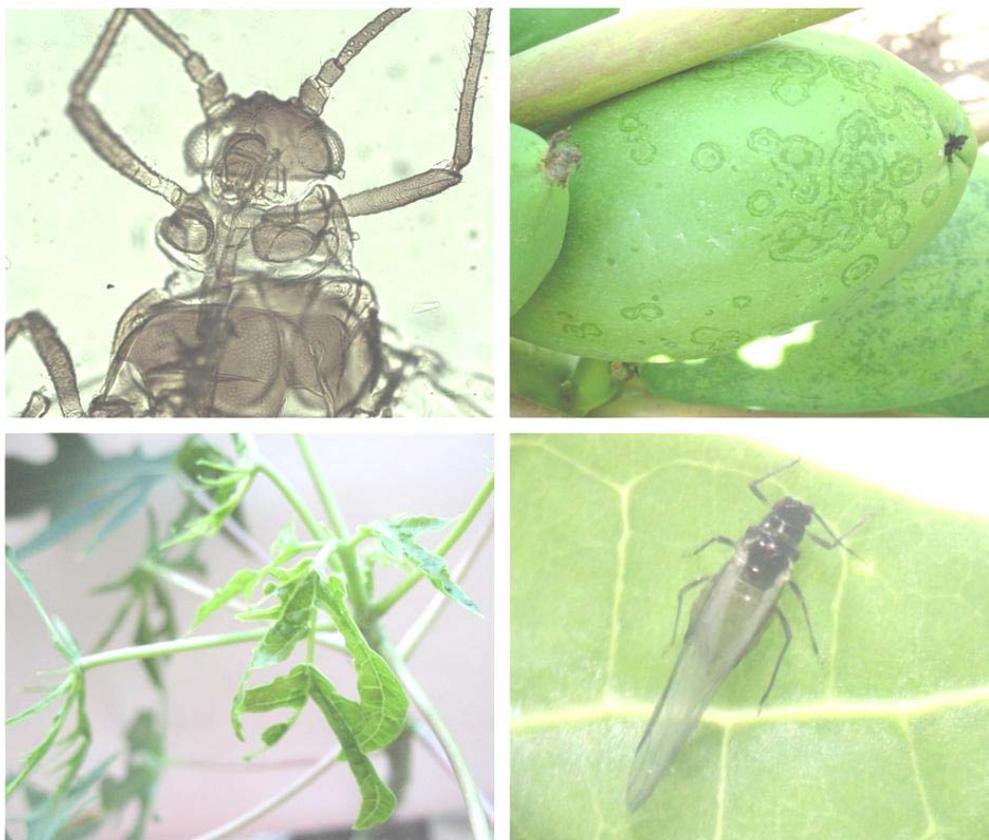


TESIS DE DIPLOMA

**Caracterización biológica del *Virus de la mancha anular de la papaya* en *Carica papaya* L. var. Maradol roja en Cuba**



**Autora:** Odleny Pérez Batista



**Caracterización biológica del *Virus de la mancha anular de la papaya* en *Carica papaya* L. var. Maradol roja en Cuba**

**Autora:** Odleny Pérez Batista

**Tutores:** Dr. Orelvis Portal Villafaña  
MSc. Dariel Cabrera Mederos

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas

2012

*Pensamiento*

*Emplearse en lo estéril cuando se puede hacer lo útil; ocuparse de lo fácil cuando se tiene bríos para intentar lo difícil, es despojar de su dignidad al talento.*

*José Martí*

*Dedicatoria*

*A las personas que siempre han estado apoyándome y a los que recuerdo en cada logro de mi vida*

*A mi mamá, a mi papá, a mi abuela, a mi prima, y a la luz de mi vida, mi hermanito.*

*Agradecimientos*

*Agradecimientos:*

*En primer lugar a Dariel por ayudarme en todo incondicionalmente, por ser mi amigo y por hacerme reír en los momentos más tristes.*

*A Orelvis por su paciencia conmigo, por mostrarme su sonrisa siempre, aun cuando incumplía todas las tareas que me mandaba.*

*A mi mamá, la persona a la que le debo todo mi desarrollo intelectual, la cual se ha esforzado siempre porque yo salga adelante y se ha sacrificado por mí.*

*A mi papá por aconsejarme, por su cariño y por su apoyo.*

*A mi nené lindo, Cristian, la personita más extraordinaria que existe en mi vida, gracias por soportarme en los momentos de stress y por quererme a pesar de ser yo tan dura con él.*

*A mi abuela, mi tía Iraida, mi prima y mi primo por quererme tanto y brindarme su amor en todo momento.*

*A René por formar parte de nuestras vidas y ayudarme en las cosas que he necesitado.*

*A Dayana, mi amiga, gracias por estar junto a mí en los momentos buenos y malos, por su originalidad y cariño por mí.*

*A Luc y Addiel, por hacerme ver la universidad divertida y por los maravillosos momentos que pasamos juntos en diferentes lugares de este país.*

*A Alexis, mi amigo y mi gordo preferido, por estar conmigo a pesar de estar tan lejos.*

*A todos mis amigos, en especial a Ana, Rosely, Maydiel, Rosario, Ana Laura y Dailly por haberme divertido tanto con ellos.*

*A María Teresa y Amanda por darme su apoyo en los primeros años de la carrera, en los momentos más duros.*

*A mi tía Masleydi y a Alina por su ayuda en los trabajos prácticos y sus consejos. No por ser las últimas son menos importantes.*

*A todos los que me han ayudado..... Gracias*

*Resumen*

## Resumen

El *Virus de la mancha anular de la papaya* (PRSV) se encuentra extendido en la mayoría de las zonas productoras de *Carica papaya* en Cuba. A pesar de su distribución y daños que produce, los estudios epifitológicos de este virus son limitados. El objetivo de esta investigación fue determinar la virulencia de aislados del PRSV, así como la identificación de especies de áfidos y la eficiencia en la transmisión del virus en papaya var. Maradol roja. Con este propósito, los aislados del PRSV colectados en zonas productoras de papaya en Cuba, se inocularon de forma mecánica en plantas jóvenes. Para la identificación de las especies de áfidos que frecuentan las plantaciones de papaya en Santo Domingo, se realizaron colectas mediante el uso de trampas Moericke. Se evaluó la eficiencia de *Aphis craccivora*, *Toxoptera citricidus* y *Rhopalosiphum maidis* en la transmisión del PRSV. Se confirmó la presencia del PRSV en las muestras de papaya colectadas y los aislados de Palma Soriano, San José de las Lajas, Guáimaro y Puerto Padre fueron los más virulentos. De las 16 especies de áfidos identificadas en las plantaciones de papaya, *Aphis gossypii* y *Aphis citricola* fueron las más abundantes. Se informó por primera vez en Cuba, la transmisión del PRSV por *T. citricidus*, *R. maidis* y *A. craccivora*, este último resultó la especie de mayor eficiencia en la transmisión.

*Abstract*

## Abstract

*Papaya ringspot virus* is extended in the most production areas of *Carica papaya* in Cuba. Despite its distribution and damages that produce, epidemiology studies of this virus are limited. The aim of this investigation was to evaluate the virulence of PRSV isolates, as well as the identification of aphid species and the efficiency of virus transmission in papaya cv. Maradol roja. With this purpose, PRSV isolates collected in papaya production areas in Cuba, were mechanically inoculated in juvenile plants. For the identification of aphid species that frequent papaya plantations in Santo Domingo, insects were collected by means of Moericke traps. It was evaluated the efficiency of PRSV transmission by *Aphis craccivora*, *Toxoptera citricidus* and *Rhopalosiphum maidis*. The presence of PRSV was confirmed in all papaya samples collected, and the Palma Soriano, San José de las Lajas, Guáimaro and Puerto Padre isolates were the most virulents. From the 16 identified aphid species in papaya plantations, *Aphis gossypii* and *Aphis citricola* were largely abundant. In this investigation, it was informed for the first time in Cuba, the PRSV transmission by *T. citricidus*, *R. maidis* and *A. craccivora*, the latter showed the greater transmission efficiency.

*Índice*

**Índice**

|          |   |           |
|----------|---|-----------|
| <b>1</b> | <b>Introducción</b>   | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>Revisión bibliográfica</b>   | <b>4</b>  |
| 2.1      | Generalidades del cultivo de la papaya  | 4         |
| 2.1.1    | Origen y distribución   | 4         |
| 2.1.2    | Características botánicas   | 4         |
| 2.1.3    | Importancia económica   | 5         |
| 2.1.4    | Ecología  | 6         |
| 2.1.5    | Variedades comerciales  | 6         |
| 2.1.6    | Problemas fitosanitarios  | 7         |
| 2.2      | Virus de la mancha anular de la Papaya  | 8         |
| 2.2.1    | Ubicación taxonómica  | 8         |
| 2.2.2    | Sintomatología  | 9         |
| 2.2.3    | Epifitiología   | 10        |
| 2.2.4    | Efectos en la producción de papaya  | 11        |
| 2.2.5    | Áfidos  | 12        |
| <b>3</b> | <b>Materiales y métodos</b>   | <b>16</b> |
| 3.1      | Virulencia de aislados del PRSV en plantas de papaya var. Maradol roja en condiciones semicontroladas | 16        |
| 3.2      | Especies de áfidos colectados en plantaciones de papaya   | 19        |
| 3.3      | Eficiencia en la transmisión del PRSV por áfidos  | 20        |
| 3.3.1    | Transmisión individual  | 20        |
| 3.3.2    | Transmisión en grupo  | 21        |

---

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| 3.3.3    | Períodos de retención del PRSV   | 22        |
| <b>4</b> | <b>Resultados</b>  | <b>23</b> |
| 4.1      | Virulencia de aislados de PRSV en plantas de papaya var. Maradol roja en condiciones semicontroladas | 23        |
| 4.2      | Especies de áfidos colectados en plantaciones de papaya  | 27        |
| 4.3      | Eficiencia en la transmisión del PRSV por áfidos   | 28        |
| 4.3.1    | Transmisión individual   | 28        |
| 4.3.2    | Transmisión en grupo   | 29        |
| 4.3.3    | Períodos de retención del PRSV   | 30        |
| <b>5</b> | <b>Discusión</b>   | <b>31</b> |
| 5.1      | Virulencia de aislados de PRSV en plantas de papaya var. Maradol roja en condiciones semicontroladas | 31        |
| 5.2      | Especies de áfidos colectados en plantaciones de papaya  | 32        |
| 5.3      | Evaluación de la eficiencia en transmisión del PRSV por áfidos                                       | 34        |
| 5.3.1    | Transmisión individual   | 34        |
| 5.3.2    | Transmisión en grupo   | 35        |
| 5.3.3    | Períodos de retención del PRSV   | 36        |
| <b>6</b> | <b>Conclusiones</b>  | <b>37</b> |
| <b>7</b> | <b>Recomendaciones</b>   | <b>38</b> |
| <b>8</b> | <b>Bibliografía</b>  |           |
| <b>9</b> | <b>Anexos</b>  |           |

## ***Introducción***

## 1. Introducción

La papaya (*Carica papaya* L.) se encuentra distribuida en las regiones tropicales y subtropicales y constituye uno de los frutales de mayor importancia en el mundo (Rieger, 2006). Los principales países productores a nivel mundial son Brasil, México, Nigeria, India e Indonesia, con más del 90% de la producción total. En Cuba, las condiciones para el cultivo de la papaya son favorables, donde se desarrolla a escala comercial desde 1904 (MINAG, 2008). La papaya constituye el tercer frutal en importancia económica, con producciones de 135 700 t en el año 2010 y rendimientos de aproximadamente 20 t.ha<sup>-1</sup> (FAO, 2011).

La variedad de papaya más extendida en Cuba es Maradol roja, que puede producir hasta 100 t.ha<sup>-1</sup> en un período de 10 meses a partir del trasplante (Rodríguez y Sánchez, 2009). Si se considera el potencial productivo de esta variedad, los rendimientos obtenidos en el país son bajos. La disminución de los rendimientos en este cultivo están asociados a las prácticas de manejo aplicadas y varios problemas fitosanitarios, provocados principalmente por enfermedades virales, fúngicas y procariotas, que reducen el ciclo de las plantaciones y afectan la calidad de los frutos. Las enfermedades producidas por virus, transmitidos por insectos vectores resultan las más peligrosas.

El *Virus de la mancha anular de la papaya* (PRSV) causa una de las enfermedades más destructivas en *C. papaya* a nivel mundial (Purcifull *et al.*, 1984). En Cuba, el PRSV se señaló por primera vez en los informes emitidos por la Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas (Acuña y Zayas, 1946) y en la actualidad se encuentra extendido en la mayoría de las zonas productoras de este frutal (Pérez y González, 2007).

La papaya puede comenzar la producción luego de ocho meses de trasplantada, y los frutos pueden cosecharse de manera continua alrededor de un año bajo condiciones normales. Frecuentemente, debido a la incidencia del PRSV, las cosechas no se extienden más allá de cuatro meses (Cabrera *et al.*, 2010). Los síntomas producidos por el PRSV en *C. papaya* son variables y dependen de los aislados que se puedan presentar (Purcifull *et al.*, 1984). De forma general, este

virus causa mosaico severo y distorsión de las hojas, anillos concéntricos en los frutos y manchas aceitosas en la parte superior de los tallos y en pecíolos. En México, se han observado síntomas producidos por el PRSV (Noa-Carrazana *et al.*, 2006) que no coinciden con lo descrito para esta enfermedad viral en Cuba. Aunque Cabrera *et al.* (2009a) informaron la diversidad biológica de aislados de este virus en Cuba, las investigaciones al respecto son escasas y según Tripathi *et al.* (2008), resultan cruciales en el manejo de esta enfermedad.

El PRSV es transmitido de manera no persistente por varias especies de áfidos que no colonizan esta planta (Mora-Aguilera *et al.*, 1993). Estos áfidos se consideran vectores transeúntes (Feres y Moreno, 2009; Irwin *et al.*, 2007) y su manejo resulta una práctica difícil.

En Cuba, en evaluaciones realizadas en plantaciones de papaya pertenecientes al municipio Santa Clara, se ha informado la importancia vectorial de *Myzus persicae* Sulzer, *Aphis gossypii* Glover y *Aphis citricola* (*spiraecola*) Van der Good (Hernández *et al.*, 1993). González y Rodríguez (2008), en Jagüey Grande (Matanzas) reconocieron la presencia de *A. gossypii*, *A. citricola* y *Toxoptera* sp. en plantaciones de naranja Valencia (*Citrus cinensis* L. Osbeck) intercaladas con papaya.

De las especies de áfidos informadas como vectores del PRSV, en Cuba solo se ha comprobado la transmisión de este virus por *M. persicae*, *A. gossypii*, *A. citricola* (Hernández *et al.*, 1993) y *M. nicotianae* Blakman (Hernández y Gómez, 2006). La abundancia de otras especies de áfidos en plantas hospedantes distribuidas en el país (Holman, 1974; Bruner *et al.*, 1975) y que han sido informadas como vectores del PRSV, requiere de investigaciones para confirmar la implicación de estos insectos en la epifitología de la enfermedad. Además, se han realizado pocos estudios epifitológicos con aislados del PRSV de diferentes zonas productoras de papaya. En la actualidad, solo se tienen referencias de los estudios realizados por Bau *et al.* (2003) y Davis *et al.* (2004), con aislados procedentes de Taiwan, Hawaii, Tailandia, México, y la Florida. Esta situación sugiere diferencias epifitológicas del PRSV, asociado a las condiciones ecológicas, especies de áfidos predominantes y

aislados presentes. La poca información sobre la interacción PRSV - *C. papaya* en Cuba, requiere de estudios que permitan incrementar el conocimiento epifitiológico de este patosistema y constituye un elemento crucial en el manejo de la enfermedad.

Ante esta problemática se plantea la siguiente hipótesis científica:

Mediante el estudio de la virulencia de aislados del *Virus de la mancha anular de la papaya*, la identificación de áfidos alados y la eficiencia en la transmisión del virus en papaya var. Maradol roja, se podrá contribuir al conocimiento epifitiológico de esta enfermedad viral en Cuba.

### **Objetivo general**

Determinar la virulencia de aislados del *Virus de la mancha anular de la papaya*, así como la identificación de especies de áfidos y eficiencia en la transmisión del virus en papaya var. Maradol roja.

### **Específicos**

1. Determinar la virulencia de aislados del *Virus de la mancha anular de la papaya* en plantas de papaya en condiciones semicontroladas.
2. Identificar las especies de áfidos alados en plantaciones de papaya.
3. Determinar la eficiencia en la transmisión del *Virus de la mancha anular de la papaya* por *Aphis craccivora*, *Toxoptera citricidus* y *Rhopalosiphum maidis* en plantas de papaya.

*Revisión bibliográfica*

## **2. Revisión bibliográfica**

### **2.1 Generalidades del cultivo de la papaya**

#### **2.1.1 Origen y distribución**

La papaya (*Carica papaya* L.) es una planta natural de América tropical, cuyo origen se sitúa en varios países de esta región (Muñoz, 1983; Wei y Wing, 2008), ubicándose en las tierras bajas de la América Tropical o en una región que incluye el sureste de México hasta Costa Rica. La descripción más antigua de esta especie es la del cronista Oviedo en 1535, señalando su origen en la región de Panamá (Muñoz, 1983). El cultivo de la papaya se ha distribuido ampliamente a lo largo de trópicos y subtrópicos (Davis *et al.*, 1996; Wei y Wing, 2008). Se supone que sus semillas se distribuyeron por el Caribe y sureste Asiático durante las exploraciones en el Siglo XVI, y luego se extendió rápidamente a India, el Pacífico y África (Villegas, 1997). No se considera que la papaya sea un cultivo invasivo en ninguna región del mundo (OECD, 2003), aunque existen evidencias que en regiones de las Islas Marianas, la papaya puede conformar hábitats desordenados (Space *et al.*, 2000). Aunque no se conoce con precisión el momento en que este cultivo fue introducido a Cuba; se considera que haya sido por los españoles en la etapa colonial (Peña *et al.*, 1996).

#### **2.1.2 Características botánicas**

La papaya es una planta herbácea arborescente, que se caracteriza por tener un desarrollo rápido y una vida útil corta, de aproximadamente dos años aunque puede vivir hasta 20 años. Presenta un tallo de crecimiento erecto que termina en un manojo de hojas, el cual puede medir de 2 a 10 m de altura y de 10 a 30 cm de diámetro, es cilíndrico, suave, esponjoso, fibroso, jugoso, hueco, variando del color gris al café grisáceo con la presencia de cicatrices grandes provocadas por la caída de las hojas. Las flores se producen en las axilas de los pecíolos de las hojas. Las plantas son polígamas, con flores masculinas, femeninas o

hermafroditas con grandes variaciones dentro de cada uno de ellos originando, por esta causa, un interesante complejo floral.

La papaya taxonómicamente comprende la siguiente ubicación según Cronquist (1988):

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Cloripetala*

Orden: *Brassicales*

Familia: *Caricaceae*

Género: *Carica*

Especie: *Carica papaya* L.

Predominan las plantas dioicas, pero lo deseable en una plantación son las dioicas y hermafroditas (Roig y Mesa, 1988). Las plantas de papaya producen frutos comerciales entre los 9 y 12 meses después del trasplante. Los frutos de papaya pueden ser cosechados hasta dos años, posterior a este período no se considera que las plantaciones sean rentables. Comercialmente se plantan entre 1 500 y 2 500 plantas.ha<sup>-1</sup> con una producción anual superior a 50 t (Gonsalves, 1998; Manshardt y Drew, 1998).

Se han desarrollado cultivares en cada uno de los países productores, para favorecer la producción de plantas hermafroditas. Esto se ve afectado por factores climáticos sobre todo por las fluctuaciones de las temperaturas, siendo las plantas femeninas más resistentes a estas condiciones.

### **2.1.3 Importancia económica**

*C. papaya* desde el punto de vista económico, es la especie más importante dentro de la familia a la cual pertenece por su alto rendimiento, valor nutritivo y por ser además, uno de los pocos frutales de producción continua durante todo el año. La papaya es muy consumida como frusca fresca, en bebidas, dulces, deshidratada y sus frutos verdes se emplean en ensaladas (Villegas, 1997). Sus frutos son altamente codiciados a escala mundial, no solo por su valor nutritivo ya que

aportan vitamina A, C y E (Gonsalves, 1998) y como una buena fuente de calcio, potasio y hierro (Nakasone y Paull, 1998), sino por las múltiples aplicaciones que tiene en ramas de la industria farmacéutica y de alimentos por ser rica en papaína (con propiedades antibacterianas) y quimopapaína, de donde se extrae el látex. La papaya es una planta que tiene muchos usos; las hojas se pueden emplear para ablandar carnes y reducir la nebulosidad en la cerveza durante su proceso de elaboración (Chen *et al.*, 2001; Swain y Powell, 2001). Se explora el uso de la papaya para producir una vacuna contra la tuberculosis, cisticercosis y otras enfermedades infecciosas en animales (Tecson Mendoza *et al.*, 2008).

#### **2.1.4 Ecología**

El rango óptimo de temperaturas para el buen desarrollo de *C. papaya* es de 24 a 26 °C, con mínimas medias anuales superiores a 18 °C. Temperaturas inferiores a 18 °C, retardan el crecimiento de las plantas y reducen la capacidad de floración y fructificación; además, los frutos retrasan la maduración y disminuyen su contenido de azúcares (Bhattarai *et al.*, 2004).

Las temperaturas superiores a 38 °C resultan desfavorables para la fructificación y la capacidad fotosintética disminuye. Además, pueden ocasionar deformaciones en los frutos y la aparición de las flores estériles de verano (Allan, 2002).

La papaya, por su constitución herbácea, alto contenido de agua en sus órganos (que puede llegar hasta un 85%), sistema radicular superficial y poco desarrollado, crecimiento vigoroso con floraciones y fructificaciones sucesivas, se considera una planta muy exigente al suministro de agua (Bhattarai *et al.*, 2004).

Las precipitaciones recomendadas para la papaya están en el orden de los 1 500 a 2 000 mm anuales, bien distribuidas durante todo el año (Peña *et al.*, 1996), lo que sugiere la aplicación de riego en las condiciones de Cuba.

#### **2.1.5 Variedades comerciales**

Debido a que la papaya se reproduce por semilla, se han desarrollado un gran número de variedades, empleándose en cada zona de cultivo las mejores

adaptadas a sus condiciones climatológicas. En Cuba, la variedad más extendida es la Maradol roja, obtenida por el fitomejorador Adolfo Rodríguez, y constituye la tercera variedad que más se exporta a nivel mundial (Rodríguez, 2010).

A pesar de las características deseadas de la variedad Maradol roja, la explotación monovarietal de este cultivo está sujeto a serios problemas fitosanitarios (Alonso *et al.*, 2005). Además, el mercado de exportación prefiere frutos de papaya alargados y cilíndricos (provenientes de flores hermafroditas), que sean de pequeño tamaño, y más resistentes al transporte y manejo (Manica, 1996). Por ello, en Cuba se han introducido cultivares del grupo Solo (Sunset, Baixinho de Santa Amalia y BH-65), en el germoplasma de este frutal. Estos cultivares introducidos pueden constituir una opción para aumentar la producción de papaya en nuestro país, con la posibilidad de obtener frutos pequeños, de forma ovalada y que atiendan a las necesidades de los consumidores y potenciar de esta forma el mercado de exportación y su consumo fresco en el sector del turismo (Alonso *et al.*, 2008).

#### **2.1.6 Problemas fitosanitarios**

El cultivo de la papaya presenta serios problemas fitosanitarios ocasionados por enfermedades fúngicas, bacterianas y virales. Dentro de los hongos que inciden en este cultivo, se destacan: *Cercospora papayae* Hansf, *Colletotrichum gloesporioides* (Penz) Sacc., *Rhizoctonia* sp., *Oidium caricae* F. Noack, *Cladosporium* sp., *Phomopsis caricae-papayae* Petrak. Además, inciden enfermedades asociadas a procariones como: Bunchy top, *Erwinia papayae* sp. nov., *Pseudomonas caricae-papayae* Robbs (Pérez y González, 2007).

Las enfermedades virales tienen gran importancia en *C. papaya*, y pueden ocasionar su pérdida total. Luego del PRSV, otras enfermedades virales son consideradas importantes en la producción de papaya a nivel mundial. El amarillamiento letal (*Papaya lethal yellowing virus*, PLYV), la necrosis apical (*Papaya apical necrosis virus*, PANV); la necrosis droopy (*Papaya droopy necrotic*

virus, PDNV); la meleira (*Papaya meleira virus*, PMeV) (Ventura *et al.*, 2004); el mosaico de la papaya (*Papaya mosaic virus*, PapMV) (Noa *et al.*, 2006).

El PLYV fue descrito por primera vez en Brasil (Loreto *et al.*, 1983) y no ha sido documentado en otras regiones del mundo. Según Amaral *et al.* (2006), esta enfermedad viral puede infectar *Vasconcellea cauliflora* (Jacq.) A. DC. Los síntomas iniciales producidos por el PLYV consisten en una coloración amarilla de las hojas superiores, que luego se rizan, marchitan y se produce la senescencia. En los frutos inmaduros se pueden observar manchas de color verde, que toman un color amarillo cuando estos maduran (Lima *et al.*, 2001). El PLYV es transmitido de forma mecánica y puede encontrarse en el suelo (Camarco *et al.*, 1998).

El PANV fue primeramente informado en Venezuela, en 1981 (Lastra y Quintero, 1981). En Cuba se identificó la presencia de esta enfermedad viral (Mejías *et al.*, 1987), con afectaciones considerables en las plantaciones de papaya (Hernández y Rodríguez, 1988) en la región central del país. Los síntomas de esta enfermedad se reflejan en un color amarillo de las hojas adultas, seguido de la marchitez de las hojas jóvenes, necrosis y muerte de la zona apical de la planta. Un *Rhabdovirus* similar, (PDNV) se ha informado en Florida y se transmite mediante *Empoasca papayae* Oman (Zettler y Wan, 1994).

El PMeV constituye una enfermedad de importancia en algunas regiones del mundo (Lima *et al.*, 2001; Maciel-Zambolin *et al.*, 2003). Esta enfermedad fue observada por productores de papaya en Brasil después de 1970, pero no fue considerada un problema hasta 1980, que provocó serias afectaciones en huertos de Bahía (Ventura *et al.*, 2004). Entre los síntomas asociados al PMeV se encuentran las exudaciones de látex en los pecíolos, en hojas jóvenes y frutos. La necrosis de las zonas afectadas ocurre seguida de la oxidación del látex. En experimentos bajo condiciones controladas, se ha comprobado la transmisión de esta enfermedad por *Bemisia argentifolii* Bell y Perring, también conocida como *B. tabaci* biotipo B (Vidal *et al.*, 2001).

## **2.2 Virus de la mancha anular de la papaya**

### **2.2.1 Ubicación taxonómica**

La familia *Potyviridae* es una de las más extensas dentro de los virus que afectan las plantas (Fauquet *et al.*, 2005). Se reconocen seis géneros en esta familia, con genomas monoparticulados (*Potyvirus*, *Macluravirus*, *Ipomovirus*, *Tritimovirus*, *Rymovirus*) de 650 a 900 nm de longitud y los *Bymovirus*, de genoma biparticulados con 250 a 300 nm y 500 a 600 nm respectivamente (Shukla *et al.*, 1998).

El género *Potyvirus* es el más numeroso de los integrantes de la familia *Potyviridae* (Fauquet *et al.*, 2005), y constituye uno de los grupos de virus de plantas más extensos (Raccah *et al.*, 2001). Este género contiene 128 especies confirmadas y 89 posibles (Fauquet *et al.*, 2005). Recibe el nombre de *Potyvirus* debido a su miembro tipo: El *Virus Y de la papa* (PVY) (Shukla *et al.*, 1998).

### **2.2.2 Sintomatología**

El PRSV causa múltiples síntomas en *C. papaya* (Purcifull *et al.*, 1984). Los síntomas dependen del aislado viral, el estado de desarrollo y nivel nutricional de la planta, grado de infección y de las temperatura existentes (Conover, 1964).

En Cuba, los síntomas producidos por el PRSV en condiciones de campo varían desde mosaico ligero, parches formados por áreas verde claro y verde oscuro alternadas en las hojas y zonas abultadas de color verde oscuro (islas verdes). Cuando la infección es severa se produce la deformación y reducción de la lámina foliar hasta alcanzar la filiformidad. En la zona superior del tallo y los pecíolos se forman manchas de apariencia aceitosa. En la superficie de los frutos afectados se producen manchas en forma de anillos concéntricos, que en casos severos pueden provocar ligera deformación y reducción del tamaño de estos. El mosaico formado en las hojas de plantas de papaya infectadas con el PRSV esta asociado con la disminución de pigmentos fotosintéticos (Cabrera *et al.*, 2009b). En frutos verdes, los anillos de apariencia aceitosa que se forman resaltan por su color más intenso.

Cuando estos maduran los síntomas persisten, mostrando un color naranja castaño más oscuro.

Cuando la infección ocurre en la etapa inicial del cultivo, antes de los dos meses de plantado, no se producen frutos. Si las plantas son infectadas en una etapa más avanzada se reducen los rendimientos, disminuye el contenido de azúcar de los frutos y la calidad de estos es pobre (Gonsalves, 1998). Se ha señalado que la manifestación de los síntomas es más marcada en la época de invierno (Jensen, 1949; Cabrera *et al.*, 2010).

### **2.2.3 Epifitiología**

#### **Plantas hospedantes**

El rango de hospedantes del PRSV está limitado a las familias *Caricaceae*, *Cucurbitaceae* y *Chenopodiaceae* (Gonsalves, 1993). Experimentalmente, se ha demostrado que las especies susceptibles al virus son: *Carica papaya*, *Chenopodium quinoa* W., *Cucumis melo* L., *Cucumis sativus* L., *Cucurbita maxima* D., *Cucurbita moschata* D., y *Cucurbita pepo* L. Se han identificado dos biotipos para el PRSV (PRSV-P y PRSV-W), ambos poseen viriones que no pueden diferenciarse en las pruebas serológicas pero difieren en su habilidad de infectar papaya (Purcifull *et al.*, 1984). El PRSV-W infecta naturalmente las cucurbitáceas, y *C. papaya* no constituye un hospedante de este biotipo (Gonsalves, 1998; Agrios, 2005).

#### **Transmisión**

Los potyvirus se transmiten de manera no persistente por áfidos (Raccah *et al.*, 2001), pertenecientes al orden *Hemiptera*, familia *Aphididae* (Blackman y Eastop, 2007). La transmisión no persistente se caracteriza por períodos de adquisición e inoculación muy cortos, de segundos a minutos (Pirone y Perry, 2002).

La forma de transmisión de los potyvirus favorece su rápida diseminación en zonas productoras con presencia de inóculo. Según Hernández *et al.* (1993), *M. persicae*,

*A. gossypii* y *A. citricola* constituyen las especies vectoras del PRSV en plantaciones de *C. papaya* en Villa Clara. Estos autores mencionan además, que *A. gossypii* es la especie que más frecuenta las plantaciones y que los áfidos pueden incidir durante los cinco primeros meses del ciclo del cultivo y tienen mayor índice de peligrosidad en los primeros tres. Los áfidos normalmente no colonizan las plantas de papaya (Mora-Aguilera *et al.*, 1993) y los procesos de adquisición e inoculación del virus ocurren debido a las pruebas para alimentarse, durante el reconocimiento de sus plantas hospedantes, cuando visitan plantas infectadas y luego plantas sanas.

En Michoacán (México), la densidad y diversidad poblacional de áfidos vectores de virus es elevada, debido a la existencia de agroecosistemas mezclados que son colonizados por estos insectos y comparten el mismo nicho ecológico de la papaya (Hernández-Castro *et al.*, 2004). Algo similar ocurre en Cuba, donde además de presentarse esta situación, existen condiciones agroclimáticas favorables durante todo el año (Hernández *et al.*, 1993).

En México, se han informado varias especies de áfidos como potenciales transmisores del PRSV, entre los que sobresalen *M. persicae*, *A. gossypii*, *A. citricola*, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, *Aphis craccivora* Koch, *Uroleucon ambrosiae* Thomas y *Macrosiphum euphorbiae* Thomas (García *et al.*, 1988; Nieto *et al.*, 1990).

Kalleshwaraswamy y Krishna-Kumar (2008), mencionan que en el sur de la India *A. gossypii* constituye la especie de áfido predominante y en correspondencia con estos resultados es presumible que esta especie sea la principal responsable de la transmisión del PRSV en el campo. Estos autores realizaron ensayos de transmisión con *M. persicae*, *A. gossypii* y *A. craccivora*, e informaron las primeras especies como más eficientes, con 56 y 53% respectivamente, seguidas de *A. craccivora*, con 38%.

En los últimos tiempos, en las zonas tropicales, se ha observado que *M. nicotianae*, es la especie más adaptada, con una tasa de multiplicación acelerada en hospedantes silvestres, en especial en plantas de tabaco (*Nicotiana tabacum*

L.). Esta especie no había sido informada como vector del PRSV hasta que experimentos de infección en plantas de papaya var. Maradol roja, mostraron una respuesta rápida en la aparición de síntomas de filiformidad en hojas y mosaico típico (Hernández y Gómez, 2006).

#### **2.2.4 Efectos en la producción de papaya**

El PRSV ha reducido significativamente la productividad de las plantaciones de papaya en países como Hawaii, Brasil, y otras regiones del Caribe y sureste de Asia (OECD, 2003). Brasil es uno de los mayores productores de papaya en el mundo. El PRSV se observó en varios estados de este país y representa el impedimento principal del cultivo, con mayor intensidad en el perímetro norte del estado de Ceará (Barreto *et al.*, 2002). El establecimiento de campos que temporalmente escapen del PRSV ha convertido su manejo en una práctica costosa y no siempre efectiva. Esto ha provocado que la producción en Brasil tenga costos muy elevados (Gonsalves, 1998; Ventura *et al.*, 2004).

Taiwán, a pesar de ser una isla pequeña tampoco ha escapado del virus, lo que ha afectado considerablemente su industria. El PRSV fue señalado en 1974 en el sur de la isla y se distribuyó por toda la región en pocos años. Los daños provocados forzaron a los campesinos a realizar cosechas anuales. Las semillas son sembradas en octubre y noviembre y la cosecha comienza en julio o agosto hasta diciembre, posteriormente las plantaciones son demolidas (Gonsalves, 1998).

En Venezuela, el PRSV ha ocasionado la pérdida total en siembras comerciales y se le considera como severa y endémica en algunos estados (Vegas *et al.*, 1998). En Cuba, el PRSV es informado por primera vez por Acuña y Zayas (1946). En muestreos realizados entre 1983 y 1985 en diferentes localidades del país, se determinó que este virus se encontraba ampliamente distribuido, con índices de infección altos en las provincias occidentales, y menores hacia la zona oriental (Fariñas y López, 1986).

## 2.2.5 Áfidos

### Reconocimiento de hospedantes

En el reconocimiento de hospedantes por los áfidos han sido definidos una secuencia de eventos (Powell *et al.*, 2006). La información fitoquímica es importante en muchas fases del proceso de selección del hospedante por el áfido (Pickett *et al.*, 1992). En cualquier etapa de esta secuencia, la planta puede ser rechazada inicialmente por el insecto, mediante la detección de señales físicas y/o químicas (Powell *et al.*, 2006). A continuación se describen estas etapas:

Etapas 1: Conducta previa al aterrizaje.

Etapas 2: Contacto inicial con la planta al aterrizar, y valoración de señales de la superficie antes de la inserción del estilete.

Etapas 3: Sondeo de la epidermis, las primeras inserciones del estilete inician después del contacto con la planta y son normalmente pruebas breves (<1 min) que se limitan a la epidermis (Powell *et al.*, 2006), en esta etapa se pueden transmitir los virus no persistentes, como es el caso del PRSV.

Etapas 4: Rutas del estilete, las inserciones del estilete que superan de 30 s a 1 min normalmente involucran la inserción más allá de la epidermis (Nault y Gyrisco, 1966).

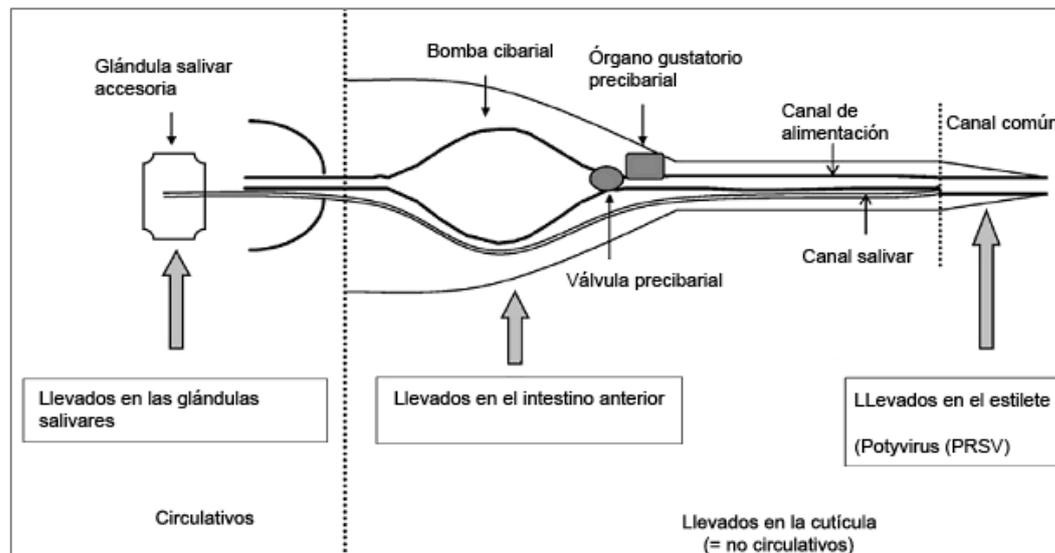
Etapas 5: Perforación de tubos cribosos y salivación, la inserción del estilete en el floema es seguida inicialmente por la inyección de saliva (Prado y Tjallingii, 1994).

Etapas 6: Aceptación del floema e ingestión sostenida, extensos períodos de contacto con el floema, de aproximadamente 10 min o superiores pueden representar la aceptación del floema (Tjallingii, 1994).

Aunque las señales detectadas antes de la inserción del estilete (etapas 1 y 2) influyen en el proceso de selección del hospedante, los principales factores que determinan la preferencia de la planta por los áfidos son detectados después de la inserción del estilete (Powell *et al.*, 2006). Según Kennedy *et al.* (1959a,b; 1961), estos insectos no muestran clara discriminación entre hospedantes y no hospedantes hasta que aterrizan e insertan su estilete en la planta, lo que favorece la transmisión no persistente de virus por varias especies de áfidos.

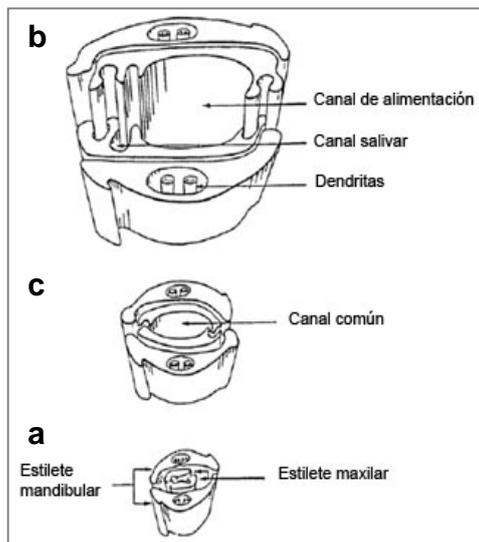
## Anatomía del estilete y sitios de retención de los virus no circulativos y llevados en la cutícula

En los virus que se transmiten de manera no persistente mediante áfidos, los viriones son retenidos en el canal común del estilete (Powell, 2005) (Figura 1).



**Figura 1.** Sitios de retención en las glándulas salivares, intestino anterior y estilete de los virus circulativos y llevados en la cutícula (Ferreles y Moreno, 2009, modificado).

En el aparato bucal de los áfidos, en los estiletes maxilares (unión de las dos maxilas), se distingue el canal alimenticio (de localización dorsal, con 1 a 2 micrómetros de diámetro) y el canal salivar (de localización ventral, con 0,2 a 0,4 micrómetros de diámetro). Ambos canales están separados a lo largo del estilete y se unen en un canal único en la porción distal del estilete (Figura 2a,b,c) (Forbes, 1969; Brault *et al.*, 2010).



**Figura 2.** Extremidad distal del estilete de los áfidos. Estiletes mandibulares y maxilares (a), Rasgos de los estiletes maxilares, formando el canal salivar y de alimentación (b) que se fusionan en el extremo para formar el canal común (c) (Taylor y Robertson, 1974, modificado).

En los estiletes maxilares se localizan las terminaciones responsables de la mecanorrecepción (Forbes y Mullick, 1970; Wensler, 1974). Los estiletes mandibulares tienen la función de penetrar y guiar a los estiletes maxilares a los tejidos más profundos de la planta. Los estiletes mandibulares rodean a los maxilares, pero permiten el movimiento de estos. Esta estructura se encuentra protegida por un labio, formado por cuatro segmentos con pelos en su extremo, que actúan como mecanorreceptores (Tjallingii, 1978). La faringe, a continuación del canal alimenticio, está constituida de tres partes: conducto faringeal (epifaringe e hipofaringe), válvula precibarial (controla los músculos dorsales, encargados de la apertura, y los músculos ventrales, encargados del cierre) y bomba cibarial (encargada del bombeo del líquido desde el canal alimenticio hasta el esófago).

***Materiales y métodos***

### **3. Materiales y métodos**

#### **Ubicación de los experimentos**

Los ensayos de inoculación artificial en condiciones semicontroladas se realizaron en el Instituto de Biotecnología de las Plantas de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Las colectas de áfidos en campo fueron realizadas en áreas de producción del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Cuba. Ubicado a 22° 35` LN y 80° 13` LO, a 45,35 msnm, precipitación media anual acumulada de 1348 mm y temperatura media anual de 24 °C.

#### **Material vegetal**

Las plantas empleadas procedían de semilla básica de papaya var. Maradol roja obtenidas en el INIVIT. La siembra de las semillas se realizó según Instructivo Técnico (MINAG, 2008), con previa germinación antes de la siembra en bolsas de polietileno.

#### **Procesamiento estadístico**

El procesamiento estadístico de los datos se realizó con la ayuda del paquete estadístico SPSS (del inglés, *Statistic Package for the Social Science*) para Windows, versión 18. En cada acápite se detalla el procedimiento utilizado para el análisis de las variables evaluadas.

### **3.1 Virulencia de aislados del PRSV en plantas de papaya var. Maradol roja en condiciones semicontroladas**

#### **Colecta de muestras sintomáticas**

La colectas de los aislados del PRSV se realizaron en zonas productoras de Cuba en el período comprendido entre el 2009 y 2012, exceptuando el aislado de Santo Domingo con el cual se había trabajado con anterioridad (Cabrera *et al.*, 2009) (Tabla I). Las colectas se efectuaron a partir de hojas en plantas de papaya var. Maradol roja, con síntomas típicos de la enfermedad producida por el PRSV (mosaico, deformación de los folíolos y anillos concéntricos en frutos) según Yeh *et*

al. (2007). Las muestras colectadas se mantuvieron en papel de filtro húmedo a 4 °C hasta su utilización.

**Tabla I.** Procedencia de muestras de papaya var. Maradol roja, con síntomas típicos del *Virus de la mancha anular de la papaya*, colectadas en diferentes zonas de Cuba.

| Provincias       | Municipios               | Localización  | Fecha      |
|------------------|--------------------------|---------------|------------|
| Artemisa         | San Antonio de los Baños | El Recodo     | Ene. 2012  |
| La Habana        | Boyeros                  | Wajay         | Feb. 2011  |
| Mayabeque        | Melena del Sur           | Los Pinos     | Abr. 2009  |
|                  | San José de las Lajas    | Las Papas     | Sept. 2010 |
| Camagüey         | Guáimaro                 | Casa Azul     | Feb. 2012  |
| Las Tunas        | Puerto Padre             | Maniabón      | Jun. 2011  |
| Holguín          | Rafael Freyre            | La Caridad    | Nov. 2010  |
| Santiago de Cuba | Palma Soriano            | Palma Soriano | Nov. 2011  |

### Diagnóstico de muestras colectadas

Las muestras colectadas fueron analizadas mediante el uso de plantas de papaya indicadoras (Hull, 2002) y propagativas de la enfermedad (Yeh *et al.*, 1984). Las muestras a emplear en los estudios de virulencia fueron analizadas mediante la amplificación del gen que codifica para la proteína de la cápsida (CP) del PRSV. La purificación de ARN se realizó a partir de 100 mg de fragmentos de hojas infectadas con el PRSV, mediante el sistema comercial *RNeasy® Plant Mini Kit* (Qiagen, Alemania).

La amplificación del fragmento deseado a partir del ARN extraído se realizó mediante reacciones de RT-PCR (del inglés: *Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction*), con la utilización del sistema comercial *Access RT-PCR System* (Promega, EE.UU.). Las reacciones se llevaron a cabo en un volumen final de 50 µl, en las siguientes condiciones para las concentraciones finales de sus componentes: 1 mM MgSO<sub>4</sub>, 1x del tampón comercial *AMV/Tfl* (10 mM Tris-HCl pH 9,0 a 25 °C; 50 mM KCl; 0,1% Tritón X-100); 0,2 mM de cada dNTP; 1 µM de cada

oligonucleótido (5761: 5'-cgggatccatgtccaagaatgaagctgtg-3' y 5762: 5'-gctctagatc agttgcgcataccag-3'), 5 U de la Reverso transcriptasa del *Virus de la mieloblastosis avícola* y 5 U de *Tfl* ADN polimerasa.

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un bloque térmico *Mastercycler personal* (Eppendorf, Alemania). Las condiciones fueron de 48 °C durante 45 min, seguido por un ciclo a 96 °C durante 1 min y 35 ciclos a 95 °C durante 90 s, 62 °C durante 1 min y 72 °C durante 1 min y para finalizar 72 °C durante 7 min. El resultado de la reacción se visualizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% en tampón TBE 1 X (890 mM Tris-borato, 890 mM ácido bórico y 20 mM EDTA).

### **Inoculación mecánica**

La inoculación de los aislados colectados del PRSV y que resultaron positivos por RT-PCR, además del aislado de Santo Domingo, se realizó de forma mecánica en plantas de papaya var. Maradol roja. Se utilizó la tercera y cuarta hoja expandida a partir del ápice y se aplicaron 200 µl de inóculo, se empleó carborundum (600 mesh) como abrasivo (Bau *et al.*, 2003). Se utilizaron plantas con 60 días de germinadas las semillas, 15 cm de altura y siete hojas expandidas. El inóculo se obtuvo mediante la maceración en mortero, de 1 g de tejido vegetal (hojas de plantas de papaya infectadas) en una dilución de 1:10 (v/v) de sulfito de sodio 0,1% y tampón sodio-potasio 0,01 M (pH 7,0).

Luego de la inoculación, las plantas se incubaron en la oscuridad durante tres días y se pasaron a condiciones de iluminación pasado este tiempo (Cruz *et al.*, 2008). La temperatura dentro del local se mantuvo entre 22 y 30 °C y se aplicó riego diario para mantener la humedad relativa superior al 50%. En este ensayo cada planta se consideró una réplica, y se emplearon 10 réplicas para cada aislado. El ensayo fue repetido en condiciones similares, con igual número de réplicas.

### **Evaluación de los síntomas**

La sintomatología desarrollada por los aislados del PRSV inoculados fue evaluada de forma diaria hasta los 63 días posteriores a la inoculación (dpi). Para la

determinación de la virulencia de cada aislado, se utilizó la escala de gradación propuesta por Cruz *et al.* (2008), para evaluar el PRSV en condiciones semicontroladas (Anexo 1). El índice de afectación producido por cada aislado del virus, se calculó mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943). El índice de afectación se determinó a los 21, 28, 35, 42, 49, 56 y 63 dpi. Con los valores del índice de afectación calculados se determinó el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), acorde a la fórmula de Shaner y Finney (1977).

Los datos del índice de afectación y ABCPE se analizaron estadísticamente mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para  $p < 0,05$ , previa comprobación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza.

### **3.2 Especies de áfidos colectados en plantaciones de papaya**

Para determinar las especies de áfidos asociadas a las plantaciones de papaya var. Maradol roja se realizó la identificación de los insectos colectados en áreas de Santo Domingo. Las colectas fueron iniciadas a los 15 días después del trasplante (ddt) de las plantas de papaya provenientes de vivero, hasta los 165 ddt. Las fechas de trasplante fueron: (enero de 2009; agosto de 2009 y abril de 2010). Las colectas se efectuaron según Hernández *et al.* (1993), dos veces por semana, con el uso de cuatro trampas tipo Moericke (Moericke, 1955), modificadas a las medidas 30 x 30 x 8 cm. Las trampas fueron colocadas en los extremos de las parcelas y se realizó el cambio del agua cada tercer día.

Los áfidos capturados fueron conservados en etanol 70% (Martin, 1983), y trasladados al laboratorio para su clasificación. La preparación y montaje de los insectos se realizó en el Laboratorio de taxonomía de insectos del Centro de Investigaciones Agropecuarias de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Los insectos fueron aclarados en una solución de KOH 10% (m/v) durante 24 h y se realizaron dos lavados durante 10 min en agua destilada. Para la observación de los caracteres morfológicos de los áfidos se empleó un microscopio óptico (Olympus 200x, Japón), y la identificación de las especies se realizó según Holman (1974) y Martin (1983).

### 3.3 Eficiencia en la transmisión del PRSV por áfidos

#### Mantenimiento de las colonias de áfidos e inóculo viral

*A. craccivora*, *T. citricidus* y *R. maidis* se ubican dentro de las especies de áfidos más abundantes en Cuba (Bruner *et al.*, 1975), y como no han sido informadas dentro de los vectores del PRSV en el país, se emplearon en ensayos de transmisión. Las especies de áfidos empleadas en los ensayos de transmisión fueron colectadas y las colonias mantenidas en sus hospedantes preferenciales (Tabla II). Las especies fueron identificadas según los caracteres morfológicos informados por Holman (1974) y Martin (1983) (Anexo 2), y la metodología descrita en el acápite 3.2. El inóculo viral se obtuvo mediante el uso de hojas de plantas de papaya infectadas con el PRSV (aislado de Santo Domingo). Para mantener el inóculo viral, se realizó la inoculación en plantas de papaya var Maradol roja, según se describe en el acápite 3.1.

**Tabla II.** Áfidos utilizados en los ensayos de transmisión y sus hospedantes preferenciales.

| Especies de áfidos          | Plantas hospedantes                         |
|-----------------------------|---|
| <i>Aphis craccivora</i>     | Habichuela ( <i>Vigna unguiculata</i> L.)   |
| <i>Toxoptera citricidus</i> | Naranja agria ( <i>Citrus aurantium</i> L.) |
| <i>Rhopalosiphum maidis</i> | Maíz ( <i>Zea mays</i> L.)                  |

Las plantas inoculadas con cada especie de áfido, fueron mantenidas en condiciones semicontroladas para los estudios de transmisión. En todos los ensayos de transmisión se utilizaron plantas de papaya con 60 días de germinadas y tres a cinco hojas expandidas.

#### 3.3.1 Transmisión individual

Para determinar la eficiencia en la transmisión del PRSV por *A. craccivora*, *T. citricidus* y *R. maidis* en inoculaciones individuales, se utilizó un áfido alado de cada especie por planta. Previo a la adquisición del virus, los áfidos fueron

secuestrados y sometidos a un período de ayuno de 90 min, posteriormente fueron transferidos usando pinceles finos y se colocaron de forma individual en hojas de papaya infectadas. Los insectos fueron observados durante su alimentación mediante un microscopio estereoscopio (Novel 20x, China). El criterio a considerar en la adquisición fue al observar el áfido presionando su labium a la superficie de la planta, con sus antenas hacia el dorso e inmóvil (Kalleshwaraswamy y Krishna-Kumar, 2008). Luego de un período de adquisición de 5 min, los áfidos fueron transferidos inmediatamente a la hoja apical de plantas de papaya sanas y removidos al cabo de igual período. En este ensayo cada planta inoculada se consideró una réplica, y se emplearon 10 réplicas para cada especie. El ensayo fue repetido en condiciones similares, con igual número de réplicas.

Las plantas inoculadas fueron mantenidas en condiciones semicontroladas, y se realizaron evaluaciones diarias hasta los 63 dpi. La identificación de las plantas infectadas se realizó mediante el método visual, según Hull (2002) y Yeh *et al.* (1984). Para comparar la eficiencia de cada especie, se discriminó entre plantas sanas y plantas infectadas a través de una variable dicotómica, y se cuantificó el porcentaje de plantas infectadas. Para medir asociación entre las especies y la infección, los datos fueron organizados en una tabla de contingencia y se realizó una prueba de Chi-cuadrado de Pearson, con 0,05 como nivel de significación.

### **3.3.2 Transmisión en grupo**

Para determinar la eficiencia en la transmisión del PRSV mediante la inoculación con grupos de insectos, se utilizaron cinco áfidos de la misma especie por cada planta. Los períodos de ayuno, adquisición, inoculación y la evaluación de las plantas inoculadas fueron similares a los descritos en el acápite 3.3.1. Los ensayos se realizaron con cinco plantas de papaya para cada especie de áfido, y fueron repetidos en el tiempo. Para comparar la eficiencia de cada especie en la transmisión del PRSV se discriminó entre plantas sanas y plantas infectadas, según la observación de los síntomas.

### **3.3.3 Períodos de retención del PRSV**

Para determinar los períodos de retención del PRSV por los áfidos, se emplearon insectos individuales de cada especie en los ensayos de inoculación. Previo a la adquisición del PRSV, se emplearon períodos de ayuno de 90 min, como se describe en el acápite 3.3.1; luego de esta, las especies fueron secuestradas durante 5, 10 y 30 min antes de transferir a plantas de papaya sanas. La manipulación de los insectos y la evaluación de las plantas de papaya inoculadas se realizaron según se describe en el acápite 3.3.1. Se utilizaron 5 plantas de papaya para cada período de retención, y los ensayos fueron repetidos en condiciones similares.

***Resultados***

## 4. Resultados

### 4.1 Virulencia de aislados de PRSV en plantas de papaya var. Maradol roja en condiciones semicontroladas

Todas las muestras colectadas, luego de ser inoculadas produjeron los síntomas de la enfermedad en plantas de papaya indicadoras. Estas muestras son representativas de algunas de las zonas productoras de papaya más importante en Cuba (Figura 3) y confirman la presencia del PRSV en estas regiones.



**Figura 3.** Ubicación de las muestras de papaya var. Maradol roja con síntomas del *Virus de la mancha anular de la papaya* colectadas en Cuba.

Derivado de la reacción de RT-PCR se logró la amplificación de un fragmento de ADN en las muestras analizadas, de aproximadamente 850 pares de base (pb) (Figura 4).



**Figura 4.** Electroforesis en gel de agarosa 1% de fragmentos de ADN obtenidos como resultado de la reacción de RT-PCR del gen de la CP a partir de los ARNs purificados de muestras de hojas de papaya correspondientes a zonas productoras de Cuba. Carril 1: Control negativo, carril 2: Muestra asintomática, carriles 3 a 10: Aislados del PRSV.

Los síntomas producidos por aislados del PRSV en plantas papaya var. Maradol roja se observan en la Figura 5.

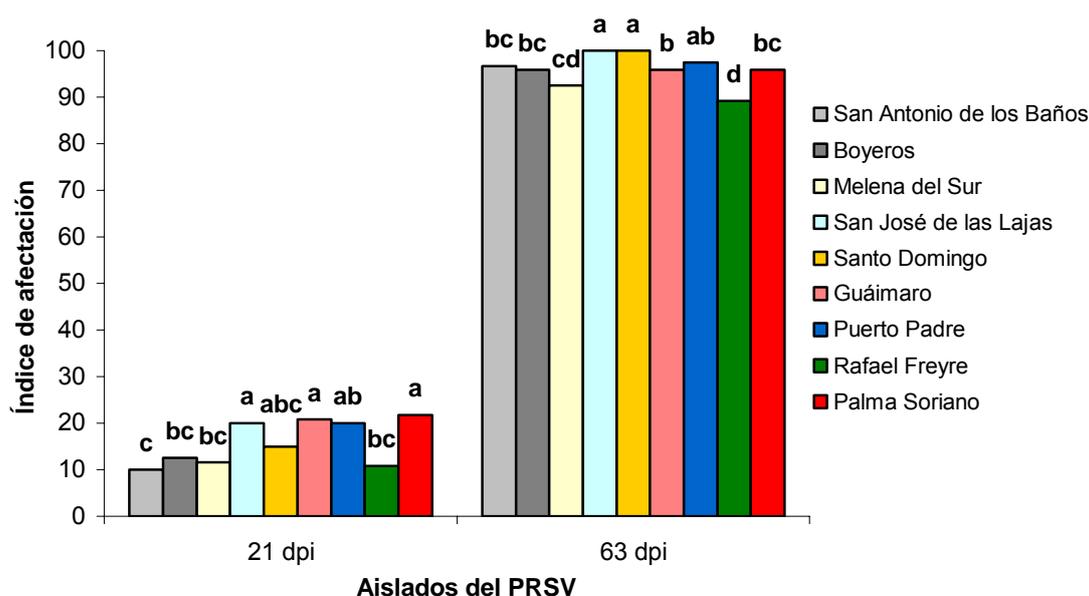


**Figura 5.** Síntomas producidos por aislados del *Virus de la mancha anular de la papaya* en plantas de papaya var. Maradol roja inoculadas de forma mecánica en condiciones semicontroladas. a: Aclarado de las nervaduras; b: Mosaico ligero; c: Zonas verde claro y verde oscuro alternadas en la hoja; d: Zonas verde oscuro abultadas; e: Deformación de los folíolos; f: Filiformidad.

El inicio de los síntomas en las plantas de papaya inoculadas de forma mecánica se observó entre los 14 y 21 dpi en la mayoría de los aislados del PRSV evaluados, con excepción de los aislados procedentes de Melena del Sur y Rafael Freyre. Estos aislados iniciaron los síntomas entre los 17 y 24 dpi. El primer síntoma desarrollado por todos los aislados fue el aclarado de las nervaduras (Figura 5a). A este síntoma le siguió un mosaico ligero (Figura 5b), correspondiente al grado 2 de la enfermedad. Solo los aislados procedentes de Boyeros y Rafael Freyre no desarrollaron este síntoma. Seguidamente, todos los aislados evaluados produjeron en las plantas la presencia de áreas verde claro y verde oscuro en el limbo de las hojas y zonas abultadas en la zona adaxial de la hoja (Figura 5c-d), asociadas al grado 3 y 4 de la enfermedad. Desde 35 a 51 dpi se observó una ligera deformación de las hojas jóvenes en todos los aislados evaluados. Este

síntoma estuvo asociado al grado 5 de la enfermedad (Figura 5e). Como síntoma más avanzado de la enfermedad (grado 6), se observó la reducción del mesófilo de las hojas hasta quedar solo los nervios centrales (Figura 5f) y producir filiformidad. El aislado de Santo Domingo inició este grado de afectación a los 40 dpi, seguido del aislado de San José de las Lajas. A los 63 dpi, todos los aislados habían desarrollado el grado 6 de la enfermedad.

A los 21 dpi, todos los aislados habían manifestado los síntomas del PRSV en las plantas de papaya inoculadas. Se observó el mayor índice de afectación en los aislados de Palma Soriano, San José de las Lajas, Guáimaro y Puerto Padre, sin diferencias significativas entre ellos. Los aislados de San Antonio de los Baños, Rafael Freyre y Melena del Sur fueron los menos virulentos (Figura 6).



**Figura 6.** Índice de afectación de aislados del *Virus de la mancha anular de la papaya* a los 21 y 63 días posteriores a la inoculación mecánica sobre plantas de papaya var. Maradol roja en condiciones semicontroladas. Barras con letras desiguales en diferentes dpi difieren según prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para  $p < 0,05$ .

A los 63 dpi, la mayoría de los aislados evaluados manifestaron un índice de afectación superior al 95%. El índice de afectación producido por los aislados de

Rafael Freyre y Melena del Sur fue inferior al 93%, lo cual indicó una menor virulencia para estos aislados.

Al analizar el ABCPE, se encontraron diferencias significativas entre los aislados evaluados. Los mayores valores correspondieron a los aislados de San José de las Lajas, Palma Soriano, Puerto Padre, Guáimaro y Santo Domingo, sin diferencias significativas entre ellos. Los aislados de Rafael Freyre, Melena del Sur y San Antonio de los Baños alcanzaron los valores más bajos del ABCPE (Tabla II) y reflejaron menor severidad de la enfermedad.

**Tabla II.** Área bajo la curva del progreso de la enfermedad en papaya var. Maradol roja posterior a la inoculación mecánica con aislados del *Virus de la mancha anular de la papaya* en condiciones semicontroladas, en el período comprendido entre los 21 y 63 dpi. Rangos medios con letras desiguales difieren según prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para  $p < 0,05$ .

| Aislados                 | ABCPE       |               |               |
|--------------------------|-------------|---------------|---------------|
|                          | No. plantas | Medias Reales | Rangos Medios |
| San Antonio de los Baños | 20          | 2240,00       | 70,10 cd      |
| Boyeros                  | 20          | 2275,00       | 77,00 bc      |
| Melena del Sur           | 20          | 2187,00       | 68,25 cd      |
| San José de las Lajas    | 20          | 2520,00       | 122,20 a      |
| Santo Domingo            | 20          | 2415,00       | 99,95 ab      |
| Guáimaro                 | 20          | 2450,00       | 104,10 ab     |
| Puerto Padre             | 20          | 2467,50       | 107,43 ab     |
| Rafael Freyre            | 20          | 2100,00       | 51,00 d       |
| Palma Soriano            | 20          | 2467,50       | 114,48 a      |

#### 4.2 Especies de áfidos colectados en plantaciones de papaya

En las colectas de áfidos realizadas en plantaciones de papaya, se identificaron 16 especies durante todo el período evaluado (Tabla III).

**Tabla III.** Especies de áfidos alados capturados en plantaciones de papaya var. Maradol roja en Santo Domingo, Cuba.

| Especies de áfidos  | 2009-2010  |            | 2010       | Total (%)   |
|---|------------|------------|------------|-------------|
|   | Feb-Jun    | Sept-Ene   | May-Sept   |             |
|   | No. áfidos | No. áfidos | No. áfidos |             |
| <i>Aphis gossypii</i> Glover  | 50         | 31         | 52         | 133 (53,41) |
| <i>Aphis citricola</i> Van der Goot<br>(= <i>A. spiraecola</i> Patch) | 4          | 2          | 34         | 40 (16,06)  |
| <i>Aphis amaranthi</i> Holman   | 21         | 1          | 1          | 23 (9,24)   |
| <i>Tetraneura nigriabdominalis</i> Sasaki                             | 9          | 3          | 6          | 18 (7,23)   |
| <i>Rhopalosiphum rufiabdominalis</i> Sasaki                           | 9          | -          | 2          | 11 (4,42)   |
| <i>Myzus persicae</i> Sulzer  | 2          | -          | 5          | 7 (2,81)    |
| <i>Brachycaudus helichrysi</i> Kaltenbach                             | 3          | -          | -          | 3 (1,20)    |
| <i>Myzocallis discolor</i> Monell                                     | 3          | -          | -          | 3 (1,20)    |
| <i>Rhopalosiphum maidis</i> Fitch                                     | 1          | -          | 1          | 2 (0,80)    |
| <i>Lipaphis erysimi</i> Kaltenbach                                    | -          | -          | 2          | 2 (0,80)    |
| <i>Aphis helianthi</i> Monell   | 2          | -          | -          | 2 (0,80)    |
| <i>Toxoptera aurantii</i> Boyer de Fonscolombe                        | 1          | -          | -          | 1 (0,40)    |
| <i>Macrosiphum euphorbiae</i> Thomas                                  | -          | -          | 1          | 1 (0,40)    |
| <i>Toxoptera citricidus</i> Kirkaldy                                  | 1          | -          | -          | 1 (0,40)    |
| <i>Macrosiphum salviae</i> Kaltenbach                                 | 1          | -          | -          | 1 (0,40)    |
| <i>Geopenfigus floccosus</i> Moreira                                  | 1          | -          | -          | 1 (0,40)    |

Las especies mejor representadas fueron *A. gossypii* y *A. citricola*, con aproximadamente el 53 y 16% del total de insectos colectados. Estas especies fueron las más frecuentes en plantaciones de papaya, seguidas de *A. amaranthi*, *T. nigriabdominalis*, *R. rufiabdominalis*. Las especies restantes tuvieron una representación inferior al 3% del total de áfidos colectados.

### 4.3 Eficiencia en la transmisión del PRSV por áfidos

#### 4.3.1 Transmisión individual

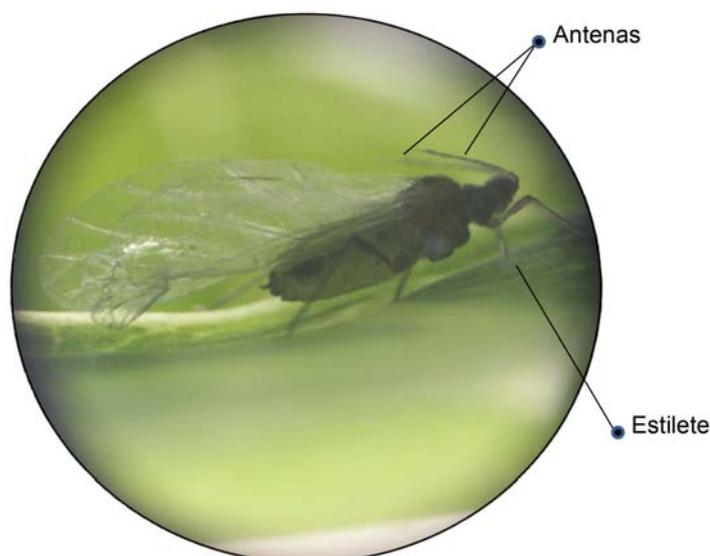
De las especies de áfidos evaluadas en la transmisión individual del PRSV, se obtuvo mayor eficiencia con *A. craccivora*, seguida de *T. citricidus* y *R. maidis*, que no presentaron diferencias entre ellas (Tabla IV). La autenticidad de estos resultados dependió de la posición correcta de individuos durante la adquisición del PRSV (Figura 4).

**Tabla IV.** Eficiencia en la transmisión del *Virus de la mancha anular de la papaya* por tres especies de áfidos en inoculaciones individuales en plantas de papaya var. Maradol roja.

| Especies de áfidos          | No. de plantas inoculadas | Plantas sintomáticas (%) |
|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <i>Aphis craccivora</i>     | 20                        | 30                       |
| <i>Toxoptera citricidus</i> | 20                        | 5                        |
| <i>Rhopalosiphum maidis</i> | 20                        | 5                        |

Se demostró la existencia de asociación con chi cuadrado de Pearson para  $p=0.027<0,05$

Las plantas de papaya inoculadas con *A. craccivora* y *T. citricidus* manifestaron los síntomas del PRSV entre 14 y 21 dpi, y con *R. maidis* iniciaron a partir de los 30 dpi. El primer síntoma desarrollado en las plantas de papaya inoculadas fue el aclarado de las nervaduras y como máxima manifestación de los síntomas se observó la reducción del mesófilo de las hojas hasta quedar solo los nervios centrales. A los 63 dpi, se observó la reducción de los nervios centrales con el uso de las tres especies de áfidos evaluadas.



**Figura 4.** Áfido alado de *Rhopalosiphum maidis* con el estilete introducido en la zona abaxial de una hoja de papaya var. Maradol roja (20x).

#### 4.3.2 Transmisión en grupo

En la transmisión del PRSV por grupos de cinco insectos se incrementó la eficiencia en todas las especies evaluadas, en comparación con la transmisión individual. Los síntomas de la enfermedad en las plantas de papaya inoculadas se manifestaron entre 12 y 14 dpi. En este ensayo, según los datos de porcentaje obtenidos, *A. craccivora* y *T. citricidus* fueron los de mayor eficiencia en la transmisión del PRSV (Tabla V).

**Tabla V.** Eficiencia en la transmisión del *Virus de la mancha anular de la papaya* por tres especies de áfidos en inoculaciones con grupos de cinco en plantas de papaya var. Maradol roja.

| Especies de áfidos          | No. de plantas inoculadas | Plantas sintomáticas (%) |
|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|
| <i>Aphis craccivora</i>     | 10                        | 60                       |
| <i>Toxoptera citricidus</i> | 10                        | 60                       |
| <i>Rhopalosiphum maidis</i> | 10                        | 30                       |

### 4.3.3 Períodos de retención del PRSV

Al analizar los períodos de retención del PRSV por las especies que presentaron mayor porcentaje de transmisión, se observó que solo *A. craccivora* mantuvo la capacidad de transmitir el PRSV luego de un período de retención de 5 min (Tabla VI).

**Tabla VI.** Tiempo de retención del *Virus de la mancha anular de la papaya* por *A. craccivora* y *T. citricidus* en plantas de papaya var. Maradol roja.

| Período de secuestro (min) | No. de plantas inoculadas | Plantas sintomáticas (%) |                             |
|----------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|
|                            |                           | <i>Aphis craccivora</i>  | <i>Toxoptera citricidus</i> |
| 0                          | 10                        | 30                       | 10                          |
| 5                          | 10                        | 20                       | 0                           |
| 10                         | 10                        | 0                        | 0                           |
| 30                         | 10                        | 0                        | 0                           |

La transmisión fue superior cuando se realizó la inoculación inmediatamente luego de la adquisición del virus. Pasados 10 min, no se observó la transmisión de la enfermedad con ninguna de las especies evaluadas.

*Discusión*

## 5. Discusión

### 5.1 Virulencia de aislados de PRSV en plantas de papaya var. Maradol roja en condiciones semicontroladas

Los resultados obtenidos en la amplificación del fragmento de ADN en los aislados del PRSV evaluados correspondió con lo informado por Silva-Rosales *et al.* (2000) y Wei *et al.* (2007), para la región que codifica para la CP de este virus. Esto confirma los resultados obtenidos en la inoculación de las muestras colectadas en plantas de papaya indicadoras, que para este virus, constituye un método de diagnóstico confiable.

Al evaluar la sintomatología producida por los aislados del PRSV colectados se observó que el síntoma inicial producido por todos los aislados coincidió con Fitch *et al.* (1992). Estos autores mencionan que el aclarado de las nervaduras en las hojas más jóvenes es el resultado de la infección temprana en plantas de papaya infectadas en condiciones semicontroladas. Síntomas similares a los manifestados por los aislados evaluados fueron referidos por Cruz *et al.* (2008), quienes emplearon en condiciones semicontroladas, el aislado procedente de Santo Domingo. En esta investigación se comprobó que los síntomas producidos por los aislados evaluados son similares pero varían en el tiempo de aparición.

En Cuba, hasta la fecha solo se tenían referencias sobre estudios epifitiológicos realizados con aislados del PRSV procedentes de Pinar del Río, Güines, Nueva Paz (Mayabeque), Jagüey Grande (Matanzas), Cienfuegos, Santo Domingo (Villa Clara) y Sancti Spíritus (Cabrera *et al.*, 2009; Cabrera *et al.*, 2011).

Bau *et al.* (2003) lograron obtener aislados del PRSV procedentes de Taiwan, Hawai, Tailandia y México. Estos autores, evaluaron la respuesta de plantas de papaya transgénicas con resistencia al virus y confirmaron la diferencia en los niveles de resistencia presentados por líneas transgénicas frente a la infección con estos aislados. Resultados similares fueron expuestos por Davis *et al.* (2004) en la Florida, quienes evaluaron la severidad de los síntomas producidos por tres aislados del PRSV procedentes de este estado en varias líneas de papaya y encontraron diferentes grados de afectación. Estos resultados confirman la

evidente diversidad biológica del PRSV en diferentes regiones, y reflejan la importancia de realizar estudios epifitiológicos de esta enfermedad para poder trazar estrategias de manejo mediante la transformación genética.

El ABCPE es una variable epifitiológica que ha sido empleada para evaluar el progreso de la enfermedad producida por el PRSV bajo diferentes métodos de manejo en condiciones de campo (Hernández-Castro *et al.*, 2004; Rivas-Valencia *et al.*, 2008). Además, esta variable epifitiológica se ha usado para evaluar la resistencia de diferentes cultivos ante enfermedades fúngicas en evaluaciones sucesivas (Jeger y Viljanen-Rollinson, 2001). Su empleo para evaluar la virulencia de aislados del PRSV en condiciones semicontroladas constituye una herramienta para estudios epifitiológicos.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se determinó la virulencia de los aislados del PRSV evaluados según el índice de afectación, expresado a través del ABCPE. Los aislados de San José de las Lajas, Palma Soriano, Puerto Padre, Guáimaro y Santo Domingo fueron los más virulentos, lo cual indica que existe alta diversidad biológica del PRSV en Cuba. Estos resultados confirman lo informado por Tripathi *et al.* (2008), quienes reflejan la importancia de estudios epifitiológicos del PRSV en el manejo de la enfermedad.

## **5.2 Especies de áfidos colectados en plantaciones de papaya**

Las especies más abundantes en las colectas realizadas en este trabajo (*A. gossypii* y *A. citricola*), habían sido informadas como polífagas (Delfino *et al.*, 2007), y constituyen vectores eficientes del PRSV. Hasta la fecha no se habían realizado estudios similares en Santo Domingo, y en Villa Clara solo se conocían las investigaciones realizadas por Hernández *et al.* (1993) en plantaciones de papaya ubicadas en Santa Clara. Los resultados obtenidos coinciden con lo informado por estos autores, quienes señalaron que *A. gossypii* es la especie que más frecuenta las plantaciones, seguida por *A. citricola*.

*A. amaranthi*, tercera especie más abundante en plantaciones de papaya en Santo Domingo, es una especie endémica de Cuba (Holman, 1974) y ha sido informada

en países como la Florida (Halbert y Nuessly, 2004) y Jamaica (McDonald *et al.*, 2003). Este áfido no se había señalado en plantaciones de papaya en Cuba, y no se conoce su papel en la epifitología del PRSV. La cuarta especie más abundante en las plantaciones de papaya en Santo Domingo, fue *T. nigriabdominalis* y no se ha señalado como vector del PRSV, aunque se ha informado dentro de los áfidos que frecuentan las plantaciones de papaya en Puerto Rico (Pantoja *et al.*, 2006). El conocimiento de nuevas especies frecuentando plantaciones de papaya en Cuba, exige de estudios biológicos que puedan esclarecer si tienen implicaciones en la epifitología del PRSV.

De las especies identificadas en plantaciones de papaya en el mundo, se han informado como vectores del PRSV a *M. persicae*, *A. gossypii*, *A. craccivora* (Kalleshwaraswamy y Krishna-Kumar (2008), *L. erysimi* (Khurana y Bhargava, 1971), *M. euphorbiae* (Rivas-Valencia *et al.*, 2008), *R. maidis*, *T. aurantii* (Vegas *et al.*, 1985) y *T. citricidus* (Trinidad y Sumalde, 1993).

Estos resultados coinciden con lo informado en Michoacán, México, por Rivas-Valencia *et al.* (2008), quienes señalaron que *A. gossypii*, *A. nerii*, *A. citricola* y *M. euphorbiae* representan el 13% de las especies capturadas en plantaciones de papaya. Estos autores informaron que *A. gossypii* se ubica como la especie de mayor frecuencia dentro de las potencialmente vectoras del PRSV. En Veracruz, México, además de las especies informadas en Michoacán, se ha señalado la presencia de *M. persicae* en plantaciones de papaya.

Mora-Aguilera *et al.* (1993) informaron que *A. nerii*, *A. gossypii* y *M. persicae* son las principales especies vectores del PRSV en Veracruz, y responsables de la mayoría de las epifitias del PRSV. En la zona evaluada en este estudio, *M. persicae* ocupó el sexto lugar entre las especies identificadas, y se coincide con la abundancia de *A. gossypii* en las plantaciones de papaya.

Según Kalleshwaraswamy *et al.* (2007), *A. gossypii* constituye la especie de áfido predominante en el sur de la India, seguida de *A. craccivora* y *M. persicae*. En esta investigación, aunque se coincide con estos autores en la incidencia de *A. gossypii*, no se informó la presencia de *A. craccivora* en el área evaluada. *A. craccivora*

constituye una especie polífaga muy extendida en Cuba y se encuentra preferentemente en leguminosas (de Zayas, 1988). Según informó Ivancheva *et al.* (1967), este áfido puede visitar las plantaciones de papaya de forma ocasional. La ausencia de *A. craccivora* pudo estar asociada a la abundancia en la zona evaluada de la planta hospedante *Gliricidia sepium* L. conocida como “bien vestido”. Esta planta se emplea como “postes vivos” en cercas perimetrales y es preferida por *A. craccivora*. *G. sepium* emite sustancias volátiles que pueden ser detectadas mediante receptores olfativos presentes en las antenas de los áfidos (Hardie *et al.*, 1994; Visser *et al.*, 1996), y orientarlos en su búsqueda del hospedante, esto puede evitar que frecuenten las plantaciones de papaya en el área estudiada.

Los resultados expuestos en diversas regiones productoras de papaya en el mundo coinciden en la incidencia de *A. gossypii* en plantaciones de *C. papaya* y debido a la abundancia de esta especie en Cuba (de Zayas, 1988) y su presencia durante todo el año, constituye la especie de mayor potencial en la transmisión del PRSV en la zona evaluada. Estos resultados son decisivos para el adecuado manejo del PRSV y sugieren evitar el uso de insecticidas en el control de estos insectos en plantaciones de papaya, debido a su presencia durante todo el año.

### **5.3 Evaluación de la eficiencia en transmisión del PRSV por áfidos**

#### **5.3.1 Transmisión individual**

Los resultados obtenidos en la transmisión individual del PRSV con *A. craccivora* coincidieron con lo informado en la India por Kalleshwaraswamy y Krishna-Kumar (2008), quienes señalaron una eficiencia de 38% en la transmisión del PRSV. En Cuba, la eficiencia de *A. craccivora* en la transmisión del PRSV en *C. papaya* no había sido evaluada. Este áfido posee gran número de plantas hospedantes y amplia distribución en el territorio nacional (Bruner *et al.*, 1975) y su capacidad vectorial puede jugar un papel en la epifitiología de este virus en otras zonas del país.

La especies *T. citricidus* y *R. maidis* transmitieron el PRSV en un porcentaje inferior que *A. craccivora*. Estas dos especies, al igual que *A. craccivora* no habían sido señaladas como transmisoras del PRSV en Cuba. Hernández y Rodríguez (1990), evaluaron la transmisión del PRSV por varias especies de áfidos, incluida *R. maidis*, pero con resultados negativos. Trinidad y Sumalde, (1993) y Singh y Singh (2010), informaron la transmisión del PRSV por *T. citricidus* y *R. maidis*, por lo que se coincide con estos autores en cuanto a la capacidad vectorial de estas especies.

Estos resultados constituyen un elemento a considerar en el manejo de esta enfermedad viral en Cuba. Las especies evaluadas no son las que más frecuentan las plantaciones de papaya en Villa Clara, pero pueden jugar un papel importante en la epifitología del PRSV en otras zonas del país.

### **5.3.2 Transmisión en grupo**

El incremento de la eficiencia en la transmisión del PRSV mediante la inoculación con grupos de insectos coincidió con lo informado por Kalleshwaraswamy y Krishna-Kumar (2008), aunque no se obtuvo el 100% de eficiencia informado por estos autores. Las especies *T. citricidus* y *R. maidis* constituyen vectores del PRSV, que nunca habían sido evaluadas en inoculaciones en grupos. En condiciones de campo, la infección producida por el PRSV puede alcanzar el 100% de incidencia, y puede estar asociado a que una planta infectada es visitada por más de un insecto durante su ciclo. Aunque en la zona evaluada estas especies no fueron frecuentes, y *A. craccivora* no se identificó en este estudio, su abundancia en Cuba puede favorecer la transmisión del PRSV en otras zonas del país. La especie *T. citricidus* es frecuente en regiones productoras de cítricos, como es el caso de Jagüey Grande (González y Rodríguez, 2008), donde podría jugar un papel crucial en la epifitología de esta enfermedad, debido a su eficiencia en la transmisión.

### 5.3.3 Períodos de retención del PRSV

La capacidad de *A. craccivora* de transmitir el PRSV luego de 5 min de retención puede favorecer la transmisión de esta enfermedad en condiciones de producción. Kalleshwaraswamy y Krishna-Kumar (2008) informaron resultados similares con esta especie de áfido, aunque demostraron su capacidad para transmitir el PRSV a los 10 min de secuestro. La capacidad de retener los viriones del virus en el estilete de los áfidos por períodos de 5 min o superiores tiene implicaciones en la dispersión de la enfermedad en áreas de papaya colindantes. La retención del PRSV por períodos breves, y la posibilidad de liberar el inóculo en el proceso de selección de hospedantes (Powell *et al.*, 2006) disminuye la posibilidad de transmitir la enfermedad entre plantaciones aisladas. Según informó Taylor (1986), el vuelo de los áfidos se ve favorecido con vientos de hasta 7,2 km.h<sup>-1</sup>, y la posibilidad de retener el PRSV en su estilete hasta 5 min, puede favorecer la diseminación del virus en un área de 600 metros sin realizar pruebas previas. Los receptores presentes en el estilete de los áfidos, no retienen los viriones por un período prolongado luego de la adquisición y pierden su capacidad de transmitir los virus (Ng y Perry, 2004), como se observó luego de 10 min de secuestro de *A. craccivora* y *T. citricidus*. Estos resultados coinciden con lo informado por Pirone y Perry (2002) y Brault *et al.* (2010), relacionado con el breve período que transcurre desde la adquisición y la inoculación de virus que se transmiten de forma no persistente.

*Conclusiones*

## 6. Conclusiones

1. Los aislados del *Virus de la mancha anular de la papaya* de San José de las Lajas, Palma Soriano, Puerto Padre, Guáimaro y Santo Domingo resultaron los más virulentos luego de la inoculación mecánica en plantas de papaya en condiciones semicontroladas.
2. Se identificaron 16 especies de áfidos en plantaciones de papaya, de las cuales *A. gossypii* y *A. citricola* fueron las más abundantes.
3. Las especies *Toxoptera citricidus*, *Rhopalosiphum maidis* y *Aphis craccivora* transmitieron el *Virus de la mancha anular de la papaya*, y *Aphis craccivora* resultó la especie más eficiente.

*Recomendaciones*

## **6. Recomendaciones**

1. Incluir los aislados del *Virus de la mancha anular de la papaya* obtenidos en las zonas productoras en Cuba, en los estudios de interacción *Carica papaya*-PRSV.
2. Considerar las especies de áfidos identificadas con capacidad vectorial en los programas de manejo del *Virus de la mancha anular de la papaya*.

***Bibliografía***

## 8. Bibliografía

- Acuña, J. y F. Zayas (1946): **El mosaico y otras enfermedades de la fruta bomba (*Carica papaya* L.)**. Circular 85, Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas, La Habana, Cuba.
- Agrios, G. N. (2005): **Plant pathology**. 5ta Ed., Elsevier Academic Press, 922 pp.
- Allan, P. (2002): *Carica papaya* responses under cool subtropical growth conditions. **Acta Hortic.** 575: 757-763.
- Alonso, M, J. R. Cueto, L. Mullen y D. Sourt (2005): Colecta de germoplasma de papaya (*Carica papaya* Linn) en la región oriental de Cuba. En: Memorias FITOGEN (Santic Spíritus), pp. 36-37.
- Alonso, M., Y. Tornet, R. Ramos, E. Farrés, J. Castro y M. C. Rodríguez (2008): Evaluación de tres cultivares de papaya del grupo Solo basada en caracteres de crecimiento y productividad. **Cultivos Tropicales** 29(2): 59-64.
- Amaral, P. P., R. O. Pesende y J. R. Souza (2006): Papaya lethal yellowing virus (PLYV) infects *Vasconcellea cauliflora*. **Fitopatologia Brasileira** 31: 517.
- Barreto, P. D., A. A. dos Santos y J. L. L. Dantas (2002): Genótipos de mamão sob infecção natural pelo Vírus da mancha-anelar. **Revista Ciência Agronômica** 33: 43-47.
- Bau, H.J., Y.H. Cheng, T.A. Yu, J.S. Yang y S.D. Yeh (2003) : Broad spectrum resistance to different geographic strains of *Papaya ringspot virus* in coat protein gene transgenic papaya. **Phytopathology** 93: 112-120.
- Bhattarai, K. R., O. R. Vetaas y J. A. Grytnes (2004): Fern species richness along a central Himalayan elevational gradient. **J. Biogeogr.** 31: 389-400.
- Blackman, R. L. y V. Eastop (2007): Taxonomic Issues. En: Van Emden, HF, Harrington R (Eds.). **Aphids as crop pests**. pp. 1-30. CAB International.
- Brault, V., M. Uzest, B. Monsion, E. Jacquot y S. Blanc (2010) : Aphids as transport devices for plant viruses les pucerons, un moyen de transport des virus de plante Ve´ronique. **C. R. Biologies** 333: 524-538.

- Bruner, S. C., L. C. Scaramuzza y A. R. Otero AR (1975): **Catálogo de los insectos que atacan a las plantas económicas de Cuba**. 2da ed., Academia de Ciencias de Cuba, La Habana, pp. 394.
- Cabrera, D., D. García y O. Portal (2010): Virus de la mancha anular de la papaya (PRSV): Biología, epifitiología y diversidad genética como base para el manejo mediante técnicas biotecnológicas. **Biotecnología Vegetal** 10 (2): 67-77.
- Cabrera, D., M. Cruz, Y. Pino y O. Portal (2011): Virulencia de aislados cubanos del virus de la mancha anular de la papaya en *Carica papaya* L. var. maradol roja. **Seminario Internacional de Sanidad Agropecuaria "SISA 2011"**, La Habana, Cuba.
- Cabrera, D., O. Portal, M. Cruz y R. Hernández (2009a): Diagnostic and biological characterization of a Papaya ringspot virus isolate (PRSV-P) from Cienfuegos, Cuba. **Phytopathology** 99:6 (Supplement), S189.
- Cabrera, D., R. Sosa, O. Portal, Y. Alburquerque, J. E. González y R. Hernández (2009b): Alterations induced by Papaya ringspot potyvirus on chlorophyll content in papaya (*Carica papaya* L.) leaves. **Fitosanidad** 13: 125-126.
- Chen, G., C. M. Ye, J. C. Huang y B. J. Li (2001): Cloning of the *Papaya ringspot virus* (PRSV) replicase gene and generation of PRSV-resistant papayas through the introduction of the PRSV replicase gene. **Plant Cell Rep.** 20: 272-277.
- Camarco, R. F. E. A., J. A. A. Lima y G. Pio-Ribeiro (1998): Transmissao e presencia em solo do Papaya lethal yellowing virus. **Fitopatologia Brasileira** 23(4): 453-458.
- Conover, R. A. (1964): Distortion ringspot, a severe virus disease of papaya in Florida. **Proc. Fla. State Hort. Soc.** 77: 440-444.
- Cronquist, A. (1988): **The evolution and classification of flowering plants**. The New York Botanical Garden. Now York. 555 pp.
- Cruz, M., A. L. Darías, D. Cabrera, A. Pérez, M. Cruz, T. Pichardo, R. Gómez y O. Portal (2008): Desarrollo de una metodología de inoculación y evaluación de papaya variedad Maradol Roja, inoculadas con el *Virus de la mancha anular de*

- la papaya*, en condiciones semicontroladas. *Resumen del VI Seminario Científico Internacional de Sanidad Vegetal*. 22 al 26 de septiembre, CD memorias, La Habana, Cuba.
- Davis, M., J. B. Kramer, F. H. Fewerda y B. R. Brunner (1996): Association of a Bacterium and not a phytoplasma with Papaya bunchy top disease. **Phytopathology** 86: 102-109.
- Davis, M., T.L. White y J.H. Crane (2004): Resistance to *Papaya ringspot virus* in transgenic papaya breeding lines. **Proc. Fla. State Hortic. Soc.** 117: 241-245.
- de Zayas, F. (1988) **Entomofauna cubana**, tomo VII. ed. Científico-Técnica. La Habana, Cuba, 261 pp.
- Delfino, M. A., H. L. Monelos, P. L. Peri y L. M. Buffa (2007): Áfidos (Hemiptera, Aphididae) de interés económico en la provincia de Santa Cruz, *RIA, INTA* 36(1): 147-154, Argentina.
- FAO (2011) (activa diciembre 2011): FAOSTAT. FAO Statistics Division. <http://faostat.fao.org/site/526/default.aspx>.
- Fariñas, M. E. y E. López (1986): Enfermedades virales en diferentes localidades productoras de frutabomba en Cuba. **Simposio de Citricultura Tropical**. La Habana, Cuba.
- Fauquet, C. M., M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselbelguer y L. A. Ball (2005): **Virus Taxonomy: The Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier, EE.UU. 1259 pp.
- Fereres, A. y A. Moreno (2009): Behavioural aspects influencing plant virus transmission by homopteran insects. **Virus Res.** 141: 158-168.
- Fitch, M. M. M., R. M. Manshardt, D. Gonsalves, J. L. Slightom y J. C. Sanford (1992): Virus resistance papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of *Papaya ringspot virus*. **Bio-Technology** 10: 1466-1472.
- Forbes, A. R. (1969): The stylets of the green peach aphid *Mizus persicae* (Homóptera: Aphididae). **Can. Entomol.** 101: 31-41.
- Forbes, A. R. y D. B. Mullick (1970): The stylet of the balsam wooly aphid, *Adelges picea* (Homóptera:Adelgidae). **Can. Entomol.** 102:1074.

- García, B., J. Villanueva y N. Becerra (1988): Pruebas de transmisión por áfidos. **Reunión Científica Forestal y Agropecuaria del Estado de Veracruz. Memoria. Veracruz, MX, SARH-INIFAP-CIFAP-VER.** pp. 88-89.
- Gonsalves, D (1993) (activa mayo 2011). *Papaya ringspot virus (P-strain)*. <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/Crop/Type/papring.htm>.
- Gonsalves, D. (1998): Control of *Papaya ringspot virus* in papaya: a case study. **Annu. Rev. Phytopathol.** 36: 415-437.
- González, L. y D. Rodríguez (2008): Dinámica poblacional de vectores del *Virus de la mancha anular de la papaya* intercalada con naranja valencia y diseminación de la enfermedad. **Centro Agrícola** 35: 55-60.
- Halbert, S. E. y G. S. Nuessly (2004): Aphids in a new millennium. En: Simon, J. C. C. A. Dedryver, C. Rispe y M. Hullé (eds.). **Proceedings of the Sixth International Symposium on Aphids.** pp. 147-150, Rennes, France.
- Hardie, J., J. H. Visser y P. G. M. Piron (1994): Perception of volatiles associated with sex and food by different adult forms of the black-bean aphid, *Aphis fabae*. **Physiol. Entomol.** 19: 278-84.
- Hernández, R. y E. F. Rodríguez (1988): Determinación de áfidos vectores del *Virus de la mancha anular de la fruta bomba*. **Centro Agrícola** 15(1): 92-93.
- Hernández, R. y E. Rodríguez (1990): Preliminares sobre los vectores del virus de la mancha anular de la fruta bomba (*Carica papaya*). **Ciencia y Técnica en la Agricultura. Serie Protección de Plantas** 13(2): 29-38.
- Hernández, R. y R. Gómez (2006): Pruebas de resistencia con *Myzus nicotianae* Blackman en plantas transformadas genéticamente al *Virus de la mancha anular de la frutabomba* (PRSV). **Fitosanidad** 10(3): 243.
- Hernández, R., D. Juvier y R. López (1993): Comportamiento de los vectores de virus y micoplasmas en diferentes fechas de trasplante en fruta bomba (*Carica papaya* L.). **Centro Agrícola** 20: 25-33.
- Hernández-Castro, E., J. A. Villanueva-Jiménez, R. Mosqueda-Vázquez y J. A. Mora-Aguilera (2004): Efecto de la erradicación de plantas enfermas por el

- PRSV-P en un sistema de manejo integrado del papayo (*Carica papaya* L.) en Veracruz, México. **Rev. Mex. Fitopatol.** 22: 382-388.
- Holman, J. (1974): **Los áfidos de Cuba**. Instituto Cubano del Libro. La Habana, Cuba, 304 pp.
- Hull, R. (2002): **Matthew's Plant Virology**, 4<sup>ta</sup> ed., Academic Press, EE.UU. 1001 pp.
- Irwin, M. E., G. E. Kampmeier y W.W. Weisser (2007): **Aphid movement: process and consequences**. En: Van Emden, H. F., R. Harrington (eds.), *Aphids as Crop Pests*. pp. 153-186. CABI Publishing, Wallingford.
- Ivancheva, T., A. S. Valdivieso, A. Bécquer y B. Sáenz (1967): Las enfermedades virosas de la fruta bomba (*Carica papaya* L.) en Cuba. **Revista de Agricultura Tropical** 1(2): 1-21.
- Jeger, M. J. y S. L. L. Viljanen-Rollinson (2001): The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. **Theor. Appl. Genet.** 102: 32-40.
- Jensen, D. D. (1949): *Papaya ringspot virus* and its insect vector relationships. **Phytopathology** 39: 212-220.
- Kalleshwaraswamy, C. M. , N. K. Krishnakumar, A. Verghese, M. R. Dinesh, H. R. Ranganath y R. Venugopalan (2007): Role of transient aphid vectors on the temporal spread of *Papaya ringspot virus* in south India. **Acta Hortic.** 740: 251-258.
- Kalleshwaraswamy, C. M. y N. K. Krishna-Kumar (2008): Transmission efficiency of *Papaya ringspot virus* by three aphid species. **Phytopathology** 98: 541-546.
- Kennedy J. S., C. O. Booth y W. J. S. Kershaw (1961): Host finding by aphids in the field. III. Visual attraction. **Ann. Appl. Biol.** 49: 1-21.
- Kennedy, J. S., C. O. Booth y W. J. S. Kershaw (1959): Host finding by aphids in the field. I. Gynoparae of *Myzus persicae* (Sulzer). **Ann. Appl. Biol.** 47: 410-423.
- Kennedy, J. S., C. O. Booth y W. J. S. Kershaw (1959): Host finding by aphids in the field. II. *Aphis fabae* Scop. (gynoparae) and *Brevicoryne brassicae* L.; with a

- reappraisal of the role of host-finding behaviour in virus spread. **Ann. Appl. Biol.** 47: 424-44.
- Khurana, S. M. y K. S. Bhargava (1971): Three new vectors of papaya viruses. **Jour. Hort. Sci.** 46:209-211.
- Lastra, R. y E. Quintero (1981): Papaya apical necrosis, a new disease associated with a rhabdovirus. **Plant Dis.** 65: 439-440.
- Lima, R. C. A., J. A. A. Lima, M. T. Souza Jr., G. Pio-Ribeiro y G. P. Andrade (2001): Etiologia e estratégias de control de viroses do mamoeiro no Brasil. **Fitopatologia Brasileira** 26: 689-702.
- Loreto, T., A. Vital y J. Rezende (1983): Ocorrência de um amarelo letal do mamoeira solo no estado de Pernambuco. **O Biológico** 49: 275-279.
- Maciel-Zambolin, E., S. Kunieda-Alonso, K. Matsuoka, M. de Carvalho y F. Zerbini (2003): Purification and some properties of *Papaya meleira virus*, a novel virus infecting papayas in Brazil. **Braz. J. Plant Pathol.** 52: 389-394.
- Manica, I (1996): Cultivares e melhoramento do mamoeiro. En: Mendes, L. G., J. L. L. Dantas y C. F. G. Morales (eds.). **Mamão no Brasil. Cruz das.** pp. 121-143. EMBRAPA-CNPMP.
- Manshardt, R. M. y R. A. Drew (1998): Biotechnology of papaya. **Proceedings of the International Symposium on Biotechnology of Tropical and Subtropical Species, part II.** pp. 65-73. Brisbane, Queensland, Australia.
- Martin, J. H. (1983): The identification of common Aphid pest of Tropical Agriculture. **Trop. Pest Manage.** 29(4): 395-411.
- McDonald, S. A., S. E. Halbert, S. A. Tolin, y B. A. Nault (2003): Seasonal Abundance and Diversity of Aphids (Homoptera: Aphididae) in a Pepper Production Region in Jamaica. **Environ. Entomol.** 32: 499-509.
- Mejías, Y., D. Rodríguez y G. González (1987): Rhabdovirus asociado a síntomas de necrosis apical en fruta bomba *Carica papaya* en Cuba. **Ciencia y Técnica en la Agricultura. Serie Protección de Plantas** 10: 57-62.
- MINAG (2008): Instructivo técnico del cultivo de la fruta bomba. INIVIT, Villa Clara, Cuba, 17 pp.

- Moericke, V. (1955): Über die lebensgewohnheiten der geflügelten blattliuse (Aphidina) unter besonderer berilcksichtigung des verhaltens beim landen. **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie** 37: 29-91.
- Mora-Aguilera, G., D. Nieto, D. Téliz y C. L. Campbell (1993): Development of a prediction model for papaya ringspot in Veracruz, Mexico. **Plant Dis.** 77: 1205-1211.
- Muñoz, S. (1983): Programa de mejoramiento genético de la fruta bomba *Carica papaya* L. **Ciencia y Técnica en la agricultura. Cítricos y otros frutales.** La Habana, Cuba.
- Nakasone, H. Y. y R. E. Paull (1998): Papaya. En: Nakasone, H. Y, R. E. Paull (eds.) **Tropical Fruits**, pp. 239-269. *CAB International.* UK.
- Nault, L. R. y G. G. Gyrisco (1966): Relation of the feeding process of the pea aphid to the inoculation of Pea enation mosaic virus. **Ann. Entomol. Soc. Am.** 59: 1185-1197.
- Nieto, A. D., O. D. Téliz, M. R. Rodríguez y G. Rodríguez (1990): Epidemiología del Virus de la mancha anular del papayo bajo diferentes fechas de siembra, densidades de plantación y localidades de Veracruz. **Congreso de Fitopatología.** Culiacán, Sinaloa, México, pp. 40.
- Noa, J. C., D. González-de-Leon, B. S. Ruiz-Castro, D. Piñero y L. Silva-Rosales (2006): Distribution of *Papaya ringspot virus* and *Papaya mosaic virus* in papaya plants (*Carica papaya*) in Mexico. **Plant Dis.** 90: 1004-1011.
- OECD (2003): Organisation for Economic Co-operation and Development). Draft Consensus Document on the Biology of *Carica papaya* L. (Papaya), Report no. 5, February, France.
- Pantoja, A., J. Peña, W. Robles, E. Abreu, S. Halbert, M. D. L. Lugo, E. Hernández y J. Ortiz (2006): Aphids associated with papaya plant in Puerto Rico and Florida. **J. Agric. Univ. Puerto Rico** 90(1-2): 99-107.
- Peña, H., J. A. Díaz y T. Martínez (1996): **Fruticultura tropical.** 2<sup>da</sup> parte, Ed. Félix Varela, Cuba, 208 pp.

- Pérez, L. F. y G. González (2007): **Enfermedades del papayo: Descripción, epidemiología y manejo**. Ed. Científico-Técnica, La Habana, Cuba, p. 52.
- Pickett, J. A., L. J. Wadhams, C. M. Woodcock y J. Hardie (1992): The chemical ecology of aphids. **Annu. Rev. Entomol.** 37: 67-90.
- Pirone, T. P. y K. L. Perry (2002): Aphids-nonpersistent transmission. **Adv. Bot. Res.** 36: 1-19.
- Powell, G. (2005): Intracellular salivation is the aphid activity associated with inoculation of non-persistently transmitted viruses. **J. Gen. Virol.** 86: 469-472.
- Powell, G., R. T. Tosh y J. Hardie (2006): HOST PLANT SELECTION BY APHIDS: Behavioral, Evolutionary, and Applied Perspectives. **Annu. Rev. Entomol.** 51: 309-30.
- Prado, E. y W. F. Tjallingii (1994): Aphid activities during sieve element punctures. **Entomol. Exp. Appl.** 72(2): 157-166.
- Purcifull, D. E., J. R. Edwardson, E. Hiebert y D. Gonsalves (1984): *Papaya ringspot virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 292.
- Racah, B., H. Huet y S. Blanc (2001) : Potyviruses. En: Harris, K. F, Smith O. P, Duffus J. E (eds.) **Virus-insect-plant interactions**. pp. 181-232. Academic Press, EE.UU.
- Rieger, M. (2006): **Introduction to fruit crops**. The Haworth Press, EE.UU., 462 pp.
- Rivas-Valencia, P., G. Mora-Aguilera, D. Téliz-Ortiz y A. Mora-Aguilera (2008): Evaluación de barreras vegetales en el manejo integrado de la mancha anular del papayo en Michoacán, México. **Summa Phytopathol.** 34: 307-312.
- Rodríguez, A (2010): **Adolfo Rodríguez Rivera, un guajiro científico**. Ed. Científico-Técnica, La Habana, Cuba, 152 pp.
- Rodríguez, A. A., P. Sánchez (2009): **Especies de frutales cultivadas en Cuba en la agricultura urbana y suburbana**. 4<sup>ta</sup> ed., INIFAT, La Habana, Cuba, 150 pp.
- Roig y Mesa, J. T. (1988): **Diccionario botánico de nombres vulgares cubanos**. Ministerio de Cultura. Editorial Científico-Técnica. 756-757.

- Shaner, G. y R. E. Finney (1977): The effect of nitrogen fertilization on the expression of show-mildewing resistance in knox wheat. **Phytopathology** 67: 1051-1056.
- Shukla, D. D., C. W. Ward, A. A. Brunt y P. H. Berger (1998): *Potyviridae* family. AAB\ DPV Descriptions of Plant Viruses no. 366.
- Silva-Rosales, L., N. Becerra-Leor, S. Ruíz-Castro, D. Téliz-Ortiz y J. C. Noa-Carrazana (2000): Coat protein sequence comparisons of three Mexican isolates of *Papaya ringspot virus* with other geographical isolates reveal a close relationship to American and Australian isolates. **Arch. Virol.** 145: 835-843.
- Singh, V. y D. Singh (2010): Studies on natural transmission of *Papaya ringspot virus* disease in Eastern Uttar Pradesh. **Annals of Plant Protection Sciences** 18(1): 188-192.
- Space, J. C., B. Waterhouse, J. S. Denslow y D. Nelson (2000) (activa septiembre 2012). Invasive plant species on Rota, Commonwealth of the Northern Mariana Islands. USDA Forest Service, Honolulu. <http://www.hear.org/pier/reports/rreport.htm>
- Swain, S. y D. A. Powell (2001) (activa septiembre 2012) Papaya Ringspot Virus Resistant Papaya: A Case Study Technical report. <http://www.foodsafetynetwork.ca/gmo/papayarep.htm>
- Taylor C. E. y W. M. Robertson (1974): Electronmicroscopy evidence for the association of tobacco severe etch virus with the maxillae of *Myzus persicae* (Sulzer). **Phytopathol** 80: 257-266.
- Tecson-Mendoza, E. M., A. C. Laurena y R. Botella (2008): Recent advances in the development of transgenic papaya technology. **Biotechnology Annual Review** 14: 423-462.
- Tjallingii, W. F. (1978): Mechanoreceptors of the aphid labium. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 24: 721-537.
- Tjallingii, W.F. (1994): Sieve element acceptance by aphids. **Eur. J. Entomol.** 91:47-52.

- Townsend, G. R. y J. W. Heuberger (1943): Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. **Plant Dis. Repr.** 27: 340-343.
- Trinidad, J. L. y A. C. Sumalde (2003): Vector capabilities of three aphid species for *Papaya ringspot virus*. **Philip. Entomol.** 17(2): 195.
- Tripathi, S., J.Y. Suzuki, SA. Ferreira y D. Gonsalves (2008): *Papaya ringspot virus* -P: characteristics, pathogenicity, sequence variability and control. **Mol. Plant Pathol.** 9: 269 -280.
- Vegas, A., A. Gonzalez, G. Trujillo y I. Pino (1998): Dificultad en el diagnóstico serológico de cepas atenuadas del *Virus de la mancha anillada distorsionante de la lechosa* (PRSV). **Fitopatología Venezolana** 11: 40-44.
- Vegas, A., M. Cermeli y G. Trujillo (1985): Áfidos relacionados con el *Virus de la mancha anillada de la lechosa* en venezuela. Presencia, transmisión y eficiencia. **Agronomía Tropical** 35 (1-3): 21-31.
- Ventura, J. A., H. Costa y J. da Silva Tatagiba (2004): Papaya diseases and integrated control. En: Naqvi, SAMH (ed.), **Diseases of Fruits and Vegetables**, Vol. II, pp. 201-268. Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- Vidal, C. A., A. S. Nascimento, C. J. Barbosa, O. M. Marques y T. C. Habibe (2001): Experimental transmission of “sticky disease” of papaya by *Bemisa argentifolii* Bellows & Perring. En: International Congress of Entomology, Foz do Iguaca-PR, SEB/EMBRAPA, 2000, Abstract Book 2, p. 819.
- Villegas, V. N. (1997): Edible fruits and nuts - *Carica papaya* L. En: E. W. M. Verheij, R. E. Coronel (eds.), vol. 2. Wageningen University, The Netherlands.
- Visser, J. H., P. G. M. Piron y J. Hardie (1996): The aphids' peripheral perception of plant volatiles. **Entomol. Exp. Appl.** 80:35-38.
- Wei, F. y R. Wing (2008): A fruitful outcome to the papaya genome project. **Genome Biology** 9:227.
- Wei, J. Y., D. B. Liu, X. Y. Li y P. Zhou (2007): Variation in the coat protein gene of *Papaya ringspot virus* isolates from multiple locations of China. **J. Integr. Plant Biol.** 49: 1062-1069.

- Wensler, R. J. (1974): Sensory innervation monitoring movement and position in the mandibular stylets of an aphid, *Brevicoryne brassicae*. **J. Morphol.** 143: 349-364.
- Yeh, S. D., D. Gonsalves y R. Provvidenti (1984): Comparative studies on host range and serology of *Papaya ringspot virus* and *Watermelon mosaic virus 1*. **Phytopathology** 74: 1081-1085.
- Yeh, S. D., H. J. Bau, Y. J. Kung y T. A. Yu (2007): Papaya. En: Pua, EC, Davey MR (eds.) **Biotechnology in Agriculture and Forestry**, Vol. 60, Transgenic Crops V., pp. 73-96. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*
- Zettler, F. W. y S. H. Wan (1994): **Papaya droopy necrosis and papaya apical necrosis**. En: Ploetz, R. C, Zentmyer G. A, Nishijima W. T, Rohrbach K. G, Ohr H. D (eds.), **Compendium of Tropical Fruit Diseases**. pp. 66-67. APS Press, St. Paul, MN.

*Anexos*

## 8. Anexos

**Anexo 1.** Escala de síntomas para la evaluación de plantas de papaya var. Maradol roja inoculadas de forma mecánica con el Virus de la mancha anular de la papaya en condiciones semicontroladas según Cruz *et al.* (2008).

---

| <b>Grados</b> | <b>Descripción de los síntomas</b>  |
|---------------|---|
| 0             | Plantas sin síntomas visibles   |
| 1             | Aclarado de las nervaduras  |
| 2             | Manchas pequeñas de color claro distribuidas uniformemente en el limbo de la hoja (Mosaico ligero).             |
| 3             | Zonas verde claro y verde oscuro en alternancia, distribuidas en el limbo de la hoja.                           |
| 4             | Zonas verde oscuro abultadas no uniformes en el limbo de la hoja (Mosaico severo).                              |
| 5             | Deformación de los folíolos.  |
| 6             | Reducción de la lámina foliar hasta quedar solo los nervios centrales. Hojas en forma de garras (Filiformidad). |

---

**Anexo 3.** Caracteres morfológicos de tres especies de áfidos. a, b: cabeza, tercer segmento antenal y abdomen posterior de *A. craccivora*; c, d: cabeza, tercer segmento antenal y cauda de *T. citricidus*; e, f: *R. maidis*. Barras en a, b, c representan 15  $\mu\text{m}$ , y d 5  $\mu\text{m}$ .

