



CIENCIAS AGRARIAS Y DE LA PESCA

Caracterización del virus de la mancha anular de la papaya, epifitología y manejo de la enfermedad en *Carica papaya* L. en Cuba

ENTIDAD EJECUTORA PRINCIPAL: Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Cuba

Entidades participantes: Instituto de Patología Vegetal, Centro de Investigaciones Agropecuarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical; Departamento de Fitopatología, Universidade Federal de Lavras; Centro de Estudios de Transformación Agropecuaria Sostenible, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Cienfuegos; Laboratorio de Agrobiagnóstico; Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales; Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Villa Clara; Centro de Investigaciones Agropecuarias, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas; Instituto de Biotecnología de las Plantas; Centro de Bioplantas

AUTORES PRINCIPALES: Orelvis Portal Villafaña¹, Dariel Cabrera Mederos^{2,3}, Douglas Rodríguez Martínez^{4,5}

Otros autores: Ricardo Hernández Pérez^{6,7}, Fabián Giolitti³, Dahert García Hernández⁸, Maylín Cruz Martín⁹, José Efraín González Ramírez⁸, Horacio Grillo Ravelo¹⁰, Maruchi Alonso Esquivel⁴, Enrique Casanovas Cosío⁶, Novisel Veitía Rodríguez¹¹, Antonia dos Reis Figueira⁵, Justo González Olmedo¹²

Filiación: ¹Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Central Marta Abreu de Las Villas (FCA-UCLV), Santa Clara, Cuba; ²Departamento de Agronomía, FCA-UCLV, Santa Clara, Cuba; ³Instituto de Patología Vegetal, Centro de Investigaciones Agropecuarias, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-CIAP-INTA), Córdoba, Argentina; ⁴Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT), La Habana, Cuba; ⁵Departamento de Fitopatología, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Brasil; ⁶Centro de Estudios de Transformación Agropecuaria Sostenible, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Cienfuegos (CETAS-FCA-UCF), Cienfuegos, Cuba; ⁷Laboratorio de Agrobiagnóstico, Morelos, México; ⁸Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), Santo Domingo, Cuba; ⁹Laboratorio Provincial de Sanidad Vegetal de Villa Clara, Santa Clara, Cuba; ¹⁰Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), FCA-UCLV, Santa Clara, Cuba; ¹¹Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP), Santa Clara, Cuba; ¹²Centro de Bioplantas, Universidad de Ciego de Ávila Máximo Gómez Báez (UNICA), Ciego de Ávila, Cuba

RESUMEN

Palabras clave

virus de la mancha anular; *Carica papaya* L.; epifitias

La prospección de plantaciones de papaya reveló que el virus de la mancha anular de la papaya (PRSV) se encuentra ampliamente distribuido en Cuba, con valores de incidencia y severidad elevados. La diversidad de las secuencias de nucleótidos de la proteína de la cápside (CP) de aislados cubanos y de otros países del mundo ubicó a los de Cuba en dos agrupamientos: centro-occidente y oriente (Rodríguez Martínez *et al.*, 2014). Los análisis filodinámicos realizados con el gen de la CP de aislados cubanos de PRSV-P (34 secuencias) y 107 secuencias de aislados del continente americano e islas del Caribe mostraron un ancestro común más reciente en 1942 (HPD95 % = 1911-1967). Además, se demostró que en el caso de Cuba ocurrió una dispersión del virus desde México y otras localizaciones (Cabrera Mederos *et al.*, 2018). La evaluación de síntomas inducidos por aislados de PRSV en plantas de papaya permitió elaborar escalas para evaluar la enfermedad en condiciones



de invernadero y en campo. Estos resultados aportaron a la selección de cultivares promisorios de origen nacional e introducidos (Maradol roja y del grupo solo), así como estrategias de manejo en plantaciones de papaya (Rodríguez Martínez *et al.*, 2011; Rodríguez Martínez *et al.*, 2013; Cabrera Mederos *et al.*, 2017a). En plantaciones de papaya con endemismo del PRSV se detectó la presencia de 16 especies de áfidos, siendo las más frecuentes *Aphis gossypii* Glover y *Aphis citricola* Van der Goot, donde la posición cardinal, la colindancia y la dirección predominante de los vientos tienen un efecto marcado en la llegada de áfidos alados (García *et al.*, 2012). Se informó por primera vez en Cuba la transmisión del PRSV por *Aphis craccivora* Koch y *Rhopalosiphum maidis* Fitch. Se demostró que el uso de malla antiáfidos en los viveros (Cabrera Mederos *et al.*, 2011), así como las barreras intercaladas de maíz, disminuyeron la incidencia y la severidad del PRSV (Cabrera Mederos *et al.*, 2013), y representan estrategias plausibles de manejo de la enfermedad. Debido a las pérdidas ocasionadas por el PRSV se han explorado nuevas alternativas de manejo. En este sentido, el inhibidor viral Inhibitovir (Pérez *et al.*, 2009; Hernández *et al.*, 2017) y el activador fisiológico A-CETAS/07 (Hernández *et al.*, 2015) aumentaron los rendimientos en experimentos de campo. De igual forma, se realizaron prospecciones en cucurbitáceas, donde se logró identificar por primera vez en Cuba el PRSV-W en plantas de *Cucurbita pepo* L. (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2015), *Momordica charantia* L. (Cabrera Mederos *et al.*, 2015) y *Luffa aegyptiaca* Mill. (Cabrera Mederos *et al.*, 2017b). En Argentina, se informa por primera vez el PRSV en papaya (Cabrera Mederos *et al.*, 2016).

La papaya (*Carica papaya* L.) se encuentra distribuida a lo largo de las regiones tropicales y subtropicales. La amplia adaptación de esta planta y la aceptación de sus frutos le confieren considerables ventajas comerciales locales y de exportación. Cuba se encuentra dentro de los principales productores de *C. papaya* a nivel mundial, aunque los rendimientos son bajos debido principalmente a problemas fitosanitarios y de manejo. En este sentido, el virus de la mancha anular de la papaya (PRSV) causa una de las enfermedades más destructivas en este cultivo.

El PRSV se señaló por primera vez en 1946; no obstante, son escasas las investigaciones sobre su distribución, severidad de síntomas y manejo en la papaya. Ante esta problemática se planteó el objetivo general de caracterizar biológica y molecularmente el PRSV, así como aspectos epifitológicos y de manejo de la enfermedad en la papaya, fundamentalmente en Cuba.

Distribución, análisis filodinámico del PRSV y diversidad genética

La prospección de jardines y plantaciones de *C. papaya* cultivadas en 47 municipios, en el período entre 2008 y 2013, reveló que el PRSV se encuentra ampliamente distribuido en Cuba. El virus fue identificado en 36 de las 70 localidades estudiadas (51,43 %). De las 111 plantaciones y jardines de papaya inspeccionados, 55 resultaron positivas al PRSV, lo que indica una prevalencia general del 49,55 %. Los valores más altos de incidencia e índice de la enfermedad se registraron en San Luis (Pinar del Río), San Antonio de los Baños (Artemisa), Santo Domingo (Villa Clara), Sancti Spíritus (Sancti Spíritus) y

Las Tunas (Las Tunas). En Melena del Sur y Nueva Paz (Mayabeque), Corralillo (Villa Clara), Trinidad (Sancti Spíritus), Rafael Freyre (Holguín) y Bayamo (Granma), los valores de incidencia e índice de la enfermedad fueron inferiores al 60 %. En las plantaciones de las provincias de Cienfuegos, Ciego de Ávila, Santiago de Cuba y Guantánamo la enfermedad no se identificó durante las evaluaciones. Sin embargo, en Cienfuegos (Cienfuegos) y Palma Soriano (Santiago de Cuba), se detectó la presencia del PRSV en plantas de papaya cultivadas en jardines (Cabrera Mederos *et al.*, 2018).

El análisis de las secuencias de nucleótidos de la proteína de la cápside (CP) de aislados cubanos ($n = 34$) reveló valores de identidades entre el 92,4 y el 99,7 %, y los valores más bajos se observaron entre aislados de distintas regiones geográficas. La mayor variabilidad se observó entre los aislados de la región centro-occidente con los aislados de la región este. Se detectaron cuatro bloques EK (ácido glutámico-lisina), bien definidos en las secuencias de los aislados cubanos, los cuales posiblemente tienen una relación con la distribución geográfica del PRSV. En los aislados de Melena del Sur-1 y Santo Domingo-1 (ambos en las regiones centro-occidente), la variabilidad estuvo dada por la ausencia de dos aminoácidos en el tercer bloque EK de la CP. Las similitudes en el bloque EK encontradas entre los aislados del PRSV mexicanos y cubanos apoyan una posible relación con su distribución geográfica (Rodríguez Martínez *et al.*, 2014).

Los análisis filodinámicos realizados con el gen de la CP de aislados cubanos del PRSV-P (34 secuencias) y 107 secuencias de aislados del continente americano y las islas del Caribe mostraron un ancestro común más reciente en 1942

(HPD95% = 1911-1967). La tasa de sustitución se estimó en $7,7 \times 10^{-4}$ sustituciones por sitio por año (HPD95% = $4,6 \times 10^{-4}$ - $1,1 \times 10^{-3}$), que es equivalente a las detectadas en otros virus de ARN. La reconstrucción demográfica del PRSV mostró que la diversidad del virus aumentó en el período 1985-1990, lo que coincide con la implementación de extensas prácticas de producción. Además, se muestra que en el caso de Cuba ocurrió una dispersión del virus desde México y otras localizaciones ancestrales desconocidas. El análisis de dispersión espaciotemporal propuso a México como un área ancestral para el origen de la diversificación en el continente americano y sugiere nuevos eventos de dispersión entre los aislados de América y el Caribe (Cabrera Mederos *et al.*, 2018).

Agresividad de aislados cubanos del PRSV en *Carica papaya* cultivar Maradol roja en condiciones de invernadero

Se describieron los síntomas inducidos por el aislado de PRSV de Santo Domingo en plantas de papaya después de la inoculación mecánica y se elaboró una escala (0-6 grados) en condiciones de invernadero. Con esta escala se determinó la agresividad de 24 aislados cubanos de PRSV y se evaluó la severidad de los síntomas inducidos en plantas de papaya cultivar Maradol roja. Los aislados del PRSV de Nueva Paz, Güines y San José de Las Lajas en el occidente, Sancti Spiritus en el centro, y Palma Soriano y Puerto Padre en el oriente del país fueron los más agresivos, según valores del área bajo la curva del progreso de la enfermedad. El conocimiento sobre la agresividad de este virus es crucial para implementar estrategias de manejo y programas de mejoramiento en papaya (Cabrera Mederos *et al.*, 2017a).

Selección de cultivares promisorios

En condiciones de campo los cultivares Sunset, Baixinho de Santa Amalia y Golden mostraron síntomas severos del PRSV, mientras que BH-65 y Sunrise Solo se comportaron como moderados. Bajo condiciones de invernadero BH-65 y Sunset desarrollaron síntomas severos, Golden y Baixinho de Santa Amalia fueron intermedios y Sunrise Solo fue el menos afectado. Sunset, Sunrise Solo y Golden mostraron las afectaciones más severas en los frutos. Estos estudios brindaron los primeros resultados en Cuba sobre la respuesta al PRSV en cultivares del grupo Solo, y revelaron resultados importantes para los programas de mejoramiento genético (Rodríguez Martínez *et al.*, 2011). Además, en condiciones de campo en Jagüey Grande (Matanzas), accesiones cubanas de papaya mostraron un incremento temporal de la proporción de plantas afectadas. La accesión Amarilla de Duaba mostró los síntomas a los dos meses después de la primera evaluación, mientras que el resto lo hizo a los cinco meses después de

la primera evaluación, aunque con proporciones que variaron entre ellas.

La severidad de los síntomas se incrementó en los diferentes órganos siguiendo el siguiente orden: tallo (1,7-2,66), pecíolos (2,21-3,03) y follaje (3,44-4,03). En los frutos la intensidad de los síntomas observados fue inferior a 2,5, considerados como leves de acuerdo con su intensidad y distribución. Se ofrecieron los primeros resultados sobre la susceptibilidad al PRSV de estas accesiones, los cuales son de gran utilidad para los productores, así como para los programas de mejoramiento (Rodríguez Martínez *et al.*, 2013).

Posición cardinal y dirección predominante de los vientos en la fluctuación poblacional de áfidos e incidencia del PRSV en plantaciones de papaya

En plantaciones de papaya cv. Maradol roja en Santo Domingo se observó la presencia de 16 especies de áfidos alados durante el período de enero de 2009 y abril de 2010. De las especies de áfidos identificadas, las más frecuentes fueron *Aphis gossypii* Glover y *Aphis citricola* Van der Goot, con aproximadamente el 53 y el 16 % del total de insectos colectados, respectivamente. Se constató una mayor presencia de áfidos alados en meses con escasas precipitaciones (marzo y abril). Por su parte, las precipitaciones abundantes, combinadas con temperaturas máximas superiores a los 32 °C, redujeron el número de insectos capturados. Se informó por primera vez en Cuba la transmisión del PRSV por *Aphis craccivora* Koch y *Rhopalosiphum maidis* Fitch.

En evaluaciones quincenales realizadas en plantaciones de papaya cultivar Maradol roja en Santo Domingo, se observó mayor número de insectos en la zona norte de la plantación durante 165 días después del trasplante (ddt). Además, los vientos predominantes durante este período fueron del noreste. Aunque en ambos extremos cardinales la infección inició de manera simultánea, en la zona sur se retardó 30 días en alcanzar el 100 % de plantas afectadas. Los resultados obtenidos demuestran el efecto marcado de la posición cardinal, la colindancia y la dirección predominante de los vientos en la llegada y la captura de áfidos alados en plantaciones de *C. papaya*. Además, sugieren su incorporación en la ubicación de trampas Moericke para el manejo del PRSV en esta región (García *et al.*, 2012).

Protección de viveros de papaya con mallas antiáfidos

Como resultado de evaluaciones quincenales, durante 300 ddt, realizadas en plantaciones de plantas de papaya procedentes de viveros protegidos y sin proteger con malla antiáfidos se observaron las primeras plantas sintomáticas a los

90 ddt en la plantación procedente de vivero sin protección, con un retardo de 90 días en la plantación procedente de vivero protegido. A los 195 ddt, en la plantación sin manejo del vivero, se observó un 100 % de incidencia del PRSV, y en la plantación procedente de vivero protegido se registró este valor a los 300 ddt. El uso de mallas antiáfidos constituye un método efectivo para fomentar plantaciones que escapen temporalmente a la enfermedad (Cabrera Mederos *et al.*, 2011).

Cultivos barreras en plantaciones de papaya

Como resultado de evaluaciones quincenales, durante 240 ddt, realizadas en plantaciones con un manejo integral de la papaya mediante la protección de viveros, barreras perimetrales de sorgo forrajero y maíz intercalado (MIP-Maíz) y manejo con las prácticas descritas en el tratamiento anterior, sin incluir el maíz intercalado (MIP) se observó una disminución del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (*abcpe*) en MIP-Maíz en relación con el MIP. Las barreras intercaladas de maíz tuvieron un efecto en la reducción de epifitias y disminuyeron la incidencia y la severidad final del PRSV en un 25 y un 17 %, respectivamente, en comparación con el MIP. Se demostró que la adición de barreras de maíz intercaladas en plantaciones de papaya reduce las afectaciones producidas por el PRSV (Cabrera Mederos *et al.*, 2013).

Inhibidor viral para el control del PRSV y activador fisiológico de la fructificación en papaya

El inhibidor viral Inhibitovir produjo atenuaciones de los síntomas del PRSV, y su aplicación dos veces por semana de conjunto con el inhibidor comercial Q-2000VI aumentó los rendimientos considerablemente. La aplicación del formulado en campo ofrece una nueva alternativa para el manejo de la enfermedad (Hernández *et al.*, 2017; Pérez *et al.*, 2009). Por su parte, la aplicación foliar del activador fisiológico A-CETAS/07 incrementó el rendimiento entre 64-74 t ha⁻¹ a los 9 meses después del trasplante, lo cual representa una alternativa económica y con impacto favorable en el medioambiente que, de conjunto con el inhibidor viral, pudiera contribuir de forma positiva al control del PRSV (Hernández *et al.*, 2015).

Nuevos hospedantes del PRSV-W en Cuba

En prospecciones realizadas en las provincias de Pinar del Río y Villa Clara (2010 y 2015) se observaron síntomas de mosaico severo y deformaciones en hojas de *Cucurbita pepo* L., *Momordica charantia* L. y *Luffa aegyptiaca* Mill., respectivamente. Observaciones al microscopio electrónico revelaron la presencia de partículas flexuosas, las cuales fueron identificadas como el PRSV mediante ELISA-DAS (del inglés *double antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay*).

El PRSV se transmitió mecánicamente a plantas sanas de *C. pepo*, *Chenopodium amaranticolor* Coste and Reyn. y *Cucurbita moschata* L., pero no a plantas de papaya, lo cual sugiere la presencia del PRSV-W.

El análisis de la CP mostró la máxima identidad con otros aislados del PRSV de EE.UU., Australia, Venezuela, Brasil, India y Cuba. En el análisis filogenético se observaron dos agrupaciones fundamentales. La agrupación I incluyó aislados provenientes del grupo de las Américas, Australia e India, mientras que en la agrupación II incluyó aislados de China, Tailandia y Taiwán. En este trabajo se identificó por primera vez en Cuba el PRSV-W en plantas de *C. pepo* (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2015), *M. charantia* (Cabrera Mederos *et al.*, 2015) y *L. aegyptiaca* (Cabrera Mederos *et al.*, 2017b). Tal hallazgo es relevante para la epifitología y manejo de esta enfermedad en cucurbitáceas.

Informe del PRSV-P en papaya en Argentina

Durante muestreos realizados entre el 2013 y el 2015 en el norte de Argentina se colectaron hojas de papaya con síntomas similares a los inducidos por el PRSV. La presencia del PRSV se verificó mediante la amplificación de la CP. En el análisis filogenético se observó el agrupamiento de los aislados de Argentina con los de Brasil, lo cual sugiere un origen común. Los resultados obtenidos confirman la presencia del PRSV en las provincias de Formosa, Corrientes y Misiones (Cabrera Mederos *et al.*, 2016).

En conclusión, los resultados de este trabajo son de gran novedad científica. Las relaciones filogenéticas observadas entre las secuencias de aislados del PRSV del continente americano y las islas del Caribe contribuyen a dilucidar los eventos de dispersión del PRSV en Cuba. A su vez, se determina que el PRSV se encuentra extendido en las principales zonas productoras de papaya del occidente, centro y occidente de Cuba, con valores de incidencia e índice de la enfermedad superiores al 90 %, y que la evolución de los síntomas inducidos por los aislados del PRSV en las plantas de papaya evidenciaron una elevada agresividad. Además, se logra disminuir el impacto de la enfermedad producida por el PRSV mediante la protección de viveros, el uso de barreras, la monitorización de insectos vectores, el uso de inhibidores virales y de activadores fisiológicos, así como con la selección de cultivares promisorios. De igual forma, se detecta por primera vez el PRSV en Argentina, así como en algunas cucurbitáceas.

AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA

Dr. C. Orelvis Portal Villafañe. Departamento de Biología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central Marta Abreu de Las Villas. Santa Clara, Cuba. Carretera a Camajuaní, km 5,5, Santa Clara. CP 54 830. Cuba. Correo electrónico: orelvispv@uclv.cu