	7	1 14	0	1	0.46	0.5	0.48							0	0	
12 72	1	5	19	1 12	0	1	0.38	0.46	0.42							0	0	
12 73	1	3	12	1 12	0	0	0.25	0.25	0.25							0	0	
12 74	1	2	10	1 14	0	1	0.38	0.43	0.405							0	0	
12 75	1	1	6	1 12	0	0	0.3	0.4	0.35							0	0	
12 76	1	1	6	1 14	0	0	0.47	0.46	0.465							0	0	
12 77	1	1	1	2 15	0	0	0.37	0.43	0.4							0	0	
12 78	1	1	1	2 15	0	0	0.32	0.33	0.325							0	0	
12 79	1	1	1	2 15	0	0	0.41	0.39	0.4							0	0	
12 80	1	1	1	2 15	0	0	0.46	0.5	0.48							0	0	
12 81	1	2	9	2 15	0	0	0.39	0.49	0.44	0	0.17	0.085				1	1	44,.361 / 46,.248
12 82	1	2	9	2 15	0	0	0.36	0.4	0.38	0.1	0.14	0.12				1	1	
12 83	1	2	9	2 15	0	0	0.43	0.42	0.425	0.1	0.08	0.09				1	1	
12 84	1	2	9	2 15	0	0	0.61	0.66	0.635	0.14	0.14	0.14				1	1	40,.388 / 46,.248
12 85	1	2	9	2 15	0	0	0.42	0.4	0.41	0.24	0.21	0.225				1	1	44,.361 / 46,.248
12 86	1	2	9	2 15	0	0	0.36	0.39	0.375	0.07	0.12	0.095				1	1	45,.338 / 47,.332
12 87	1	5	16	2 2	0	0	0.16	0.15	0.155							0	0	45, 0.338
12 88	1	5	16	2 2	0	0	0.34	0.39	0.365							0	0	40, 0.388
12 89	1	5	16	2 15	0	0	0.37	0.38	0.375							0	0	
12 90	1	5	16	2 15	0	0	0.29	0.32	0.305							0	0	
12 91	1	5	17	2 15	0	0	0.49	0.54	0.515	0.31	0.3	0.305				1	1	40,.338 / 47,.332
12 92	1	5	17	2 15	0	0	0.32	0.4	0.36	0	0	0				1	1	49,.097 / 51,.138
12 93	1	2	10	2 7	0	0	0.28	0.35	0.315	0	0	0				1	1	
12 94	1	2	10	2 7	0	0	0.9	0.92	0.91	0.18	0.19	0.185				1	1	40,.338 / 47,.332
12 95	1	1	6	2 12	0	0	0.3	0.29	0.295							0	0	45, 0.338
12 96	1	1	6	2 12	0	1	0.35	0.29	0.32							0	0	
12 97	1	1	6	2 12	0	0	0	0.03	0.015							0	0	49, 0.097
12 98	1	1	3	1 12	0	0	0.37	0.38	0.375							0	0	42, 0.428
12 99	1	1	3	1 12	0	0	0	0	0							0	0	49, 0.097
12 100	1	1	6	1 12	0	0	0.42	0.38	0.4							0	0	40, 0.388 @FONDO
12 101	1	1	6	1 12	0	0	0.42	0.42	0.42							0	0	42, 0.428
12 102	1	3	13	3 3	0	0	0.32	0.32	0.32							0	0	40, 0.388 @FONDO
12 103	1	3	13	3 3	0	0	0.39	0.41	0.4							0	0	@FONDO
12 104	1	3	13	3 3	0	0	0.3	0.28	0.29							0	0	42, 0.428
13 1	4	1	6	7 26	0	1	0.36	0.35	0.355							0	0	
13 2	4	1	4	2 26	1	1	0.33	0.28	0.305							0	0	
13 3	4	1	1	1 26	1	0	0.35	0.43	0.39	0	0	0				1	1	49,.097 / 51,.138
13 4	4	2	11	1 26	1	1	0.46	0.46	0.46	0.22	0.34	0.28				1	1	45,.338 / 47,.330
13 5	4	1	1	7 26	0	0	0.17	0.17	0.17	0.03	0.01	0.02				1	1	49,.097 / 51,.138
13 6	4	1	2	1 25	0	0	0.4	0.34	0.37							0	0	42, 0.428
13 7	4	1	3	7 26	1	0	0.34	0.24	0.29							0	0	45, 0.338
13 8	4	2	7	1 26	1	0	0.32	0.2	0.26							0	0	
13 9	4	1	3	1 26	1	0	0.31	0.22	0.265							0	0	
13 10	4	1	2	1 26	0	0	0.27	0.19	0.23							0	0	
13 11	4	1	1	1 26	1	1	0.46	0.24	0.35	0.22	0.1	0.16				1	1	45,.338 / 47,.330
13 12	4	1	1	1 15	0	0	0.13	0.16	0.145	0	0	0				1	1	49,.097 / 51,.138
13 13	4	1	1	2 12	0	1	0.34	0.17	0.255							0	0	45, 0.338
13 14	4	1	1	2 15	0	1	0.36	0.13	0.245							0	0	

13	15	4	1	1	2	16	0	1	0.24	0.21	0.225				0	0	
13	16	4	1	1	2	12	0	1	0.18	0.29	0.235	0	0.03	0.015	1	1	49,.097 / 51,.138
13	17	4	1	1	2	10	0	0	0.3	0.24	0.27				0	0	45, 0.338
13	18	4	1	1	2	12	0	1	0.3	0.12	0.21				0	0	
13	19	4	1	4	2	12	0	1	0.22	0.11	0.165				0	0	
13	20	4	1	4	2	12	0	0	0.39	0.31	0.35	0.26	0.22	0.24	1	1	45,.338 / 47,.330
13	21	4	1	4	2	20	0	1	0.2	0.11	0.155				0	0	
13	22	4	1	1	2	12	0	0	0.45	0.44	0.445	0.64	0.66	0.65	1	2	49,.097 / 51,.138
13	23	4	1	1	2	12	0	1	0.4	0.36	0.38	0.09	0.52	0.305	1	2	
13	24	4	1	5	2	12	0	1	0.34	0.3	0.32	0	0.25	0.125	1	1	
13	25	4	1	4	2	15	0	1	0.2	0.25	0.225				0	0	45, 0.338
13	26	4	1	4	2	15	0	1	0.14	0.25	0.195				0	0	
13	27	4	1	1	1	20	0	1	0.33	0.31	0.32				0	0	38, 0.303 @FONDD
13	28	4	1	1	1	20	0	1	0.09	0.11	0.1				0	0	45, 0.338
13	29	4	1	3	1	20	0	0	0.15	0.19	0.17				0	0	
13	30	4	1	3	1	20	0	1	0.42	0.34	0.38	0.34	0.32	0.33	1	2	49,.097 / 47,.330
13	31	4	5	16	2	12	0	1	0.45	0.41	0.43	0.3	0.35	0.325	1	1	45,.338 / 47,.330
13	32	4	1	5	2	7	0	1	0.28	0.26	0.27				0	0	44, 0.361
14	1	3	4	14	11	1	0	0	0.01	0	0.005				0	0	25, 0.164
14	2	3	4	14	11	1	0	0	0.08	0.07	0.075				0	0	
14	3	1	4	14	11	1	0	0	0.15	0.11	0.13				0	0	26', 0.346
14	4	1	4	14	11	1	0	0	0.12	0.15	0.135				0	0	
14	5	1	4	14	11	1	0	0	0.16	0.2	0.18				0	0	
14	6	1	4	14	11	1	0	0	0.78	0.75	0.765	0.25	0.25	0.25	1	2	26',.346 / 27,.065
14	7	1	4	14	11	1	0	0	0.16	0.18	0.17				0	0	26', 0.346
14	8	1	4	14	11	1	0	0	0.17	0.17	0.17				0	0	
14	9	3	4	14	11	1	0	0	0	0	0				0	0	25, 0.164
14	10	3	4	14	11	1	0	0	0.19	0.14	0.165				0	0	
14	11	1	4	14	11	1	0	0	0.19	0.17	0.18				0	0	26', 0.346
14	12	1	4	14	11	1	0	0	0.24	0.27	0.255				0	0	
14	13	1	4	14	11	1	0	0	0.58	0.6	0.59	0.24	0.24	0.24	1	2	26',.346 / 27,.065
14	14	1	4	14	11	1	0	0	0.23	0.2	0.215				0	0	26', 0.346
14	15	1	4	14	11	1	0	0	0.27	0.26	0.265				0	0	
14	16	1	4	14	11	1	0	0	0.2	0.21	0.205				0	0	
14	17	1	4	14	11	1	0	0	1.05	1.1	1.075	0.18	0.19	0.185	1	2	26',.346 / 27,.065
14	18	1	4	14	11	1	0	0	0.3	0.3	0.3				0	0	41, 0.577
14	19	1	4	14	11	1	0	0	0.17	0.15	0.16				0	0	26', 0.346
14	20	1	4	14	11	1	0	0	0.14	0.21	0.175				0	0	
14	21	1	4	14	11	1	0	0	1.2	1.19	1.195	0.24	0.25	0.245	1	2	26',.346 / 27,.065
14	22	1	4	14	11	1	0	0	0.99	1.04	1.015	0.24	0.25	0.245	1	2	
14	23	3	4	14	11	1	0	0	0	0.07	0.035				0	0	25', 0.782
14	24	3	4	14	11	1	0	0	0	0	0				0	0	
14	25	1	4	14	11	1	0	0	0.14	0.13	0.135				0	0	26', 0.346
14	26	1	4	14	11	1	0	0	0.21	0.18	0.195				0	0	
14	27	1	4	14	11	1	0	0	0.78	0.81	0.795	0.19	0.2	0.195	1	2	26',.346 / 27,.065
14	28	1	4	14	11	1	0	0	0.25	0.25	0.25				0	0	26', 0.346
14	29	1	4	14	11	1	0	0	1.06	1.04	1.05	0.24	0.24	0.24	1	2	26',.346 / 27,.065
14	30	1	4	14	11	1	0	0	1.06	1.12	1.09	0.29	0.27	0.28	1	2	25',.782 / 28,.041
14	31	1	4	14	11	1	0	0	0.36	0.43	0.395				0	0	25', 0.782
14	32	1	4	14	11	1	0	0	0.38	0.4	0.39				0	0	
14	33	1	4	14	11	1	0	0	0.46	0.42	0.44				0	0	
14	34	1	4	14	11	1	0	0	0.46	0.42	0.44				0	0	

14 35	1	4	14	11	1	0	0	1.18	1.17	1.175	0.26	0.24	0.25	1	2	25', .782 / 28,.041
14 36	1	4	14	11	1	0	0	0.42	0.43	0.425				0	0	25', 0.782
14 37	3	4	14	11	1	0	0	0.14	0.15	0.145				0	0	25, 0.164
14 38	3	4	14	11	1	0	0	0.14	0.14	0.14				0	0	
14 39	1	4	14	11	1	0	0	0.47	0.39	0.43				0	0	25', 0.782
14 40	1	4	14	11	1	0	0	1.23	1.22	1.225	0.27	0.27	0.27	1	2	25', .782 / 28,.041
14 41	1	4	14	11	1	0	0	0.44	0.4	0.42				0	0	25', 0.782
14 42	1	4	14	11	1	0	0	0.32	0.33	0.325				0	0	
14 43	1	4	14	11	1	0	0	0.47	0.4	0.435				0	0	
14 44	1	4	14	11	1	0	0	0.43	0.44	0.435				0	0	
14 45	1	4	14	11	1	0	0	0.19	0.15	0.17				0	0	26', 0.346
14 46	1	4	14	11	1	0	0	1.15	1.07	1.11	0.32	0.23	0.275	1	2	26', .346 / 27,.065
14 47	1	4	14	11	1	0	0	0.19	0.13	0.16				0	0	26', 0.346
14 48	1	4	14	11	1	0	0	0.18	0.2	0.19				0	0	
14 49	1	4	14	11	1	0	0	0.14	0.17	0.155				0	0	
14 50	1	4	14	11	1	0	0	0.21	0.21	0.21				0	0	
14 51	3	4	14	11	1	0	0	0	0.13	0.065				0	0	25, 0.164
14 52	3	4	14	11	1	0	0	0	0	0				0	0	
14 53	3	4	14	11	1	0	0	0	0	0				0	0	
14 54	3	4	14	11	1	0	0	0.02	0.02	0.02				0	0	
14 55	1	4	14	11	1	0	0	0.25	0.26	0.255				0	0	26', 0.346
14 56	1	4	14	11	1	0	0	0.94	0.92	0.93	0.2	0.19	0.195	1	2	26', .346 / 27,.065
14 57	1	4	14	11	1	0	0	1.25	1.24	1.245	0.19	0.19	0.19	1	2	
14 58	1	4	14	11	1	0	0	0.2	0.22	0.21				0	0	26', 0.346
14 59	1	4	14	11	1	0	0	0.26	0.19	0.235				0	0	
14 60	1	4	14	11	1	0	0	1.01	1.06	1.035	0.25	0.24	0.245	1	2	26', .346 / 27,.065
14 61	1	4	14	11	1	0	0	1.19	1.17	1.18	0.25	0.24	0.245	1	2	
14 62	1	4	14	11	1	0	0	0.25	0.28	0.265				0	0	26', 0.346
14 63	1	4	14	11	1	0	0	0.32	0.3	0.31				0	0	
14 64	1	4	14	11	1	0	0	0.3	0.29	0.295				0	0	
14 65	1	4	14	11	1	0	0	0.31	0.31	0.31				0	0	
14 66	1	4	14	11	1	0	0	0.93	0.84	0.885	0.26	0.24	0.25	1	2	26', .346 / 27,.065
14 67	3	4	14	11	1	0	0	0.02	0	0.01				0	0	25, 0.164
14 68	3	4	14	11	1	0	0	0	0	0				0	0	

**APENDICE E. LISTADO DE MUESTRAS SEROLOGICAMENTE POSITIVAS  
A TRISTEZA**

DPT	AR/		CIT	VAR	PAT	ED a	AF	CON	DAS			DAS - I			CEPA TRISTEZA	FINCA (o ubicacion)
	MST	MST							A1	A2	X das	A1	A2	X i		
4	61	1	2	18	2	12	1	1	0.68	0.7	0.69				MODERADA	Las Delicias
4	63	1	2	18	2	12	1	0	0.65	0.66	0.655	0.1	0.05	0.075	MODERADA	Las Delicias
4	64	1	2	18	2	12	1	0	0.58	0.55	0.565	0.1	0.05	0.075	MODERADA	Las Delicias
6	58	1	4	14	11	2	0	0	1.26	1.25	1.255	0.55	0.47	0.51	SEVERA	La Democracia
6	63	1	4	14	11	2	0	0	1.23	1.23	1.23	0.22	0.22	0.22	SEVERA	La Democracia
6	71	1	4	14	11	2	0	0	1	1.07	1.035	0.42	0.43	0.425	SEVERA	La Democracia
6	74	1	4	14	11	2	0	0	1.06	1.1	1.08	0.51	0.47	0.49	SEVERA	La Democracia
6	76	1	4	14	11	2	0	0	1.19	1.07	1.13	0.42	0.5	0.46	SEVERA	La Democracia
6	93	1	4	14	11	2	0	0	1.2	1.2	1.2	0.26	0.26	0.26	SEVERA	La Democracia
6	94	1	4	14	11	2	0	0	0.35	0.32	0.335	0.04	0.04	0.04	SEVERA	La Democracia
6	95	1	4	14	11	2	0	0	0.56	0.54	0.55	0.47	0.44	0.455	SEVERA	La Democracia
6	99	1	4	14	11	2	0	0	1.26	1.26	1.26	0.52	0.48	0.5	SEVERA	La Democracia
6	101	1	4	14	11	2	0	0	0.65	0.42	0.535	0.48	0.49	0.485	SEVERA	La Democracia
6	102	1	4	14	11	2	0	0	1.13	1.07	1.1	0.46	0.5	0.48	SEVERA	La Democracia
6	106	1	4	14	11	2	0	0	0.31	0.31	0.31	0.59	0.21	0.4	SEVERA	La Democracia
6	108	1	4	14	11	2	0	0	0.97	1.07	1.02	0.39	0.55	0.47	SEVERA	La Democracia
6	109	1	4	14	11	2	0	0	1.26	1.13	1.195	0.54	0.56	0.55	SEVERA	La Democracia
6	110	1	4	14	11	2	0	0	0.72	0.72	0.72	0.45	0.41	0.43	SEVERA	La Democracia
6	116	1	4	14	11	2	0	0	1.21	1.26	1.235	0.4	0.45	0.425	SEVERA	La Democracia
6	127	1	4	14	11	2	0	0	1.22	1.22	1.22	0.27	0.27	0.27	SEVERA	La Democracia
12	81	1	2	9	2	15	0	0	0.39	0.49	0.44	0	0.17	0.085	MODERADA	Vivero DIGESA
12	82	1	2	9	2	15	0	0	0.36	0.4	0.38	0.1	0.14	0.12	MODERADA	Vivero DIGESA
12	83	1	2	9	2	15	0	0	0.43	0.42	0.425	0.1	0.08	0.09	MODERADA	Vivero DIGESA
12	84	1	2	9	2	15	0	0	0.61	0.66	0.635	0.14	0.14	0.14	MODERADA	Vivero DIGESA
12	85	1	2	9	2	15	0	0	0.42	0.4	0.41	0.24	0.21	0.225	MODERADA	Vivero DIGESA
12	86	1	2	9	2	15	0	0	0.36	0.39	0.375	0.07	0.12	0.095	MODERADA	Vivero DIGESA
12	91	1	5	17	2	15	0	0	0.49	0.54	0.515	0.31	0.3	0.305	MODERADA	Vivero DIGESA
12	92	1	5	17	2	15	0	0	0.32	0.4	0.36	0	0	0	MODERADA	Vivero DIGESA
12	93	1	2	10	2	7	0	0	0.28	0.35	0.315	0	0	0	MODERADA	Vivero DIGESA
12	94	1	2	10	2	7	0	0	0.9	0.92	0.91	0.18	0.19	0.185	MODERADA	Vivero DIGESA
13	3	4	1	1	1	26	1	0	0.35	0.43	0.39	0	0	0	MODERADA	Vivero Sn.Jeronimo
13	4	4	2	11	1	26	1	1	0.46	0.46	0.46	0.22	0.34	0.28	MODERADA	Vivero Sn.Jeronimo
13	5	4	1	1	7	26	0	0	0.17	0.17	0.17	0.03	0.01	0.02	MODERADA	Vivero Sn.Jeronimo
13	11	4	1	1	1	26	1	1	0.46	0.24	0.35	0.22	0.1	0.16	MODERADA	Vivero Sn.Jeronimo
13	12	4	1	1	1	15	0	0	0.13	0.16	0.145	0	0	0	MODERADA	Chicajon
13	16	4	1	1	2	12	0	1	0.18	0.29	0.235	0	0.03	0.015	MODERADA	Guachipilin
13	20	4	1	4	2	12	0	0	0.39	0.31	0.35	0.26	0.22	0.24	MODERADA	Guachipilin
13	22	4	1	1	2	12	0	0	0.45	0.44	0.445	0.64	0.66	0.65	SEVERA	Guachipilin
13	23	4	1	1	2	12	0	1	0.4	0.36	0.38	0.09	0.52	0.305	SEVERA	Guachipilin
13	24	4	1	5	2	12	0	1	0.34	0.3	0.32	0	0.25	0.125	MODERADA	Guachipilin
13	30	4	1	3	1	20	0	1	0.42	0.34	0.38	0.34	0.32	0.33	SEVERA	La Aurora
13	31	4	5	16	2	12	0	1	0.45	0.41	0.43	0.3	0.35	0.325	MODERADA	EI Aguacate
14	6	1	4	14	11	1	0	0	0.78	0.75	0.765	0.25	0.25	0.25	SEVERA	Sanarate
14	13	1	4	14	11	1	0	0	0.58	0.6	0.59	0.24	0.24	0.24	SEVERA	Sanarate

14	17	1	4	14	11	1	0	0	:	1.05	1.1	1.075	:	0.18	0.19	0.185	:	SEVERA	:	Sanarate
14	21	1	4	14	11	1	0	0	:	1.2	1.19	1.195	:	0.24	0.25	0.245	:	SEVERA	:	Sanarate
14	22	1	4	14	11	1	0	0	:	0.99	1.04	1.015	:	0.24	0.25	0.245	:	SEVERA	:	Sanarate
14	27	1	4	14	11	1	0	0	:	0.78	0.81	0.795	:	0.19	0.2	0.195	:	SEVERA	:	Sanarate
14	29	1	4	14	11	1	0	0	:	1.06	1.04	1.05	:	0.24	0.24	0.24	:	SEVERA	:	Sanarate
14	30	1	4	14	11	1	0	0	:	1.06	1.12	1.09	:	0.29	0.27	0.28	:	SEVERA	:	Sanarate
14	35	1	4	14	11	1	0	0	:	1.18	1.17	1.175	:	0.26	0.24	0.25	:	SEVERA	:	Sanarate
14	40	1	4	14	11	1	0	0	:	1.23	1.22	1.225	:	0.27	0.27	0.27	:	SEVERA	:	Sanarate
14	46	1	4	14	11	1	0	0	:	1.15	1.07	1.11	:	0.32	0.23	0.275	:	SEVERA	:	Sanarate
14	56	1	4	14	11	1	0	0	:	0.94	0.92	0.93	:	0.2	0.19	0.195	:	SEVERA	:	Sanarate
14	57	1	4	14	11	1	0	0	:	1.25	1.24	1.245	:	0.19	0.19	0.19	:	SEVERA	:	Sanarate
14	60	1	4	14	11	1	0	0	:	1.01	1.06	1.035	:	0.25	0.24	0.245	:	SEVERA	:	Sanarate
14	61	1	4	14	11	1	0	0	:	1.19	1.17	1.18	:	0.25	0.24	0.245	:	SEVERA	:	Sanarate
14	66	1	4	14	11	1	0	0	:	0.93	0.84	0.885	:	0.26	0.24	0.25	:	SEVERA	:	Sanarate

## APENDICE F. FRECUENCIAS DE DATOS BRUTOS

CUADRO 10. Frecuencias generales de citricos.

		NARANJA	MANDARINA	L. ACIDA	CALAMON	OTROS	TOTALES
JUT	1	123	40	62		4	229
ZAC	2	25	1	169		2	197
IZA	3	289	76	20		6	391
CHIQ	4	111	14	2		8	135
S ROSA	5	268	10	90		2	370
ESC	6	98	16	40	141	3	298
GUATE	7	13		21		2	36
SUCHI	8	48		8			56
RETAL	9	32	32	4			68
QUETZ	10	128	4	8			140
S MARCOS	11	4		20			24
ALTA VER	12	149	17	41		13	220
BAJA VER	13	116	8			4	128
PROGRESO	14				96		96
<hr/>							
TOTALES		1404	218	485	237	44	2388

CUADRO 11. Frecuencias de ELISA por citricos.

00 - Negativos a VTC  
01 - Positivos a VTC

		NARANJA		MANDARINA		L. ACIDA		CALAMON		OTROS		TOTALES	
		00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01
JUT	1	123		40		62				4		229	0
ZAC	2	25		1		169				2		197	0
IZA	3	289		76		20				6		391	0
CHIQ	4	109	2	11	3	2				8		130	5
S ROSA	5	268		10		90				2		370	0
ESC	6	98		16		40		124	17	3		281	17
GUATE	7	13				21				2		36	0
SUCHI	8	48				8						56	0
RETAL	9	32		32		4						68	0
QUETZ	10	128		4		8						140	0
S MARCOS	11	4				20						24	0
ALTA VER	12	149		9	8	41				11	2	210	10
BAJA VER	13	76	40	4	4						4	80	48
PROGRESO	14							80	16			80	16
<hr/>													
TOTALES		1362	42	203	15	485	0	204	33	38	6	2292	96

CUADRO 12. Frecuencias de poblaciones de afidos por citricos.

00 - ausencia de afidos  
01 - presencia de afidos

		NARANJA		MANDARINA		L. ACIDA		CALAMON		OTROS		TOTALES	
		00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01
JUT	1	119	4	36	4	62				4		221	8
ZAC	2	17	8	1		163	6			2		183	14
IZA	3	278	11	77		29				6		381	11
CHIO	4	96	15	8	5	2				8		114	20
S ROSA	5	247	21	10		86	4			2		345	25
ESC	6	77	21	16		37	3	141		3		274	24
GUATE	7	13				15	2			2		34	2
SUCHI	8	36	12			8						44	12
RETAL	9	28	4	16	16	4						48	20
QUETZ	10	100	28	4		8						112	28
S MARCOS	11	4				20						24	0
ALTA VER	12	125	24	17		41				13		196	24
BAJA VER	13	96	20		8					4		100	28
PROGRESO	14							96				96	0
-----													
TOTALES		1236	138	185	33	470	15	237	0	44	0	2172	216

CUADRO 13. Frecuencias de condiciones por citricos.

00 - sin sintomas visuales  
01 - con sintomas visuales

		NARANJA		MANDARINA		L. ACIDA		CALAMON		OTROS		TOTALES	
		00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01
JUT	1		123		40		62			4		0	229
ZAC	2	9	16		1	15	151			2		27	170
IZA	3	21	268	19	57	4	16			2	4	46	345
CHIO	4	13	98	6	8	1	1			1	7	21	114
S ROSA	5	62	206		10	25	57			2		85	285
ESC	6		96		16	3	57	141		3		147	151
GUATE	7	13								2		25	11
SUCHI	8	20	32			9						28	28
RETAL	9	28	14	16	4		4					48	20
QUETZ	10	78	82		4	2						84	56
S MARCOS	11	4				2						24	0
ALTA VER	12	81	88	1	3	21	1			10	3	128	92
BAJA VER	13	44	71							4		48	80
PROGRESO	14							96				96	0
-----													
TOTALES		363	1071	4	11	264	237	0	16	28		807	1581

CUADRO 14. Frecuencias generales de patrones.

	CARRIZO	AGRID	MACRO	TRIFOL	TAIWAN	CRIOILLO	RANGPUR	RUGOSO	REAL	EUREKA	CALAMON	DESC	OTROS	TOTALES
JUT	1		137			21		38	28			5		229
ZAC	2		8	151		1						37		197
IZA	3		189		1	17	2			7		172	3	391
CHIG	4		106									29		135
S ROSA	5	56	196	82	12		8					16		370
ESC	6	11	56	30	19		5				141	3	33	298
GUATE	7		12	8		2							14	36
SUCHI	8		48	8										56
RETAL	9	52	16											68
QUETZ	10	80	52	8										140
S MARCOS	11			24										24
ALTA VER	12	67	105	39	4	5								220
BAJA VER	13	48	68				12							128
PROGRESO	14										96			96
TOTALES	314	993	350	32	21	31	25	38	28	7	237	262	50	2388

CUADRO 15. Frecuencias de ELISA por patron. 00 - negativos a VTC  
01 - positivos a VTC

	CARRIZO		AGRID		MACRO		TRIFOL		TAIWAN		CRIOILLO		RANGPUR		RUGOSO		REAL		EUREKA		CALAMON		DESC		OTROS		TOTALES		
	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	
JUT	1		137								21				38	28							5					229	0
ZAC	2		8	151						1													37					197	0
IZA	3		189				1	17	2										7				172	3				391	0
CHIG	4		101	5																			29					130	5
S ROSA	5	56	196	82	12							8											16					370	0
ESC	6	11	56	30	19							5										124	17	3	33			281	17
GUATE	7		12	8					2																14			36	0
SUCHI	8		48	8																								56	0
RETAL	9	52	16																									68	0
QUETZ	10	80	52	8																								140	0
S MARCOS	11			24																								24	0
ALTA VER	12	67	95	10	39				4	5																		210	10
BAJA VER	13	28	20	44	24							8	4															80	48
PROGRESO	14																					80	16					80	16
TOTALES	294	20	954	39	350	0	32	0	21	0	31	0	21	4	38	0	28	0	7	0	204	33	262	0	50	0	2292	96	

CUADRO 16. Frecuencias de poblaciones de afidos por patron.

00 - ausencia de afidos

01 - presencia de afidos

		CARRIZO		AGRID		MACRO		TRIFOL		TAIWAN		CRIDILLO		RANGPUR		RUGOSO		REAL		EUREKA		CALAMON		DESC		OTROS		TOTALES	
		00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01
JUT	1			133	4							21			38		24	4							5			221	8
ZAC	2			8		145	6					1												29	8		183	14	
IZA	3			182	7			1		13	4	2								7				172		3	380	11	
CHIQ	4			86	20																			29			115	20	
S ROSA	5	52	4	187	9	78	4	12				4	4											12	4		345	25	
ESC	6	11		41	15	27	3	19				5										141		3	27	6	274	24	
GUATE	7			12		8						2														12	2	34	2
SUCHI	8			36	12	8																						44	12
RETAL	9	36	16	12	4																							48	20
QUETZ	10	64	16	40	12	8																						112	28
S MARCOS	11					24																						24	0
ALTA VER	12	51	16	101	4	39			4	5																		196	24
BAJA VER	13	28	20	64	4							8	4															100	28
PROGRESO	14																					96						96	0
TOTALES		242	72	902	91	337	13	31	6	13	8	31	6	17	8	38	0	24	4	7	0	237	0	250	12	42	8	2172	216

CUADRO 17. Frecuencias de condiciones per patron.

00 - sin sintomas visuales

01 - con sintomas visuales

		CARRIZO		AGRID		MACRO		TRIFOL		TAIWAN		CRIDILLO		RANGPUR		RUGOSO		REAL		EUREKA		CALAMON		DESC		OTROS		TOTALES	
		00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01	00	01
JUT	1			137								21			38		28								5			0	229
ZAC	2			8		18	133					1												9	28		27	170	
IZA	3			15	174			1		6	11	1	1							7				23	149	3	46	345	
CHIQ	4			13	93																			8	21		21	114	
S ROSA	5	27	29	42	154	16	83							8											16		85	285	
ESC	6	11		56	3	27	19							5								141		3		33	147	151	
GUATE	7			12		8						1	1													12	2	25	11
SUCHI	8			20	26	8																						70	28
RETAL	9	46	4	16																								48	20
QUETZ	10	56	14	30	31	8																						84	56
S MARCOS	11					24																						24	0
ALTA VER	12	24	40	72	80	87	11			4	5																	128	92
BAJA VER	13	28	20	12	86									8	4													48	80
PROGRESO	14																					96						96	0
TOTALES		193	131	609	187	104	77	7	13	12	17	17	6	17	6	38	0	24	4	7	0	237	0	43	219	12	38	807	1501

CUADRO 18. Frecuencias de ELISA, condicion y afidos por edades de los arboles.

EDAD a	ELISA			CONDICION			AFIDOS		
	NEG	POS	TOTAL	SANO	ENF	TOTAL	NO	SI	TOTAL
	00	01		00	01		00	01	
1	129	16	145	145	0	145	145	0	145
2	105	17	122	111	11	122	122	0	122
3	61	0	61	19	41	60	58	3	61
4	29	0	29	18	11	29	26	3	29
5	262	0	262	56	206	262	242	20	262
6	114	0	114	61	53	114	100	14	114
7	59	2	61	18	43	61	61	0	61
8	162	0	162	40	122	162	144	18	162
9	21	0	21	13	8	21	17	4	21
10	228	0	228	40	188	228	213	15	228
11	33	0	33	1	32	33	29	4	33
12	155	29	184	34	150	184	167	17	184
13	21	0	21	10	11	21	21	0	21
14	30	0	30	1	29	30	26	4	30
15	452	12	464	123	341	464	453	11	464
16	4	0	4	0	4	4	4	0	4
18	52	0	52	23	29	52	23	29	52
19	20	0	20	16	4	20	16	4	20
20	179	4	183	29	154	183	167	16	183
22	15	0	15	4	11	15	15	0	15
24	12	0	12	0	12	12	6	6	12
25	69	0	69	1	68	69	52	17	69
26	40	16	56	36	20	56	28	28	56
30	14	0	14	0	14	14	14	0	14
34	8	0	8	0	8	8	8	0	8
35	18	0	18	8	10	18	15	3	18
TOTAL	2292	96	2388	807	1580	2387	2172	216	2388

EDAD a	ELISA			CONDICION			AFIDOS		
	NEG	POS	TOTAL	SANO	ENF	TOTAL	NO	SI	TOTAL
	00	01		00	01		00	01	
1-2	234	33	267	256	11	267	267	0	267
1-5	586	33	619	349	270	619	593	26	619
6-10	584	2	586	172	414	586	535	51	586
11-15	691	41	732	169	563	732	696	36	732
16-20	255	4	259	68	191	259	210	49	259
21-25	96	0	96	5	91	96	73	23	96
26-30	54	16	70	36	34	70	42	28	70
31-35	26	0	26	8	18	26	23	3	26
TOTAL	2292	96	2388	807	1581	2388	2172	216	2388

CUADRO 19. Frecuencia de uso de patrones por citrico.

	NARANJA	MANDARINA	LIMA ACIDA	CALAMONDIN	OTROS	TOTALES
CARRIZO	261	48	2		3	314
AGRID	831	83	64		15	993
MACROPHYLLA	4		339		7	350
TRIFOLIATA	24	4	4			32
TAIWANICA	19	2				21
L. CRIGLLO		1	30			31
L. RANGPUR	25					25
L. RUGOSO	23	1	14			38
L. REAL		28				28
L. EUREKA	3	2	2			7
CALAMONDIN				237		237
DESCONOCIDOS	175	49	23		15	262
OTROS	39		7		4	50
TOTALES	1404	218	485	237	44	2388