



**Universidad Michoacana
de San Nicolás de Hidalgo**



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICO BIOLÓGICAS

**ESPECIE PREDOMINANTE DEL GÉNERO *Empoasca* EN PAPAYA (*Carica papaya* L.) EN EL
VALLE DE APATZINGÁN, MICHOACÁN Y SU IMPLICACIÓN EN LA TRANSMISIÓN
DEL VIRUS MELEIRA**

Tesis que presenta:

QFB. Uber Isai Zarco Ramírez

Para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Asesor: D. C. Alfonso Luna Cruz

Coasesora: D. C. Lourdes Iveth Macías Rodríguez

Morelia, Michoacán, agosto 2022.

El presente trabajo se realizó en el Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, dependiente de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la dirección del D.C. Alfonso Luna Cruz y la D. C Lourdes Iveth Macías Rodríguez.

Agradecimientos

Quiero agradecer al CONACYT por el apoyo económico brindado para la realización de este proyecto.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por formarme como un profesional con valores.

A mi asesor de tesis, el D. C. Alfonso Luna Cruz, por apoyarme en este proceso de aprendizaje y transmitirme su conocimiento.

A mi coasesora, la D. C. Lourdes Iveth Macías Rodríguez, por instruirme en este proceso.

A mi comité sinodal, conformado por el D. C. Homero Reyes de la Cruz, el D. C. Josué Altamirano Hernández y la D. C. Esperanza Loera Alvarado, por asesorarme y llevar a cabo un trabajo excepcional para guiar mi formación.

Dedicatoria

A mi familia y amigos que han influenciado mi formación y la búsqueda de superación en todos los ámbitos de mi vida. De manera muy especial a quien hoy ya no se lo puedo decir.

Índice general

Índice de cuadros y figuras.....	7
Resumen	5
Abstract	6
1. Introducción.....	7
2. Antecedentes.....	8
2.1 Familia <i>Caricaceae</i>	8
2.1.1 <i>Carica papaya</i> L.....	9
2.1.2 Importancia económica mundial	12
2.1.3 Importancia económica regional	13
2.2 Limitantes fitosanitarias del cultivo de papaya	14
2.2.1 Virus de importancia económica que afectan el cultivo de papaya en el continente americano	15
2.2.2 Umbravirus.....	17
2.3.3 RNA´s asociados de tipo umbravirus	18
2.3 Meleira: origen y distribución	18
2.3.1 Sintomatología observada en plantas con meleira.....	19
2.3.2 Avances en la determinación del agente causal de meleira.....	21
2.4 Vías de dispersión de virus fitopatógenos	24
2.4.1 Transmisión vertical	24
2.4.2 Transmisión horizontal.....	25
2.5 Hemípteros: insectos de importancia agrícola.....	28
2.6 Cicadellidae	29
2.7 Características del género <i>Empoasca</i>	30
3. Justificación.....	31
4. Hipótesis.....	32
5. Objetivos.....	32
5.1 Objetivo general	32
5.2 Objetivos específicos.....	32
6. Materiales y métodos.....	33
6.1 Detección del virus meleira de la papaya en el Valle de Apatzingán.....	33
6.1.1 Muestreo.....	33

6.1.2	Extracción de RNA total	34
6.1.3	Síntesis de cDNA (Transcripción reversa)	35
6.1.4	Reacción en Cadena de la Polimerasa	35
6.2	Determinación de la especie predominante del género <i>Empoasca</i> presente en huertos sintomáticos muestreados	36
6.3	Determinación de la adquisición de PMeV-Mx por la especie predominante del género <i>Empoasca</i> presente en huertos sintomáticos de la región del Valle de Apatzingán	38
6.3.1	Colecta de ejemplares	38
6.3.2	Determinación de la presencia de PMeV-Mx en la especie predominan del género <i>Empoasca</i>	38
6.4	Ensayo de transmisión de PMeV-Mx por la especie predominante de <i>Empoasca</i> sp. a plántulas de papaya	39
7.	Resultados	40
7.1	Identificación de plantas de papaya con sintomatología sugestiva de meleira en el Valle de Apatzingán	40
7.2	Presencia de PMeV-Mx en cultivos de las variedades Maradol e Intenza	41
7.3	Identificación de <i>Empoasca laceiba</i> como la especie predominante en los huertos sintomáticos muestreados del Valle de Apatzingán, Michoacán	42
7.4	<i>Empoasca laceiba</i> tiene la capacidad de adquirir PMeV-Mx en condiciones de campo	44
7.5	Determinación de la transmisión de PMeV-Mx por <i>E. laceiba</i> a plántulas de papaya	45
8.	Resumen de resultados	46
9.	Discusión de resultados	47
10.	Conclusión	50
11.	Perspectivas	50
12.	Referencias	51
Anexo 1	61

Índice de cuadros y figuras

Fig. 1 Partes vegetativas de la planta de papaya.	10
Fig. 2 Flores de papaya a las que se les ha quitado un pétalo para mostrar las partes internas (a–c) y las inflorescencias (d–f).....	11
Cuadro 1. Principales estados productores de papaya en México.....	13
Cuadro 2. Virus de papaya en las principales regiones productoras del mundo.	15
Fig. 3 Hojas de plantas de papaya inoculadas de forma simulada e infectadas con virus que muestran síntomas a los 60 días posteriores a la infección (dpi) con valores de daño ($\delta 60$)	16
Fig. 4. Síntomas característicos de infección por PMeV en <i>C. papaya</i>	20
Fig. 5 Ácidos nucleicos extraídos a partir de látex de frutos de papaya (<i>C. papaya</i>) utilizando proteinasa K.....	22
Fig. 6 Obtención de muestras de látex de frutos sintomáticos.	34
Fig. 7 Colecta de insectos con red entomológica sobre plantas de papaya.	37
Fig. 8 Chicharritas sobre el follaje de plantas de papaya.	38
Fig. 9 Plantas de papaya sintomáticas de huertos comerciales en el Valle de Apatzingán, Michoacán.	41
Fig. 10 Análisis de presencia de PMeV-Mx en muestras sintomáticas y asintomáticas del Valle de Apatzingán.....	42
Fig. 11 Análisis taxonómico de chicharritas del género <i>Empoasca</i> basado la morfología del aparato reproductor de los machos (Edeago)..	43
Fig. 12 Árbol filogenético desarrollado en base al gen CO1 de <i>E. laceiba</i>	44
Fig. 13 Determinación de la capacidad de adquisición de PMeV-Mx por <i>E. laceiba</i>	45
Fig. 14 Determinación de la capacidad de transmisión de PMeV-Mx por <i>E. laceiba</i>	46

Resumen

La enfermedad pegajosa de la papaya, también conocida como meleira, es una enfermedad que afecta el cultivo de papaya en Brasil, México y Australia. Se reportó por primera vez en la década de 1980 en plantaciones comerciales de Brasil y, actualmente es uno de los principales problemas fitosanitarios del cultivo de papaya en el continente americano. El agente causal es un virus, similar a los umbravirus, los cuales presentan un genoma de RNA positivo de cadena sencilla que no codifica proteínas de cápside, por lo que requieren de un virus auxiliar del cual obtenerla para poder replicarse y transmitirse a otras plantas. La dispersión del aislado mexicano de meleira (PMeV-Mx) se puede dar por semillas de plantas enfermas, mediante inoculación mecánica y por vectores. En el estado de Michoacán no se contaba con información sobre la presencia de esta enfermedad; sin embargo en el presente estudio se logró identificar en cultivos de las variedades Maradol e Intenza con manejos agronómicos convencional y orgánico, respectivamente. El único vector eficiente reportado para meleira en México es *Empoasca papayae*; sin embargo, no se logró determinar su presencia en los muestreos realizados a huertos enfermos en el Valle de Apatzingán, y no se encontró información en la literatura especializada consultada que reporte su presencia en el estado de Michoacán. El análisis taxonómico realizado determinó la presencia de *Empoasca dilitata* y *Empoasca laceiba* como las únicas chicharritas presentes en los huertos enfermos muestreados y a *E. laceiba* como la especie predominante. Se logró determinar, mediante Transcripción Reversa acoplada a Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR), que *E. laceiba* tiene la capacidad de adquirir PMeV-Mx en condiciones de campo; sin embargo, en el ensayo de transmisión con plántulas de papaya no se logró obtener evidencia de su capacidad de transmisión. Por lo anterior, concluimos que no hay evidencia que sugiera que *E. laceiba* puede transmitir PMeV-Mx a plántulas de papaya de la variedad Maradol.

Palabras clave: Cicadellidae, transmisión de virus, insectos vectores.

Abstract

Papaya sticky disease, also known as meleira, is a disease that affects papaya cultivation in Brazil, Mexico and Australia. It was reported for the first time in the 1980s in commercial plantations in Brazil and is currently one of the main phytosanitary problems of papaya cultivation in the American continent. The causal agent is a virus, like umbraviruses, which have a positive single-stranded RNA genome that does not encode capsid proteins, so it requires an auxiliary virus from which to obtain it to replicate and transmit to other plants. The dispersion of the Mexican meleira isolate (PMeV-Mx) can occur by seeds of diseased plants, by mechanical inoculation and by vectors. In the state of Michoacán there was no information on the presence of this disease; however, in the present study it will be modified to identify crops of the Maradol and Intenza varieties with conventional and organic agronomic management, respectively. The only efficient vector reported for meleira in Mexico is *Empoasca papayae*; however, it will not be necessary to determine its presence in the tests carried out on diseased orchards in the Apatzingán Valley and no information was found in the specialized literature consulted that reported its presence in the state of Michoacán. The taxonomic analysis carried out will show the presence of *Empoasca dilitara* and *Empoasca laceiba* as the only planthoppers present in the diseased orchards sampled and *E. laceiba* as the predominant species. It will be determined by Reverse Transcription coupled to Polymerase Chain Reaction that *E. laceiba* can acquire PMeV-Mx under field conditions; however, in the transmission test with papaya seedlings, no evidence of its transmission capacity was observed. Therefore, we conclude that there is no evidence to suggest that *E. laceiba* can transmit PMeV-Mx to papaya seedlings of the Maradol variety.

Keywords: Cicadellidae, virus transmission, insect vectors, umbravirus.

1. Introducción

La papaya (*Carica papaya* L.) es el tercer fruto tropical más cultivado a nivel mundial, se cultiva principalmente en las regiones tropicales y subtropicales de países en vías de desarrollo. El destino del fruto es, en su mayoría, el mercado interno y ,en algunos casos, se destina un porcentaje menor a la exportación, lo que genera ingresos importantes y puestos de trabajo constantes anualmente (Chávez-Pesqueira & Núñez-Farfán, 2017; SAGARPA, 2017; FAO, 2020).

En México, este cultivo es atractivo para productores debido al periodo corto entre siembra y cosecha, al alto volumen de producción por hectárea y a la demanda constante tanto en el mercado nacional como en el internacional. Pese a estas características favorables, las plagas y enfermedades representan un problema fitosanitario importante. Las enfermedades causadas por virus son las que generan mayores pérdidas económicas y las que presentan una mayor incidencia a nivel mundial (García-Cámara et al., 2019; Sa Antunes et al., 2020).

La Enfermedad Pegajosa de la Papaya, también conocida como meleira o lloroso de la papaya, es una enfermedad vírica que se originó en Brasil y se reportó por primera vez en México en el 2012 (García-Cámara et al., 2019). Esta enfermedad es relevante porque genera daños a los frutos y demeritan su valor comercial, llegando a generar pérdidas económicas de hasta el 100%, si no se toman medidas tempranas para la detección y erradicación de plantas enfermas (Ventura et al., 2003).

Actualmente, la detección y eliminación de plantas enfermas es la parte medular de las estrategias de control de la dispersión de meleira (Abreu et al., 2015; Sa Antunes et al.,

2020). Por otro lado, los estudios de las interacciones de meleira con insectos chupadores y arvenses pueden arrojar información valiosa para la mejora del manejo de la enfermedad en cada una de las regiones en las que se encuentra presente (García-Cámara et al., 2019). Dentro de las interacciones del virus con el agroecosistema, las vías de dispersión juegan un rol esencial, ya que son la ruta por la que la enfermedad puede llegar y colonizar otros nichos (Tapia-Tussell et al., 2015). Estas vías permiten la dispersión de los virus en distancias cortas o largas, dependiendo del tipo de transmisión: transmisión por semillas (vertical), por inoculación mecánica, por vectores o por polen (horizontal) (Cobos et al., 2019; Isogai et al., 2022). En la transmisión por vectores, los hospederos alternos juegan un papel relevante al incrementar las fuentes de inóculo (García-Cámara et al., 2018). Conocer las interacciones virus-planta-vector es un paso de suma importancia para diseñar estrategias para el control de la dispersión.

El presente estudio se realizó en la región del Valle de Apatzingán, la cual representa el 51.97% del área total sembrada de papaya en el estado de Michoacán, de acuerdo con los datos reportados por el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) en el 2021. Actualmente no existen estadísticas que hablen acerca de las pérdidas en producción o económicas causadas por meleira en la región. Sin embargo, en este estudio se determinó la presencia de *E. dilitara* y *E. laceiba* en huertos enfermos por lo que no se descarta que sean vectores de PMeV-Mx.

2. Antecedentes

2.1 Familia *Caricaceae*

Caricaceae es una familia pequeña de plantas que comprende seis géneros y 35 especies entre arbustos y árboles de gran tamaño que se distribuyen principalmente en el continente americano. Dentro de esta familia se encuentra el género *Cylicomorpha*, el cual cuenta con dos especies, ambas son árboles de gran tamaño distribuidos en el África

ecuatorial. Los géneros, *Jacaratia* y *Vasconcellea* cuentan con 28 especies distribuidas principalmente en Sudamérica. *Carica*, *Jarilla* y *Horovitzia* se encuentran confinados al sur de México y Centroamérica, *Carica* y *Horovitzia* cuentan con una especie cada una y *Jarilla* con tres especies. La mayoría de las especies de esta familia son árboles o arbustos, únicamente las especies del género *Jarilla* son herbáceas (Carvalho & Renner, 2014).

2.1.1 *Carica papaya* L.

La papaya es la especie económicamente más importante de la familia de las caricáceas, se cree que es originaria de Mesoamérica y actualmente es cultivada en las principales regiones tropicales y subtropicales del planeta (Carvalho & Renner, 2014; Badillo & Leal, 2019).

2.1.1.1 Identificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Violales

Familia: Caricaceae

Género: *Carica*

Especie: *C. papaya*

2.1.1.2 Descripción botánica

La papaya es una planta arborescente y perennifolia de hasta 10 metros de altura que presenta olor acre distintivo. Su longevidad va de 3 a 15 años, aunque puede producir por más de 20 años. Para obtener altos rendimientos requiere nutrientes, especialmente nitrógeno y fósforo (CONABIO, 2007).

2.1.1.2.1 Raíz: sistema radical pivotante, que consiste en una raíz principal y raíces secundarias.

2.1.1.2.2 Ramas/tronco: el tronco es erguido, cilíndrico, hueco excepto en los nudos (Fig. 1), más grueso en su base; generalmente sin ramas y con las características cicatrices que dejan las hojas al caer. Crecimiento monopódico cuando joven (tallo principal dominante) y al madurar se ramifica.

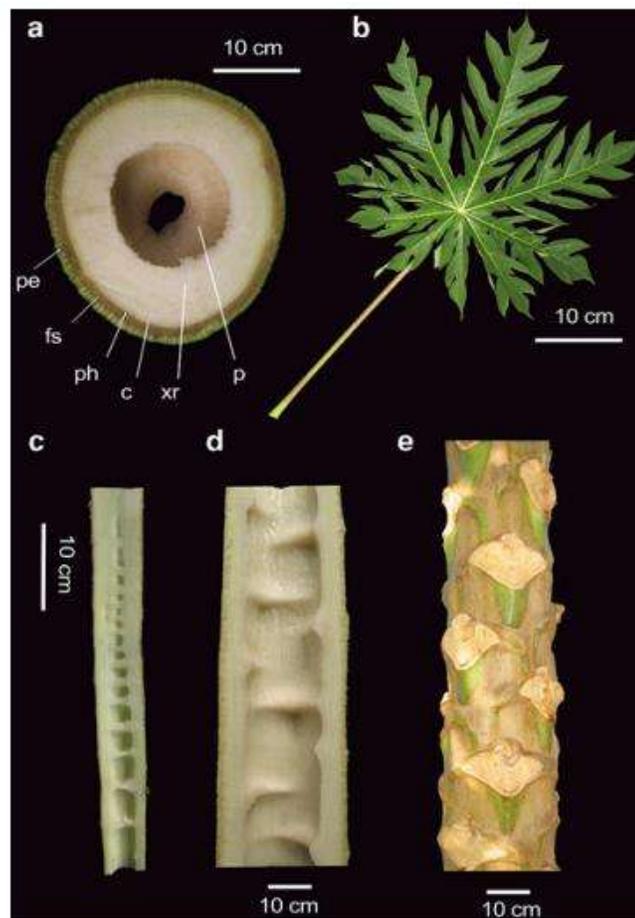


Fig. 1 Partes vegetativas de la planta de papaya.

(a) Sección transversal de un tallo de papaya de 1 año; periderma (pe), vaina fibrosa (fs), floema (ph), cambium (c), radios del xilema (xr), médula (p). (b) Lámina y pecíolo de la hoja. (c) Sección longitudinal de un tallo de papaya de 3 meses que muestra una cavidad de médula hueca. (d) Sección longitudinal de un tallo de papaya de 1 año que muestra la cavidad de la médula completa. (e) Tallo de una planta de papaya de 1 año que muestra cicatrices llamativas en el pecíolo (Jiménez et al., 2014).

2.1.1.2.3 Hojas: hojas grandes, de pecíolo largo, de 0.7 a 1 m, con la lámina palmeada de 7 a 9 lóbulos, y éstos a su vez en lóbulos más pequeños, ligeramente gruesas y carnosas.

2.1.1.2.4 Flores: flores pistiladas, estaminadas y bisexuales, con el cáliz tubular de 8 a 10 mm de largo, verdoso; corola tubular de 10 a 20 mm de largo, blancuzca o amarilla pálida. Las flores femeninas pueden encontrarse solitarias o pueden presentarse 5 o 6 juntas en la base de una hoja; las masculinas se presentan en panículas delgadas con 15 a 20 flores o pueden llegar a tener hasta 100 florecillas por inflorescencia (Fig. 2). Las flores femeninas suelen ser más grandes que las masculinas (CONABIO, 2007).

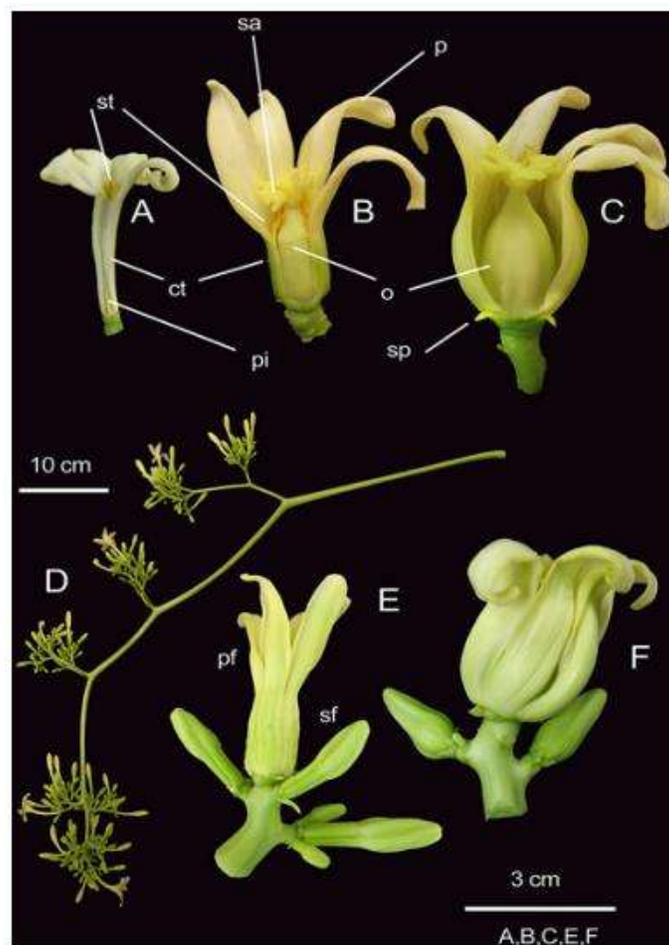


Fig. 2 Flores de papaya a las que se les ha quitado un pétalo para mostrar las partes internas (a–c) y las inflorescencias (d–f). (A) Flor estaminada que muestra estambres (st), pistilodio (pi) y tubo de la corola (ct). (B) Flor perfecta que muestra st, ct, estigmas (sa), pétalo (p) y un ovario alargado (o). (C) Flores pistiladas que muestran sépalos (sp), pétalos y ovario redondo (o). (D) Inflorescencia masculina larga con docenas de flores estaminadas. (E) Cima andromonoica que muestra una flor perfecta predominante (pf) y cinco flores estaminadas secundarias (sf). (F) Cima hembra con tres flores pistiladas (Jiménez et al., 2014).

2.1.1.2.5 Frutos: los frutos se apiñan alrededor del tronco, son bayas elipsoides a esféricas, tornándose de verdes a anaranjadas en la madurez, pulpa blanda y jugo lechoso. El fruto silvestre mide de 4 a 6 cm de largo y de 3 a 4.5 cm de ancho; el fruto cultivado mide 10 a 50 cm de largo, dependiendo del cultivo. Cada fruto contiene de 200 a 400 semillas (CONABIO, 2007).

2.1.1.3 Requerimientos climáticos y edáficos

La papaya es una planta con una fotosíntesis de tipo C3, el tipo de fotosíntesis con la menor eficiencia y que genera el mayor gasto energético en condiciones de altas temperaturas, con un intervalo de temperaturas óptimo de entre 21 y 33°C, dentro del cual produce en promedio 2 hojas por semana y de 8 a 16 frutos por mes (INTAGRI, 2018).

El cultivo de papaya presenta actualmente un gran número de retos relacionados con la producción, estos retos están relacionados principalmente con las características de los ecosistemas, como: la disponibilidad de agua, el incremento de la incidencia de enfermedades y la emergencia de plagas (SAGARPA, 2017; INTAGRI, 2018).

2.1.2 Importancia económica mundial

La papaya es el tercer fruto tropical más cultivado a nivel mundial. Los principales países productores son India, República Dominicana, Brasil y México (Bogantes et al., 2010; FAO, 2020). La mayor parte de la producción de estos países se dirige al mercado interno (Chan, 2009; Thangaraj, 2010). El mercado internacional ha experimentado un incremento sostenido en los últimos años. Los principales exportadores de papaya se localizan en el continente americano, con México en el primer puesto, seguido de Brasil y Guatemala. El mayor importador de papaya es EE. UU. y dado a la posición geográfica, México es su principal proveedor, proporcionando más del 80% de fruto consumido en ese país (SAGARPA, 2017; Valencia Sandoval et al., 2017).

2.1.3 Importancia económica regional

A pesar de estar en el quinto puesto, México se ha posicionado como el mayor exportador, con un porcentaje de fruto comercializado en mercados internacionales menor al 20% de su producción total anual. A nivel mundial, el principal importador de este fruto son los Estados Unidos de América, vecino y socio comercial estratégico de México (Evans & Ballen, 2014; SAGARPA, 2017).

En México, este cultivo es de interés para los productores debido al periodo corto entre siembra y cosecha, el volumen de producción por hectárea y un mercado con demanda constante (Chan, 2009; Evans & Ballen, 2014), por lo que se considera como de interés comercial para el país (SAGARPA, 2017).

De acuerdo con los datos presentados por SIAP (2022), la producción de papaya en el país está concentrada en cinco entidades, las cuales producen más del 80 % del total nacional (Cuadro 1.).

Cuadro 1. Principales estados productores de papaya en México (SIAP, 2022).

Posición	Entidad Federativa	Volumen de producción (t)
1	Oaxaca	353,708.03
2	Colima	193,773.49
3	Chiapas	157,957.12
4	Veracruz	120,687.45
5	Michoacán	103,008.13
Total	Nacional	1,134,753.09

Michoacán es el quinto estado con la mayor producción de papaya en el país, con un total de 103,008.13 toneladas en el 2021 y cuya comercialización se realizó principalmente en el mercado nacional. El área sembrada en Michoacán en el 2021 fue de 3,471.00 hectáreas, de las cuales 1,804.09 se localizaron en el Valle de Apatzingán, lo que

representa el 51.97% del total del estado, siendo la región que concentra la mayor área sembrada y el mayor volumen de producción en el estado. Esta región está comprendida por los municipios de Buenavista, Apatzingán, Gabriel Zamora, Parácuaro, Mújica, Tepalcatepec y Nuevo Urecho. Los municipios de Buenavista y Apatzingán concentran el 78.65% (porcentaje obtenido de los datos presentados por SIAP, 2022) del área sembrada en la región, con un rendimiento promedio de 36.14 toneladas por hectárea cosechada (SIAP, 2022).

2.2 Limitantes fitosanitarias del cultivo de papaya

Pese a las características de mercado favorables, el cultivo de papaya presenta una creciente incidencia de problemas fitosanitarios, tanto a nivel mundial como nacional. Las enfermedades presentes en este cultivo generan diferentes grados de daño y tienen una gran cantidad de agentes etiológicos, los cuales pueden ser nemátodos, bacterias, fitoplasmas, hongos o virus (Cornejo-Condori et al., 2021; da Costa et al., 2021; Kazeem et al., 2021; Pérez et al., 2010; Taha et al., 2019); sin embargo, las enfermedades causadas por virus destacan como las de mayor incidencia, grado de daño y pérdidas económicas generadas, las cuales pueden llegar hasta el 100%, lo que disminuye la rentabilidad del cultivo y lo hace menos atractivo para los productores (Noa-Carrazana et al., 2006; Perez-Brito, 2012 Basso et al., 2016; Bermúdez-Guzmán et al., 2017; Magaña-López et al., 2019;).

En el mundo se reportan, al menos, 12 virus que representan una amenaza para la producción de fruta de papaya: papaya ringspot virus (PRSV-P), papaya leaf distortion mosaic virus (PLDMV), zucchini yellow mosaic virus (ZYMV), papaya mosaic virus (PapMV), papaya leaf curl virus (PaLCV), chilli leaf curl virus (ChiLCuV), tomato leaf curl New Delhi virus (ToLCNDV), croton yellow vein mosaic virus (CYVMV), papaya droopy necrosis virus (PDNV), tomato spotted wilt virus (TSWV), papaya lethal yellowing virus (PLYV) y papaya meleira virus (PMeV) (Cuadro 2) (Mishra et al., 2015, Sa Antunes et al., 2020); sin embargo, en las distintas regiones productoras el nivel de relevancia de cada uno de ellos es distinto (Zhao et al., 2016; Mo et al., 2022).

Cuadro 2. Virus de papaya en las principales regiones productoras del mundo (Sa Antunes et al., 2020).

Familia	Género	Especie de virus
<i>Bunyaviridae</i>	<i>Tospovirus</i>	<i>Tomato spotted wilt virus</i> , TSWV
	<i>Tenuivirus</i>	<i>Papaya mild yellow leaf virus</i> , PMYLV
<i>Geminiviridae</i>	<i>Begomovirus</i>	<i>Papaya leaf curl virus</i> , PaLCuV <i>Papaya leaf crumple virus</i> , PaLCrV <i>Chilli leaf curl virus</i> , ChiLCuV <i>Tomato leaf curl New Delhi virus</i> , ToLCuNDV <i>Croton yellow vein mosaic virus</i> , CYVMV
<i>Potiviridae</i>	<i>Potyvirus</i>	<i>Papaya ring spot virus</i> , PRSV-P <i>Papaya leaf distortion mosaic virus</i> , PLDMV <i>Zucchini yellow mosaic virus</i> , ZYMV
<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Rhabdovirus</i>	<i>Papaya apical necrosis virus</i> , PANV <i>Papaya droopy necrosis virus</i> , PDNV
<i>Tombusviridae</i> ^a	<i>Carmovirus</i> ^a	<i>Papaya lethal yellowing virus</i> , PLYV
<i>Alphaflexiviridae</i>	<i>Potexvirus</i>	<i>Papaya mosaic virus</i> , PapMV
NE ^b	NE ^b	<i>Papaya meleira virus</i> , (PMeV ^c + PMeV-2 ^d)

^a Investigación molecular indica homología con la familia *Sobemoviridae* y el género *Sobemosvirus*.

^b No establecido. Caracterización molecular del genoma en progreso.

^c Tentativamente clasificado en el género *Totivirus*.

^d Tentativamente clasificado en el género *umbravirus*.

2.2.1 Virus de importancia económica que afectan el cultivo de papaya en el continente americano

En el continente americano, al igual que en México, son tres las enfermedades causadas por virus que limitan el volumen de producción de papaya y cuyos agentes etiológicos son: el virus de la mancha anular de la Papaya (PRSV-P), el virus del mosaico de la papaya (PapMV) y el virus meleira de la papaya, aislado brasileño o mexicano, (PMeV-2 o PMeV-Mx, respectivamente) (Noa-Carrazana et al., 2006; Zamudio-Moreno et al., 2015; Sa Antunes et al., 2020).

En México, el virus de mayor incidencia es PRSV-P, agente causal de la enfermedad de la mancha anular de papaya, una enfermedad cuyos síntomas principales son la aparición de manchas anilladas sobre frutos y hojas, manchas de apariencia aceitosas sobre peciolo,

deformación foliar, disminución en el desarrollo apical, defoliación y aborto floral. Las pérdidas económicas asociadas a esta enfermedad pueden llegar hasta el 80 % (Tripathi et al., 2008). Las coinfecciones de PRSV-P y PapMV no son inusuales y pueden generar un sinergismo sintomático, si las plantas se infectan de manera simultánea o primero con PRSV-P (Fig. 3.), lo que genera pérdidas económicas mayores (Chávez-Calvillo et al., 2016; Vargas-Mejía et al., 2020).

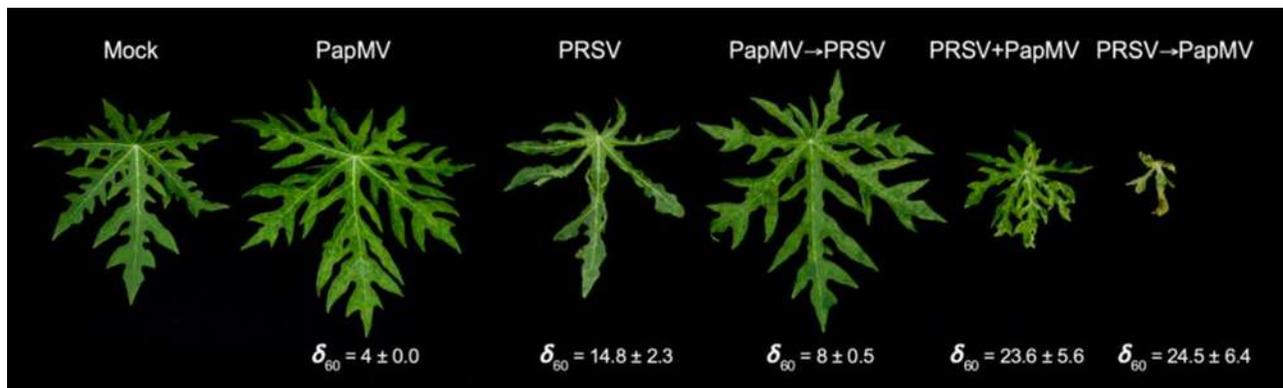


Fig. 3 Hojas de plantas de papaya inoculadas de forma simulada e infectadas con virus que muestran síntomas a los 60 días posteriores a la infección (dpi) con valores de daño (δ_{60}). Infecciones únicas de PapMV (virus del mosaico de la papaya), PRSV (virus de la mancha anular de la papaya), infección escalonada de PapMV→PRSV que produce antagonismo, infección escalonada de PRSV→PapMV y coinoculación de PRSV con PapMV que produce sinergismo (Vargas-Mejía et al., 2020).

El PapMV, causante de la enfermedad del mosaico de la papaya, presenta una distribución idéntica, pero con una incidencia menor a la de PRSV-P; sin embargo, ambos virus pueden ser transmitidos de manera muy eficiente por áfidos (Schaefer G.A., 1969; Noa-Carranza et al., 2006; Tripathi et al., 2008).

El virus meleira de la papaya (PMeV-Mx) es el agente causal de la enfermedad conocida como meleira en México y de acuerdo con el análisis de comparación de la secuencia nucleotídica que codifica la RdRp se le ha relacionado con los umbravirus (Sa Antunes et al., 2020).

2.2.2 Umbravirus

Los umbravirus son un género de que están clasificados como miembros de la familia Tombusviridae, basados en las similitudes de la región de su genoma que codifica la enzima RNA polimerasa dependiente de RNA (RdRp), y su característica distintiva es que, a diferencia de las partículas virales convencionales, su genoma no codifica proteínas de cápside. En la naturaleza, cada umbravirus se asocian con una especie específica de virus de la familia Luteoviridae, a la cual se le conoce como virus auxiliar, de la cual obtiene las proteínas de cápside (Ryabov & Taliansky, 2021).

Otra característica importante de los umbravirus es que su genoma presenta cuatro marcos de lectura abiertos, los cuales codifican una RdRp (ORF1-ORF2), una proteína de movimiento a larga distancia a través del floema (ORF3) y una proteína de movimiento célula a célula (ORF4). Los productos proteicos de los ORF3 y ORF4 en los umbravirus suplen parte de las funciones que se asocian a las proteínas de cápside en los virus de plantas; sin embargo, para la transmisión mediada por insectos vectores es necesaria la adquisición de cápside.

Los luteovirus son una familia de virus de plantas restringidos al floema que son transmitidos por áfidos, lo cual se da por interacciones específicas entre los insectos vectores y las proteínas de la cápside viral, por lo que al ser encapsidado el RNA de lo umbravirus con la cápside del virus auxiliar, también adquiere la capacidad de ser transmitido por sus vectores (Liu et al., 2021; Ryabov & Taliansky, 2021).

Los umbravirus y los virus de la familia Luteoviridae han desarrollado una relación mutualista, ya que, además del uso de la cápside por parte de los umbravirus para poder transmitirse de una planta a otra, lo luteovirus también se ven beneficiados al poder utilizar las proteínas de movimiento codificadas en el genoma de los umbravirus (Ryabov & Taliansky, 2021).

Recientemente se ha analizado otro tipo de virus similar a los umbravirus y se les ha llamado RNA's asociados de tipo umbravirus (ulaRNAs, por sus siglas en inglés) y su relación filogenética, al igual que con los tombusvirus, se ha establecido por comparación de las regiones que codifican la RdRp. Dentro de este grupo se encuentran el virus meleira de la Papaya, el virus Q de la papaya, el virus Q del babaco, el virus asociado a la vena amarilla de los cítricos y el virus A asociado a la fresa, entre otros (Liu et al., 2021).

2.3.3 RNA's asociados de tipo umbravirus

Los ulaRNAs son un grupo de virus que se ha relacionado entre ellos y con los umbravirus por las similitudes de la región que codifica sus RdRp; sin embargo, no han sido clasificados por el comité internacional de taxonomía de virus (Antunes et al., 2016; Cornejo-Franco et al., 2018; Liu et al., 2021).

Tanto los umbravirus como los ulaRNAs presentan similitudes importantes, por ejemplo: ambos grupos carecen de proteína de cápside y tienen un genoma de tipo RNA de una sola cadena, de sentido positivo, no presenta poliadenilación en el extremo 3' terminal y su genoma es de entre 4 y 5kb; sin embargo, a diferencia de los umbravirus, este grupo solo presenta dos marcos de lectura abiertos (ORF1 y ORF2) que codifican la RdRp. En el caso de meleira, no se ha reportado como virus auxiliar alguna especie de la familia Luteoviridae, algo que es característico de los umbravirus (Sa Antunes et al., 2020; Liu et al., 2021).

2.3 Meleira: origen y distribución

Meleira fue reportada por primera vez en 1980 en Brasil y ganó relevancia en la investigación con el aumento de la incidencia y distribución. Inicialmente se relacionaron los síntomas de meleira con deficiencia en la adquisición de boro y calcio causado por el estrés hídrico, debido a que los síntomas de ambas afecciones generan exudado espontáneo de látex (Nakagawa et al., 1987; Rodrigues, Ventura, & Marin, 1989).

México fue el segundo país que reportó la presencia de meleira. Las primeras observaciones de síntomas se realizaron en el estado de Quintana Roo, en la península de Yucatán, en el año 2008 (Perez-Brito, 2012). Para 2012, la distribución conocida de meleira en México comprendía siete estados productores: Campeche, Jalisco, Quintana Roo, Oaxaca, Tabasco, Veracruz y Yucatán (Perez-Brito, 2012). Para 2017, fue reportada la presencia en Chiapas, uno productor importante (Magaña-Álvarez, 2017). A pesar de que, en ese mismo año, la entonces Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SAGARPA), publicó un análisis del estado en el que se encontraba la industria agrícola y señalaba la necesidad de realizar un muestreo para determinar la dispersión de meleira a nivel nacional (SAGARPA, 2017), no se tiene información de dicha acción se haya llevado a cabo.

La dispersión de meleira en el mundo es cada vez mayor, en el año 2019, se reportó oficialmente la presencia de meleira en el estado de Queensland, Australia (Australian government, 2019) y, aunque meleira no ha sido oficialmente reportada en Colombia, existen secuencias nucleotídicas reportadas en el 2017 en la base de datos NCBI (National Center for Biotechnology Information), con las claves de acceso MG570380.1, MG570381.1 y MG570382.1, que corresponden a aislados de P_{MeV}-2 y que establecen que fueron obtenidas de muestras tomadas en ese país.

2.3.1 Sintomatología observada en plantas con meleira

Los síntomas que presentan las plantas afectadas por meleira en Brasil y México, incluyen similitudes importantes como son: exudado espontaneo de látex en frutos, látex con consistencia acuosa, coagulación deficiente y coloración más translúcida. En Brasil se han observado síntomas distintivos que consisten en manchas en frutos, denominadas mapeo, y necrosis de la punta de las hojas jóvenes. En México se han observado síntomas como exudado en peciolo y tallo, manchas en la pulpa de frutos inmaduros y acumulaciones de látex en la cavidad interna del fruto que llega a recubrir las semillas, principalmente en plantas infectadas por semillas de plantas enfermas (Fig. 4). La pérdida de calidad estética y de las características organolépticas esperadas se presentan en ambos países (Antunes et al., 2016; Maurastoni et al., 2020; Sa Antunes et al., 2020).

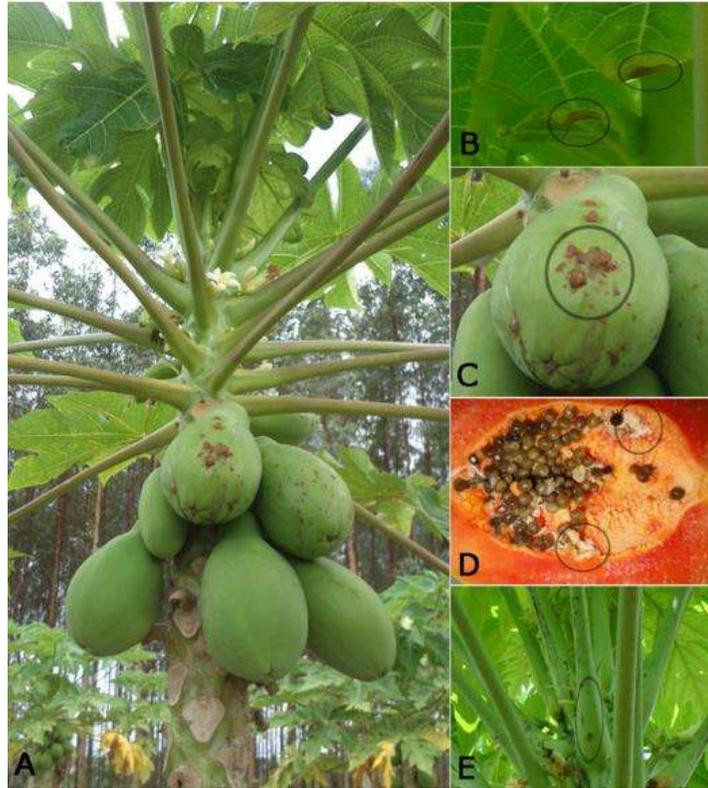


Fig. 4. Síntomas característicos de infección por PMeV en *C. papaya*.

Planta de papaya que muestra los síntomas de la enfermedad pegajosa (A). Las plantas exudan espontáneamente el látex, el cual se oxida después de la exposición atmosférica dando como resultado pequeñas lesiones necróticas en los bordes de las hojas jóvenes (B) y frutos con aspecto pegajoso (C). Además, las plantas enfermas en México muestran látex dentro de la cavidad del fruto (D) y manchas necróticas en los pecíolos (E). Los círculos negros resaltan los síntomas principales (Abreu et al., 2015).

Una característica relevante de esta enfermedad es que las plantas en la etapa previa a la floración pueden permanecer asintomáticas, causando que durante este periodo las plantas sean una fuente de inóculo silenciosa (Tavares et al., 2004), por lo que la determinación del virus en esta etapa es crucial para evitar la dispersión de la enfermedad y el incremento de las pérdidas económicas. La infección presenta distintos grados de severidad y pérdidas económicas generadas, las cuales se ven influenciadas por la etapa en la que se adquiere el virus, siendo más destructivo si se adquiere por transmisión vertical a través de semillas infectadas (Abreu et al., 2015).

2.3.2 Avances en la determinación del agente causal de meleira

Inicialmente se creía que los síntomas observados en plantas enfermas se debían a la deficiencia en la absorción de calcio y boro, derivado del estrés hídrico (Nakagawa et al., 1987); sin embargo, estudios realizados sobre el patrón de dispersión mostraron que el agente causal podía ser de origen biótico, además de que, al inocular plantas sanas con látex de plantas sintomáticas estas desarrollaban síntomas característicos 45 días después (Rodrigues, Ventura, & Maffia, 1989).

Mediante análisis de microscopía electrónica de transmisión se lograron observar partículas virales de aproximadamente 50 nm de diámetro en muestras de látex de plantas enfermas. Mediante la observación de un corte ultrafino hojas y tejido de frutos se observaron partículas similares a las observadas en el látex en los vasos laticíferos (Kitajima et al., 1993). Interesantemente, es el primer virus reportado afectando este tipo de células, ya que estas producen una gran cantidad de látex, un medio altamente hostil para microorganismos ya que está compuesto por una gran cantidad de enzimas proteolítica relacionadas con la defensa a patógenos (Kitajima et al., 1993).

La primera purificación del agente causal de meleira se realizó en los primeros años de la década del 2000 (Lima et al., 2001; Ventura et al., 2003) donde, además, se desarrollaron los primeros métodos de diagnóstico molecular basándose en la extracción, la posterior separación y observación del RNA en geles de agarosa (Tavares et al., 2004) (Fig. 5).

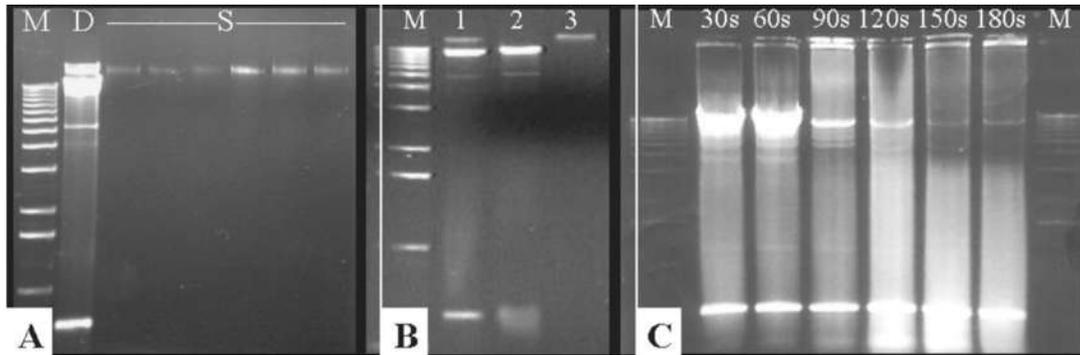


Fig. 5 Ácidos nucleicos extraídos a partir de látex de frutos de papaya (*C. papaya*) utilizando proteinasa K. A) (D, látex de planta infectada; S, látex de planta sana); B) Ácidos nucleicos extraídos a partir de látex de plantas enfermas que muestra la naturaleza de las bandas (1, látex sin tratamiento; 2, tratamiento con DNasa I; 3, tratamiento con RNasa A); C) Extracción de ácidos nucleicos utilizando la ebullición de látex de planta infectada en diferentes tiempos de incubación en segundos (s). M – Marcador de peso molecular de 1 kb de ADN (Tavares et al., 2004).

El análisis de los ácidos nucleicos, extraídos de muestras de látex de plantas enfermas, determinó la presencia de una banda de RNA de doble cadena de aproximadamente 12 kilobases (kb). La presencia de esta banda se estableció como un método diagnóstico para la enfermedad (Maciel-Zambolim et al., 2003; Tavares et al., 2004).

El primer análisis de Transcripción Reversa acoplada a Reacción en Cadena de la Polimerasa (RT-PCR) específico para detectar PMeV, se llevó a cabo mediante el diseño de iniciadores específicos dirigidos a una secuencia de 669 nucleótidos que mostraba cierto grado de similitud a la RdRp de los totivirus (Araújo et al., 2007).

El primer reporte de meleira fuera de Brasil se realizó en México, y aunque la sintomatología de la enfermedad presentaba similitudes importantes, el protocolo de detección del virus mediante RT-PCR, que había sido desarrollado para la detección de la enfermedad en Brasil, no fue capaz de amplificar la región esperada en las plantas sintomáticas en México (Perez-Brito, 2012; Zamudio-Moreno et al., 2015), por lo que se recurrió a la extracción de RNA total de plantas sintomáticas y su separación por electroforesis (Tavares et al., 2004). Mediante este protocolo se podía observar la presencia de la banda de 12 kb características de PMeV, por lo que la detección del virus se basó en este protocolo (Tavares et al., 2004; Perez-Brito, 2012). El aislado mexicano de meleira se

denominó PMeV-Mx.

Mediante la identificación de una nueva secuencia de 1,154 pb, reportada en la base de datos NCBI (con clave de acceso KF781635.), que codifican para una supuesta RdRp, fue posible desarrollar iniciadores específicos que amplificaban una región de 491 pb (Zamudio-Moreno et al., 2015). Un análisis de comparación de la secuencia parcial predicha de 384 aminoácidos de PMeV-Mx logró determinar que dicha secuencia era cercana filogenéticamente a las RdRp de los umbravirus (Zamudio-Moreno et al., 2015).

Mediante procedimientos de secuenciación profunda de muestras de látex de plantas con síntomas severos de meleira, colectadas en el estado de Espirito Santo, Brasil, se determinaron las secuencias de la banda de RNA de cadena doble y una segunda banda de RNA de cadena sencilla de aproximadamente 4.5 kb. Las secuencias se compararon mediante el algoritmo BLASTX. Los resultados indicaron que era posible separar las secuencias en dos grupos, cada una de las cuales mostraba identidad con diferentes secuencias de ARN viral conocidas. La banda de aproximadamente 12 kb se estableció como un RNA genómico cercano a los totivirus (PMeV) y la banda de aproximadamente 4.5 kb (PMeV-2) como RNA genómico cercano al virus Q y al aislado mexicano PMeV-Mx, ambos cercanos a los umbravirus (Antunes et al., 2016; Sa Antunes et al., 2020).

El análisis de plantas sintomáticas y asintomáticas, llevado a cabo en Brasil, determinó que todas las plantas sintomáticas presentaban coinfección PMeV-PMeV-2, mientras que en las que solo se logró determinar la presencia de PMeV permanecieron asintomáticas, lo que sugiere que el agente causal de la enfermedad es PMeV-2 y que PMeV es un virus auxiliar, una relación similar a la reportada para los umbravirus y los luteovirus (Antunes et al., 2016; Cornejo-Franco et al., 2018; Felker et al., 2019; Liu et al., 2021). A diferencia de PMeV-2, no ha sido posible determinar el virus auxiliar que pudiese estar implicado en la replicación y transmisión de PMeV-Mx (Sa Antunes et al., 2020).

2.4 Vías de dispersión de virus fitopatógenos

Los virus fitopatógenos son parásitos intracelulares obligados que necesitan la maquinaria celular para replicarse. La habilidad de propagarse por diversas vías de transmisión mejora la capacidad de un virus para propagarse de manera efectiva y sobrevivir cuando cambian las circunstancias. Los virus con un mayor número de vías de transmisión presentan una mayor rapidez y capacidad de dispersión, lo que resulta en una mayor capacidad de dispersión (Hamelin et al., 2016; Cobos et al., 2019; Pérez-Padilla et al., 2020; Montes et al., 2021). Los virus fitopatógenos se diseminan a través de dos vías de transmisión: vertical y horizontal (Hull, 2002).

2.4.1 Transmisión vertical

La transmisión vertical de virus de plantas es la vía por la cual los virus se transmiten de una planta enferma a sus semillas y posteriormente a su descendencia. La transmisión vertical también puede darse como resultado de la polinización de una planta sana con partículas de polen de una planta enferma (Tapia-Tussell et al., 2015; Hamelin et al., 2016; Cobos et al., 2019).

2.4.1.1 Transmisión mediada por semillas

La transmisión vertical a través de semillas es un mecanismo que se encuentra presente en al menos el 25% de los virus de plantas y, dado el comercio y almacenamiento mundial de semillas, esta vía ayuda a la transmisión de virus en largas distancias, permitiéndole llegar a regiones donde antes no se encontraba presente. A pesar de la relevancia de este proceso para la epidemiología del virus y la dispersión de estas enfermedades, los mecanismos por los que se da esta transmisión no son bien entendidos (Cobos et al., 2019 ; Bradamante et al., 2021).

2.4.1.2 Transmisión mediada por polen

La transmisión mediada por polen es una vía de transmisión de fitopatógenos que presenta características interesantes, ya que puede ser un mecanismo de transmisión tanto vertical: el virus ingresa a las partículas de polen a través de la invasión de las células madre, los óvulos que poliniza, las semillas producto de esa polinización y como resultado final, la siguiente generación de plantas (Maule & Wang, 1996; Cobos et al., 2019), como horizontal: el virus infectan nuevas plantas huésped desde los granos de polen que transportan el virus hasta el tejido de la planta madre después de la polinización (Isogai et al., 2022).

El hecho de que las partículas virales puedan ingresar a los granos de polen o llevar a cabo la replicación en estos, no significa que haya una transmisión por esta vía. De la misma manera, la transmisión vertical de polen no implica necesariamente la transmisión horizontal o viceversa, por lo que cada una de estas vías debe ser analizada por separado (Card et al., 2007).

2.4.2 Transmisión horizontal

La transmisión horizontal de virus es la vía de diseminación que permite que un virus pase de una planta infectada a una planta sana. Este tipo de transmisión es principalmente mediada por insectos vectores, aunque también se puede dar por inoculación mecánica o por polen, entre otras (Jones, 2018; Cobos et al., 2019; Isogai et al., 2022).

2.4.2.1 Transmisión mecánica

La transmisión mecánica de virus es una vía de dispersión poco frecuente que consiste en la introducción de partícula virales o RNA viral infectivo dentro una planta a través de heridas superficiales. Estas heridas pueden ser debidas a la fricción entre hojas de plantas cercanas, provocadas por aves o como sucede más a menudo en plantas cultivadas, por inoculación accidental dada por herramientas contaminadas con tejido vegetal de

plantas enfermas. La transmisión mecánica ocurre entre especies de virus altamente estables y en plantas con una alta carga viral, es decir, una gran cantidad de partículas virales en los tejidos (Hull, 2002).

2.4.2.2 Transmisión por vectores

La transmisión de virus mediada por insectos vectores es la principal vía de disseminación. Actualmente se sabe que más del 90% de los virus fitopatógenos son transmitidos por insectos vectores específicos y la mayoría de ellos, del orden Hemíptera (Cambra & Vidal, 2017; Huang et al., 2022; W. Wu et al., 2022). Los insectos transmiten virus de plantas a través de tres mecanismos principales: persistente, no persistente y semipersistente. Las diferencias entre estos mecanismos están dadas por el lugar en el que se albergan las partículas virales en el cuerpo del insecto y el periodo de tiempo en el que el vector puede transmitir dichas partículas (Shi et al., 2021). Los distintos mecanismos de transmisión son el resultado de las interacciones específicas entre una especie dada de virus con una especie dada de insecto vector, estas interacciones se dan principalmente entre las proteínas de cápside y sitios de retención específicos en los insectos (Zhou et al., 2018).

Estudios en interacción planta-vector-virus han reportado que los virus han desarrollado múltiples estrategias para manipular las defensas de la planta huésped, con la finalidad de eficientizar el proceso de transmisión del virus y, en algunos casos, promover el incremento de la población del insecto vector (X. Wu & Ye, 2020; Shi et al., 2021).

2.4.2.2.1 Vectores persistentes

Se denomina vector persistente al insecto que adquiere un virus por ingestión de tejidos de una planta enferma, estas partículas virales ingresan al aparato digestivo y posteriormente la hemolinfa, todo esto durante un periodo de latencia y, una vez las partículas virales alcanzan el sistema circulatorio e ingresan a las glándulas salivales, se vuelven transmisores activos pudiendo permanecer en esta condición de manera prolongada (Shi et al., 2021). Los vectores persistentes pueden ser propagativos: cuando el virus puede

replicarse en el insecto y puede ser transmitido a su descendencia, o circulativos: cuando no se da la replicación viral en el vector y no puede ser transmitido a la descendencia (Hogenhout et al., 2008).

Las plantas infectadas con virus emiten volátiles que funcionan como atrayentes de insectos vectores y dependiendo del tipo de transmisión pueden regular la respuesta de las plantas, de esta manera, los virus inducen una disminución en las defensas de las plantas para que los insectos con transmisión persistente puedan alimentarse por largos periodos de tiempo (Shi et al., 2021).

2.4.2.2 Vectores no persistentes

Se denomina vector no persistente al insecto que tiene la capacidad de adquirir y transmitir el virus por un periodo de tiempo muy corto, por lo general de minutos u horas. Esto se debe a que las partículas virales no ingresan al insecto, únicamente interaccionan con receptores presentes en el aparato bucal, en su porción distal. Los vectores no persistentes por lo general son áfidos y la respuesta inducida por el virus en la planta activa las defensas de esta para que la transmisión del patógeno se de en un corto periodo de tiempo (Shi et al., 2021).

2.4.2.3 Vectores semipersistentes

Se denomina vector semipersistente al insecto que puede transmitir el virus por un periodo de tiempo intermedio, de días a semanas, y que tiene la capacidad de transportar las partículas virales a los intestinos anteriores o a las glándulas salivales, pero que estas no pueden propagarse de los intestinos a las glándulas salivales o ingresar a la hemolinfa. En el modo semipersistente, las infecciones virales frecuentemente suprimen las respuestas de defensa de las plantas, lo que resulta en un aumento de la población de vectores y facilita las transmisiones virales durante los brotes de vectores. Este tipo de interacciones las realizan por lo general áfidos, mosquitas blancas y chicharritas (Shi et al., 2021).

2.5 Hemípteros: insectos de importancia agrícola

Los hemípteros constituyen el grupo más diverso de todos los insectos con metamorfosis incompleta (“hemimetábolos”). Destacan porque son capaces de habitar en todos los climas y ocupar la mayoría de los hábitats terrestres y de agua dulce; además, es el único orden de insectos que incluye especies verdaderamente marinas: los zapateros o chinches de agua (Halobates). El término Hemíptera hace referencia a que la parte basal de las alas anteriores es más gruesa que la distal, que es membranosa (hemiélitros), carácter solo observable en las chinches. No obstante, la característica que los distingue como grupo monofilético es el hecho de poseer piezas bucales modificadas que pueden servir para perforar y succionar savia de las plantas (fitófagos), chupar sangre de animales (hematófagos), alimentarse de hongos o de otros insectos (predadores).

Los hemípteros se diversificaron ampliamente en el cretácico, coincidiendo con la diversificación de las angiospermas. Sus estructuras bucales son, sin duda, la causa del éxito alcanzado, por permitirles aprovechar el alimento que las plantas ofrecían, aunque es probable que otras adaptaciones, como la asociación con microorganismos (endosimbiosis), también hayan contribuido a su gran diversificación. En la reconstrucción de su historia evolutiva, tradicionalmente se han utilizado datos morfológicos y paleontológicos; sin embargo, en muchos casos estos datos no han permitido obtener filogenias de consenso. En los últimos años, los marcadores moleculares han ayudado a precisar la filogenia del grupo y resolver cuestiones que hasta hace poco eran objeto de debate (Aguin-Pombo y Bourgoïn, 2012).

Los hemípteros se caracterizan por tener piezas bucales transformadas en un aparato picador-succionador compuesto por un labio de uno a cuatro segmentos en forma de vaina que envuelve las mandíbulas, y maxilas modificadas en un par de canales, uno anterior alimentario y otro posterior o salival con sus bases localizadas en el interior de la cápsula cefálica (Aguin-Pombo y Bourgoïn, 2012), al cual se le ha relacionado con el éxito en la colonización de las plantas (Pombo D., 2012).

Este orden de insectos se encuentra comprendido por más de 80,000 especies pertenecientes a 153 familias, algunas de ellas con distribución mundial. Dentro de los hemípteros se agrupan pulgones, moscas blancas, cochinillas, psílidos, fulgoroideos, cigarras, cercópidos, chinches, membrácidos y cicadélidos.

La familia más grande de este orden es Cicadellidae, la cual cuenta con un gran número de especies que pueden ser vectores de bacterias, virus y fitoplasmas de importancia en la agricultura a nivel mundial (Pérez et al., 2010; Pombo D., 2012; Chen et al., 2016; García-Cámara et al., 2019).

Para la identificación de estos insectos se ha recurrido a los estudios moleculares basados en el análisis de las secuencias del DNA nuclear y mitocondrial (mtDNA), solos o en conjunto, dependiendo de si las relaciones a establecer son entre táxones próximos o lejanos. Entre los marcadores moleculares más utilizados están los genes nucleares ribosómicos (28S, 18S y 5S), que tienen importantes atributos útiles para este tipo de estudios: son universales, fáciles de obtener y con un número de copias elevado. Además, como las tasas globales de sustitución de las bases son relativamente bajas, son muy adecuados para establecer relaciones entre linajes lejanos. En especial, la subunidad pequeña del RNA ribosómico (18S) ha sido muy útil para inferir relaciones filogenéticas de eventos evolutivos relativamente antiguos (>100 millones de años) de los linajes principales de hemípteros. A pesar de ser genes conservados, hay ciertas regiones que muestran tiempos de sustitución variables, por lo que también pueden ser útiles para resolver las filiaciones de taxones estrechamente relacionados que hayan divergido en una época reciente (<10 millones de años). De esta forma, las tasas evolutivas heterogéneas pueden utilizarse para reconstruir las relaciones a varios niveles taxonómicos (Aguin-Pombo y Bourgoïn, 2012).

2.6 Cicadellidae

Los cicadélidos son una familia del orden Hemiptera que cuenta con más de 23, 000 especies descritas y se considera de distribución mundial, exceptuando los cascos polares.

Uno de los géneros de mayor importancia económica es *Empoasca*, ya que cuenta con especies relacionadas con la transmisión de fitopatógenos importantes para cultivos como uva, algodón, cítricos, té, entre otros (Baspinar et al., 2012; Pombo et al., 2012).

Los daños generados por las chicharritas del género *Empoasca* pueden ser directos: los cuales son el resultado de la alimentación de un gran número de individuos y la respuesta inmune de la planta, e indirectos: los cuales se deben a la capacidad de transmisión de fitopatógenos como hongos, bacterias, fitoplasmas y virus (Sánchez et al., 2016).

Los mecanismos implicados en la transmisión de fitopatógenos por los cicadélidos son ampliamente estudiados y en recientes investigaciones se han utilizado como modelos de estudio de estos mecanismo al cicadélido *Graphocephala atropunctata* y al fitopatógeno bacteriano *Xylella fastidiosa* (Marcus et al., 2022). Aunque existen una gran cantidad de cicadélidos capaces de alimentarse de plantas infectadas con *X. fastidiosa*, son pocas las especies que son capaces de adquirir el patógeno y, menos aún, las que son capaces de transmitirlo, y esto se debe a interacciones específicas vector-patógeno, por lo que la determinación de las interacciones ayudaría comprender dichas interacciones y las posibles relaciones en otras enfermedades transmitidas por cicadélidos (Marcus et al., 2022).

2.7 Características del género *Empoasca*

Este género pertenece a la familia Cicadellidae, subfamilia Typhlocybae y la tribu Empoascini. Durante mucho tiempo en género *Empoasca* ha sido un vertedero taxonómico para muchas especies de su tribu, en su mayoría pequeñas, de color verde pálido, indistintamente marcadas, que carecen de los rasgos morfológicos distintivos utilizados para definir otros géneros (Xu et al., 2021).

El género *Empoasca* es el más grande de la familia. La identificación de especies de este género se realiza principalmente basándose en claves taxonómicas, debido a la existencia de caracteres externos muy similares entre las especies. El Edeago, aparato reproductor masculino, parece ser el órgano más viable para ser utilizado para el análisis

taxonómico. En los últimos años ha cobrado relevancia el uso de claves taxonómicas a la par de secuenciación y comparación de genes, principalmente el gen COI, para realizar identificaciones más precisas de especies de este género (Ross & Cunningham, 1960; Arroyo P. et al., 2015).

La única especie de insecto que se considera plaga de papaya y que está reportada como vector de meleira en México es *Empoasca papayae* (García-Cámara et al., 2019); sin embargo, no existen reportes que determinen su presencia en el estado de Michoacán.

3. Justificación

México es el principal exportador de papaya a nivel mundial, por lo que las enfermedades que generan una disminución en la calidad y cantidad de fruto producido son de especial preocupación en el sector agrícola. Las enfermedades causadas por virus son la mayor limitante en la producción de papaya en México y la de más reciente detección en el país es la causada por el virus meleira de la papaya, la cual puede generar pérdidas económicas de hasta el 100% en los cultivos comerciales. Una característica importante de la enfermedades causadas por virus es que no se pueden controlar una vez que han infectado a las plantas, por lo tanto, es de suma importancia lograr un manejo adecuado de los insectos vectores. Para ello, la identificación correcta de los mismos es relevante toda vez que se debe conocer su capacidad de transmisión.

El único vector conocido de meleira es el cicadélido *E. papayae*; sin embargo, este insecto no ha sido reportado como plaga de papaya en el estado de Michoacán, por lo que es relevante determinar cuál es la especie de cicadélido predominante en la región y si es capaz de transmitir el virus a las plántulas de papaya.

4. Hipótesis

La especie predominante del género *Empoasca*, presente en cultivos de papaya sintomáticos en el Valle de Apatzingán, puede transmitir el virus meleira de la papaya (PMeV-Mx) a plántulas de papaya.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Identificar la especie predominante del género *Empoasca* presente en cultivos de papaya con síntomas de meleira en la región del Valle de Apatzingán y determinar su capacidad para adquirir y transmitir el virus meleira de la papaya a plántulas de papaya.

5.2 Objetivos específicos

1. Determinar la presencia del virus meleira de la papaya (PMeV-Mx) en el Valle de Apatzingán
2. Identificar la especie predominante del género *Empoasca* presente en huertos sintomáticos del Valle de Apatzingán.
3. Determinar la presencia del virus meleira de la papaya en la especie predominante del género *Empoasca* presente en huertos sintomáticos en el Valle de Apatzingán.
4. Determinar la capacidad de transmisión del virus meleira de la papaya por la especie predominante del género *Empoasca* presente en huertos sintomáticos en el Valle de Apatzingán a plántulas de papaya.

6. Materiales y métodos

6.1 Detección del virus meleira de la papaya en el Valle de Apatzingán

6.1.1 Muestreo

Para la determinación de la presencia del virus meleira de la papaya en el estado de Michoacán, México, se realizaron visitas de campo a huertos de papaya en el Valle de Apatzingán. Los muestreos se realizaron en dos huertos, uno localizado en la comunidad de El Tescalame (19°31'19.0"N, 102°62'19.3"W), en el municipio de Buenavista, y el otro, localizado en la comunidad de El Ceñidor (18°99'67.3"N, 102°19'39.9"W), en el municipio de Parácuaro.

Los huertos de papaya muestreados estuvieron plantados con dos variedades distintas; El huerto de El Tescalame, con la variedad Maradol. El manejo agronómico de la plantación fue descrito por el productor como “convencional”, basado en la aplicación de fertilizantes minerales e insecticidas sintéticos, uso de maquinaria y la comercialización en el mercado nacional. Por otro lado, el huerto de El Ceñidor estuvo plantado con papaya de la variedad Intenzza, con un manejo agronómico “orgánico”, basado en la aplicación de fertilizantes orgánicos e insecticidas biorracionales y comercializado en el mercado internacional (exportación).

El primer muestreo se realizó en julio de 2021, en la comunidad de El Tescalame, las muestras de látex se obtuvieron de frutos inmaduros de más de 15 cm de longitud que exhibían síntomas intensos. Para la obtención de las muestras se realizaron cortes longitudinales con una profundidad no mayor a 0.5 cm, los cortes se realizaron con un bisturí quirúrgico estéril. El látex se colectó en tubos de vidrio estériles con tapa de rosca, 10mL por muestra aproximadamente. Se realizó un segundo muestreo en septiembre de 2021, donde se obtuvieron por duplicado muestras de látex de dos plantas sintomáticas de

El Ceñidor (Fig. 6). Las muestras obtenidas se trasladaron al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo donde se almacenaron a -20°C hasta procesamiento.



Fig. 6 Obtención de muestras de látex de frutos sintomáticos. El látex se colectó en tubos de vidrio estériles con tapa de rosca.

6.1.2 Extracción de RNA total

Las muestras de látex, obtenidas de plantas sintomáticas de El Ceñidor, se prepararon para la extracción de RNA total, para lo cual, se utilizó el buffer de extracción TriPure Isolation Reagent (Roche) siguiendo las especificaciones del fabricante. La calidad y cantidad de RNA extraído se analizó en un espectrofotómetro Nanodrop 2000 (ThermoScientific) y su integridad se corroboró en gel de agarosa al 1.5% (p/v) con buffer Tris base-Ácido acético-EDTA (TAE)1X, teñido con bromuro de etidio. Las imágenes de los gels se obtuvieron en fotodocumentador (Biorad).

6.1.3 Síntesis de cDNA (Transcripción reversa)

Para la síntesis de cDNA se utilizaron 200ng de RNA total como molde y el kit SuperScript™ First-Strand (Invitrogen) siguiendo las concentraciones y el procedimiento sugeridos por el fabricante. Como iniciadores se utilizaron los hexámeros aleatorios provistos en el kit.

6.1.4 Reacción en Cadena de la Polimerasa

Para realizar la PCR se utilizaron 2 µL de cDNA, el kit PCR Master Mix, 2X (Promega) siguiendo las especificaciones del fabricante y los iniciadores propuestos por SENASICA (2017) (PMeV-RP-F1: 5' GACGTTTTTCGAGCGCATCTC 3'; PMeV-RP-R1: 5' GCCAACTGGTCATCCGGTAA 3') que amplifican un segmento de 371 pb del gen que codifica la RdRp de PMeV-Mx.

Como control endógeno se utilizaron los iniciadores dirigidos al RNA ribosomal 18S (END-18S-Fw: 5'ACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATG3' y END-18S-Rv: 5' GTGTGTACAAAGGGCAGGGACGTA 3') los cuales fueron diseñados utilizando la herramienta PrimerQuest y utilizando como templado las secuencias del gen 18S de *Empoasca vitis* y *C. papaya* reportadas en la base de datos NCBI (National Center for Biotechnology Information) con las clave de acceso KM215144.1 y U42514.1 respectivamente. Los iniciadores propuestos fueron validados mediante el algoritmo Primer-BLAST, provisto en el NCBI.

El programa de termociclado fue el siguiente: 3 minutos de desnaturalización a 94°C, seguidos de 35 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 59°C, 30 segundos a 72°C y una extensión final de 5 minutos a 72°C.

Los productos de PCR obtenidos se separaron por electroforesis a 100 volts por 45 minutos en gel de agarosa al 1.5 % (p/v) con buffer TAE 1X, teñido con bromuro de etidio.

Se utilizó el marcador de peso molecular 100 bp DNA Leadder (GeneCraft®, Germany) y las imágenes de los geles se obtuvieron por fotodocumentador (Gel Doc, Biorad). Estas muestras fueron utilizadas como control positivo en los sucesivos análisis.

6.2 Determinación de la especie predominante del género *Empoasca* presente en huertos sintomáticos muestreados

Para la determinación de la especie predominante, se realizaron colectas de chicharritas en los huertos de El Tescalame y El Ceñidor. Los muestreos se realizaron de octubre de 2020 a marzo de 2022. Para la colecta de especímenes se utilizaron redes entomológicas y succionadores bucales (Fig. 7). Se realizaron diversos redeos al azar en la plantación de papaya, principalmente se colectó sobre la sección media y alta del follaje, donde se encuentran los brotes más tiernos de la planta. Los insectos colectados por redeo se depositaron en un recipiente de plástico de 1 L de capacidad, posteriormente se realizó una separación con ayuda de un succionador bucal, de acuerdo con las características macroscópicas, únicamente los que presentaron características similares a las descritas para el género *Empoasca* se conservaron en alcohol al 96%. Las muestras colectadas se enviaron a la especialista en cicadélidos MC. Edith Blanco Rodríguez del Colegio de Postgraduados para la determinación taxonómica correspondiente.



Fig. 7 Colecta de insectos con red entomológica sobre plantas de papaya.

Adicionalmente, se obtuvo una muestra de chicharritas separadas y seleccionadas de acuerdo con características similares en tamaño, forma, color y estadio de desarrollo. Esta muestra se envió a la empresa MACROGEN (EE.UU.), para la extracción del material genético y la secuenciación del gen COI, un gen ampliamente utilizado para la determinación de especies.

La secuenciación se realizó por el método Sanger y la secuencia obtenida se comparó con las secuencias reportadas en la base de datos GeneBank. Para la construcción del árbol filogenético, se seleccionaron secuencias reportadas, de este gen; entre ellas las especies del género *Empoasca*, la tribu Empoascini y la subfamilia Typhlocybinae. Como grupo externo, se utilizó una secuencia reportada de la subfamilia Deltocephalinae y otra de la subfamilia Aphrodinae; ambas, pertenecientes a la familia Cicadellidae. El árbol filogenético se construyó con el programa Mega X.

6.3 Determinación de la adquisición de PMeV-Mx por la especie predominante del género *Empoasca* presente en huertos sintomáticos de la región del Valle de Apatzingán

6.3.1 Colecta de ejemplares

Para la realización de este ensayo, se colectaron chicharritas con las características descritas para el género *Empoasca* (Fig. 8) en plantas sintomáticas en el huerto de El Ceñidor, del cual se habían tomado las muestras utilizadas como control positivo. Los insectos se colectaron de la parte media y alta del follaje de plantas con frutos con síntomas intensos. Los muestreos se realizaron con ayuda de un succionador bucal. Los ejemplares colectados, aproximadamente 20 insectos por muestra, se transfirieron a frascos de vidrio con cierre hermético con alcohol al 70% y se trasladaron al Instituto de Investigaciones Químico Biológicas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo para la determinación de la presencia o ausencia de PMeV-Mx.



Fig. 8 Chicharritas sobre el follaje de plantas de papaya (indicadas con un círculos rojos).

6.3.2 Determinación de la presencia de PMeV-Mx en la especie predominante del género *Empoasca*

Los ejemplares colectados se analizaron para determinar la presencia o ausencia de

PMeV-Mx, para ello, se siguió la metodología descrita a continuación: se extrajo el RNA total de cuatro muestras, cada muestra constó de 20 ejemplares sin sexar. Para la extracción de RNA total se utilizó el buffer de extracción TriPure Isolation Reagent (Roche) siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante. La transcripción reversa se realizó de acuerdo con el procedimiento del kit SuperScript™ First-Strand (Invitrogen) y la PCR se realizó de acuerdo con el procedimiento del kit PCR Master Mix, 2X (Promega) siguiendo las especificaciones del fabricante. Se utilizaron los iniciadores propuestos por SENASICA (2017), que amplifican una región de 371 pb, y los propuestos por García-Cámara et al. (2018) (PMeVF: 5' CGCAAACTAAGACGAGATTCAG 3'; PMeVR: 5' TGTATGACTGTGGGCTGGTTA 3') que amplifican una región de 86 pb, dentro del amplicón de 371 pb.

Los productos de PCR obtenidos se separaron por electroforesis en gel de agarosa al 1.5% (p/v) con buffer TAE 1X, teñido con bromuro de etidio y las imágenes de los geles se obtuvieron por fotodocumentador (Gel Doc, Biorad). Se utilizó el marcador de peso molecular 100 bp DNA Ladder (GeneCraft®, Germany).

6.4 Ensayo de transmisión de PMeV-Mx por la especie predominante de *Empoasca* sp. a plántulas de papaya

Para determinar la posible transmisión de PMeV-Mx por la especie predominante de *Empoasca* sp., se requirieron 10 plántulas de papaya, de menos de un mes de germinadas, de la variedad Maradol. Dichas plantas se adquirieron en un vivero comercial en el municipio de Buenavista, Michoacán. Se mantuvieron durante 20 días en condiciones de laboratorio, durante este tiempo no mostraron síntomas evidentes de meleira.

Se colectaron de 100 a 200 mg de tejido foliar de cada una de las plántulas, el tejido se colocó en tubos para centrifuga estériles de 0.6 mL, se congelaron con nitrógeno líquido y se llevaron a ultracongelador (Thermo Scientific Revco® ExF) a -80°C hasta la extracción del RNA total. Las muestras se analizaron mediante RT-PCR con el uso de los iniciadores propuestos por SENASICA (2017) y como control endógeno, se analizó la presencia del gen ARNr 18S mediante los iniciadores END-18S-Fw y END-18S-Rv.

Una vez que se realizó la colecta de tejido vegetal, las plántulas se colocaron en jaulas, una plántula por jaula, que consistían en un frasco de plástico de aproximadamente tres litros de capacidad, con orificios en la periferia, acondicionado con tela de organza para facilitar la ventilación. Las jaulas se dividieron en dos grupos, cada uno de cinco plántulas: en el primer grupo se colocaron las plántulas en ausencia de insectos y en el segundo se colocaron las plántulas con por lo menos 15 ejemplares adultos de la especie predominante de *Empoasca* sp. colectados directamente de plantas sintomáticas.

Las plántulas se mantuvieron en laboratorio, con un riego diario y aplicación de fertilizante “Bayfolan” en una dosis aplicada según la recomendación del fabricante. Los insectos se monitorearon durante 20 días para garantizar su presencia en el follaje de la planta, pasado este tiempo, se tomaron muestras de hojas y peciolo de cada una de las plántulas de ambos grupos (de 100 a 200 mg por plántula). Las muestras se analizaron por RT-PCR para determinar la presencia o ausencia de PMeV-Mx.

7. Resultados

7.1 Identificación de plantas de papaya con sintomatología sugestiva de meleira en el Valle de Apatzingán

Después de realizar un recorrido aleatorio en los huertos de papaya, se localizaron plantas en dos huertos en etapa de producción con los siguientes síntomas: exudado

espontáneo de látex en frutos, peciolos y tallo de las variedades Maradol (Buenavista) e Intenza (Parácuaro). El látex exudado presentó una consistencia más acuosa que los frutos asintomáticos y se tornó de un color café oscuro a la exposición atmosférica, dando una apariencia pegajosa a los frutos (Fig. 9). Estos síntomas corresponden con los reportados para meleira.

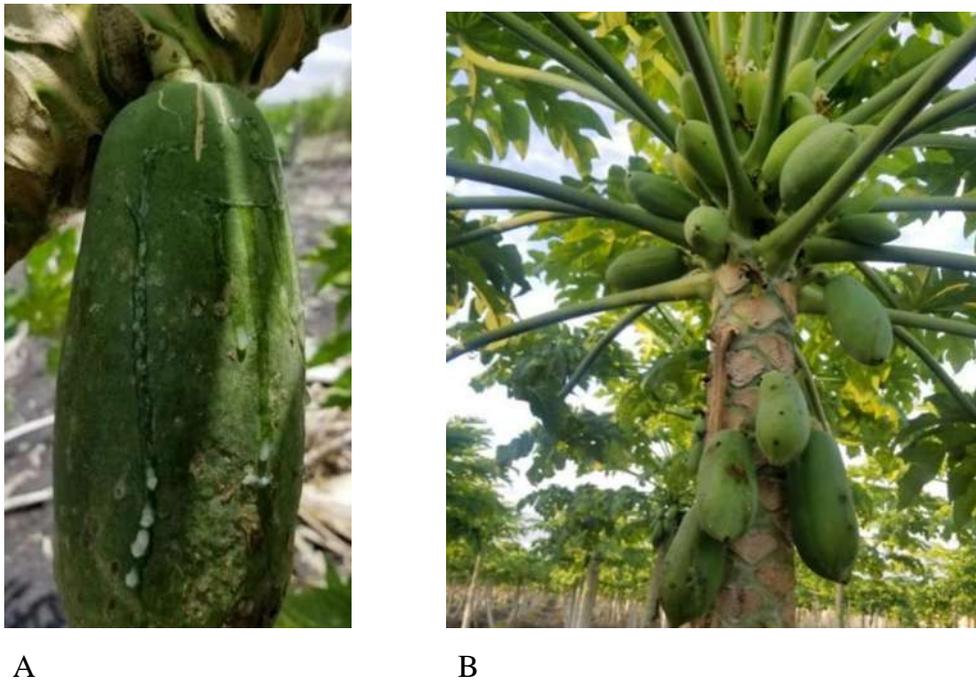


Fig. 9 Plantas de papaya sintomáticas de huertos comerciales en el Valle de Apatzingán, Michoacán.

A) Fruto de papaya de la variedad Maradol con látex acuoso, coagulación anormal y deformación del fruto. B) Planta de papaya de la variedad Intenza con exudado espontáneo de látex y coloración marrón característica de la oxidación por exposición atmosférica.

7.2 Presencia de PMeV-Mx en cultivos de las variedades Maradol e Intenza

Para confirmar la presencia de PMeV-Mx en las muestras de látex de frutos de la huerta de El Ceñidor y El Tescalame, las muestras se analizaron mediante la técnica de RT-PCR punto final; se observó la presencia de una banda de aproximadamente 371 pb (Fig. 10), que corresponde con las bandas esperadas de acuerdo con el protocolo de detección de meleira de SENASICA (2017), indicando la presencia de PMeV-Mx en huertos de papaya del Valle de Apatzingán, Michoacán.

Estos resultados se corroboraron por el laboratorio GeMBio del Centro de Investigación Científica de Yucatán, el cual es el centro que realizó el primer reporte de esta enfermedad en México.

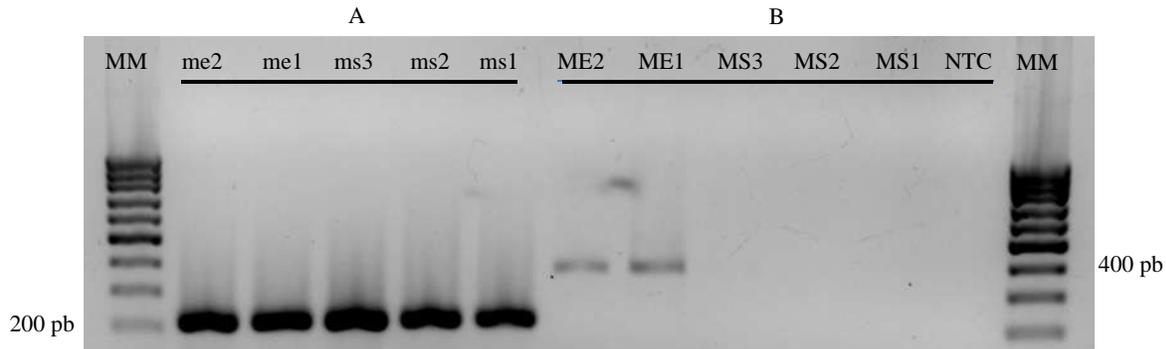


Fig. 10 Análisis de presencia de PMeV-Mx en muestras sintomáticas y asintomáticas del Valle de Apatzingán. **A)** Detección por RT-PCR del gen ARNr 18S en las muestras: carriles ms1-me2. **B)** Detección por RT-PCR de PMeV-Mx en plantas sintomáticas: carriles ME1-ME2, plantas asintomáticas: carriles MS1-MS3, Control negativo: carril NTC. Escalera de ADN de 100 pb: carriles MM

7.3 Identificación de *Empoasca laceiba* como la especie predominante en los huertos sintomáticos muestreados del Valle de Apatzingán, Michoacán

De acuerdo con la determinación taxonómica, obtenida por la especialista en cicadélidos, se sugiere la presencia de dos especies: *E. dilitara* y *E. laceiba*. La primera especie se encontró en los muestreos realizados en el municipio de Buenavista y la segunda se identificó en ambos huertos; siendo *E. laceiba* la única especie presente en los muestreos realizados en Parácuaro. En la Fig. 11, se muestran las características distintivas de estas especies, donde se aprecia la similitud del Edeago entre las características descritas por Ross & Cunningham (1960), y las descritas por la M.C. Edith Blanco Rodríguez, para la especie *E. laceiba*.

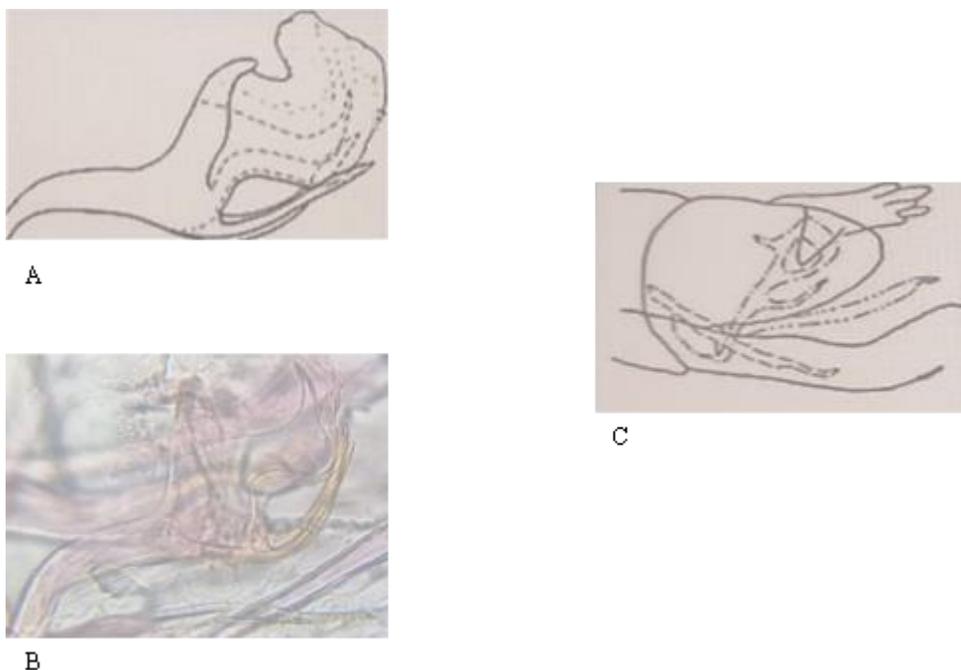


Fig. 11 Análisis taxonómico de chicharritas del género *Empoasca* basado la morfología del aparato reproductor de los machos (Edeago). **A)** Morfología del Edeago de la especie *E. laceiba* de acuerdo con lo reportado por Ross & Cunningham (1960). **B)** Morfología del Edeago observada en los especímenes de *E. laceiba* colectados en el Valle de Apatzingán. **C)** Morfología del Edeago reportado para *E. dilitara* por DeLong & Davidson (1935).

Adicional a la determinación taxonómica, la identificación molecular derivada de la secuenciación del gen CO1 de *E. laceiba* se obtuvo una secuencia de nucleótidos de 685 pares de bases de DNA, la cual se publicó en la base de datos GeneBank con la clave de acceso ON255876.1 (Anexo 1). El análisis de la secuencia mediante el algoritmo BLAST provisto por la base de datos GeneBank, determinó que la secuencia más cercana fue la reportada con la clave de acceso MN253095.1, la cual presentó un porcentaje de cobertura del 92% y un porcentaje de identidad del 96.05%.

Basados en el árbol filogenético obtenido, se determinó que la especie pertenece al género *Empoasca*, confirmando los resultados obtenidos por el análisis taxonómico que establecen que la especie muestreada pertenece a dicho género (Fig. 12).

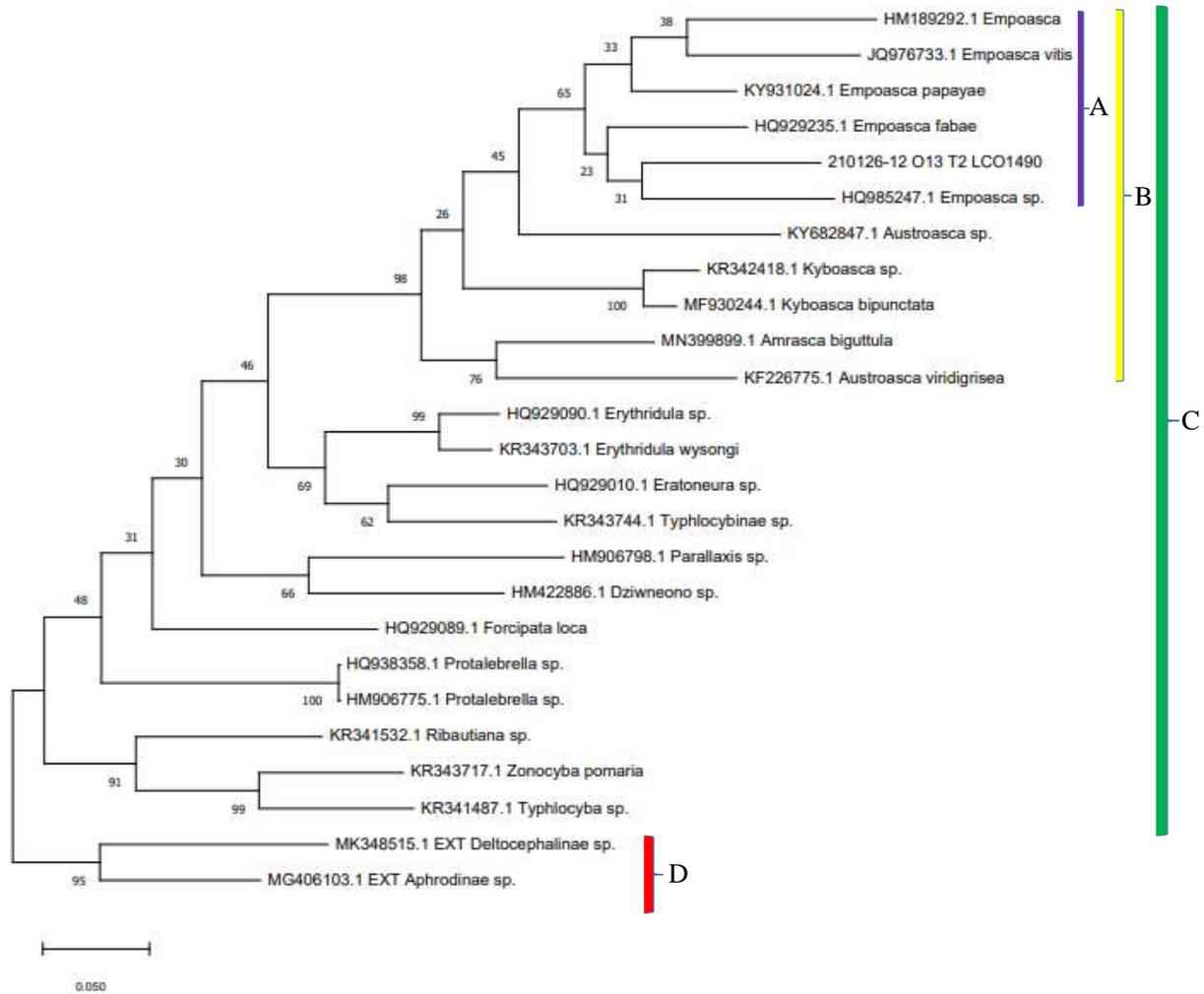


Fig. 12 Árbol filogenético desarrollado en base al gen COI de *E. laceiba* (210126-12 O13 T2 LCO1490).
A. Especies del género *Empoasca*. **B.** Tribu Empoascini. **C.** Subfamilia Typhlocybinae. **D.** Grupo externo

7.4 *Empoasca laceiba* tiene la capacidad de adquirir PMeV-Mx en condiciones de campo

De acuerdo con el análisis de RT-PCR de punto final, se logró determinar la presencia de las bandas esperadas que determinan la presencia de meleira en ambas muestras de cicadélidos y se corresponden con las bandas observadas en el control positivo. Los controles de carga, que amplifican una región del gen 18S, presentan la banda esperada, por lo que se asume que el procedimiento se realizó sobre muestras que contenían ARN

íntegro y de buena calidad. Basado en lo anterior, se sugiere la capacidad de adquisición de PMeV-Mx por parte de *E. laceiba* (Fig. 13)

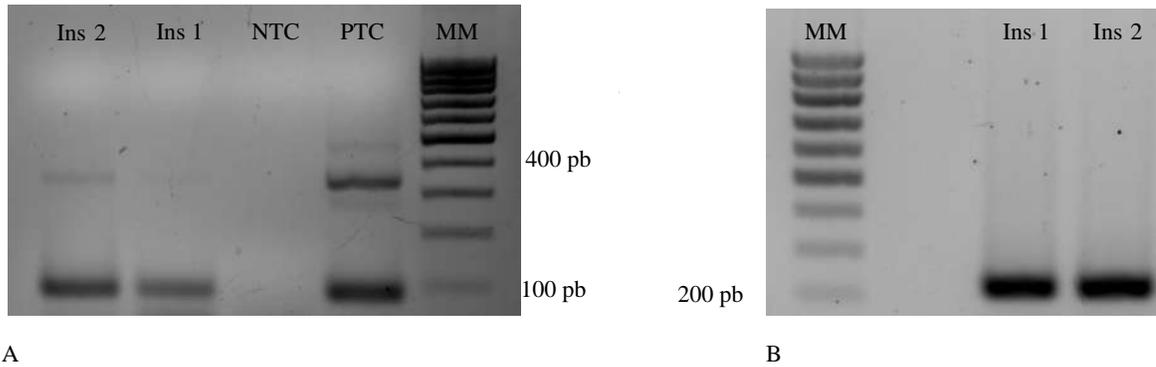
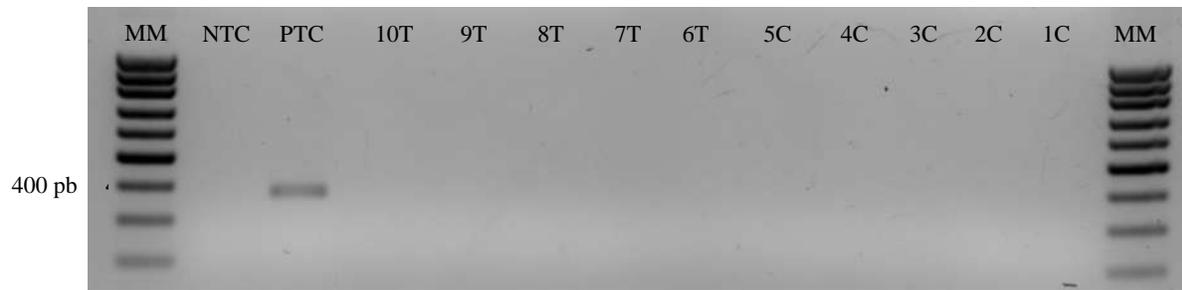


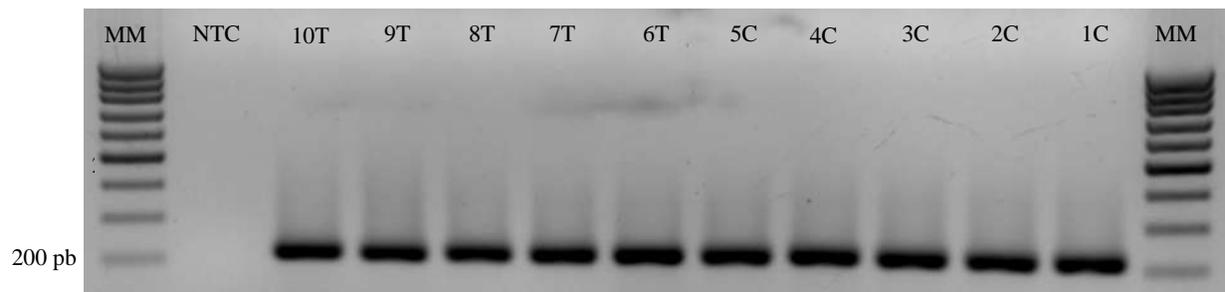
Fig. 13 Determinación de la capacidad de adquisición de PMeV-Mx por *E. laceiba*. **A)** Detección de PMeV-Mx en insectos colectados de un huerto infectado con meleira. Carriles Ins1-Ins2: muestras de insectos analizadas, carril PTC: control positivo, carril NTC: control negativo, carril MM: marcador de peso molecular de ADN de 100 pb **B)** Detección por RT-PCR del gen ARNr 18S en las muestras de insectos: carriles Ins1-Ins2, carril MM: marcador de peso molecular de ADN de 100 pb.

7.5 Determinación de la transmisión de PMeV-Mx por *E. laceiba* a plántulas de papaya

Los resultados del análisis molecular realizado a las plántulas de papaya utilizadas en el ensayo de transmisión de meleira mediado por *E. laceiba*, mostraron la ausencia de las bandas esperadas de 371 pb en las muestras y la presencia de dicha banda en el control positivo. Para corroborar la presencia de RNA de buena calidad e intacto, se realizó el análisis de la presencia del gen endógeno, mostrando resultados concluyentes que indican la correcta realización del análisis (Fig. 14). Los resultados no mostraron evidencia de la presencia de PMeV-Mx en las plántulas inoculadas con insectos virulíferos ni en las plántulas control, esto indica que *E. laceiba*, no fue capaz de transmitir el virus en las condiciones evaluadas.



A



B

Fig. 14 Determinación de la capacidad de transmisión de PMeV-Mx por *E. laceiba*. **A)** Detección por RT-PCR de PMeV-Mx en plántulas de papaya control e inoculadas con insectos virulíferos a los 20 días posteriores a la inoculación (dpi). Carriles 1C-5C: controles (no inoculadas), carriles 6T-10T: plántulas inoculadas (contacto con insectos), carril PTC: control positivo, NTC: control negativo, MM: marcador de peso molecular de ADN de 100 pb. **B)** Detección por RT-PCR del gen ARNr 18S, utilizado como control endógeno de la reacción: carriles 1C-10T, NTC: control negativo, MM: marcador de peso molecular de ADN de 100 pb.

8. Resumen de resultados

Meleira es una enfermedad de gran relevancia económica, que afecta severamente la producción de papaya, y actualmente se encuentra presente en cultivos de papaya, de las variedades Maradol e Intenza, en la región del Valle de Apatzingán, Michoacán.

De los muestreos de cicadélidos realizados en huertos donde se detectó la presencia de meleira, *E. laceiba* fue la especie predominante. Hasta donde sabemos, este es el primer reporte de la presencia de este insecto en el estado, el primer reporte de su comportamiento como especie plaga de papaya y el primer análisis sobre su interacción con virus

fitopatógenos. Se encontró evidencia de la adquisición de PMeV-Mx por parte de *E. laceiba*; sin embargo, no se encontró evidencia de la transmisión del virus a plántulas de papaya en las condiciones analizadas.

9. Discusión de resultados

La papaya es el tercer fruto tropical más cultivado mundialmente (Chávez-Pesqueira & Núñez-Farfán, 2017) y posee un alto valor nutricional (Alara et al., 2022). Este fruto es cultivado y consumido principalmente en países en vías de desarrollo como India, Brasil y México (FAO, 2020). Actualmente, el principal reto para la producción de papaya son las enfermedades causadas por virus, las cuales generan las mayores pérdidas económicas a nivel mundial (Sa Antunes et al., 2020; Zainal-Abidin et al., 2021).

En México, una de las enfermedades que causa mayor preocupación para la producción de este fruto es meleira, la cual se reportó por primera vez en el 2012 (Perez-Brito, 2012), donde se estableció la presencia de la enfermedad en algunas regiones de siete estados productores (Jalisco, Campeche Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco y Veracruz) y posteriormente se reportó su presencia en el estado de Chiapas (Magaña-Álvarez, 2017).

De acuerdo con la revisión de literatura especializada, no existen reportes que indiquen la presencia de meleira en el estado de Michoacán, por lo que este es el primer reporte de su presencia en la región. Este reporte es importante porque Michoacán y Jalisco, dos estados con presencia de meleira, colindan con Colima, el segundo estado del país con el mayor volumen de producción (SIAP, 2022), y un alto volumen de fruto exportado y el único estado que no ha reportado afectación alguna por esta enfermedad en sus cultivos (SAGARPA, 2017).

La principal vía de dispersión de virus fitopatógenos es la transmisión por vectores y dado que el único vector reportado para meleira es *E. papayae* (García-Cámara et al., 2019), se buscó determinar si este insecto estaba presente en los cultivos infectados; sin

embargo, el análisis de los muestreos realizados en campo no mostró evidencia de la presencia de esta especie.

Interesantemente, el análisis taxonómico sugirió la presencia de *E. laceiba* como especie predominante en los dos sitios de muestreo. Como antecedente de este cicadélido se tiene el primer reporte realizado por Ross & Cunningham (1960) en la municipalidad de Atlántida, Honduras y en el estado de Guerrero, México. Solo mencionan su presencia, sin indicar los hospederos ni los daños ocasionados. Por ello, basados en la revisión de literatura especializada y a través de este estudio, se determinó la presencia de esta especie asociada al cultivo de papaya en el estado de Michoacán, México.

En el presente trabajo se estudió la capacidad de *E. laceiba* para adquirir PMeV-Mx en condiciones de campo y transmitirlo a plántulas de papaya. Los resultados siguieron que el insecto es capaz de adquirir el virus, sin embargo, no se encontró evidencia de que pueda transmitirlo en las condiciones estudiadas. Estos resultados son similares a los observados para la especie de mosquita blanca *Trialeurodes viridialis*, con la cual se realizaron ensayos de transmisión de PMeV2 en condiciones de invernadero, donde se determinó que el insecto es capaz de adquirir el virus; sin embargo, no se encontró evidencia de transmisión a plantas sanas, ni correlación entre el incremento de la población de *T. viridialis* con la incidencia de la enfermedad en campo (de Souza et al., 2003).

La transmisión de fitopatógenos mediada por cicadélidos es un proceso conocido, pero no analizado a profundidad. De acuerdo con lo reportado por Hirao & Inoue, (1979), donde se analizó la transmisión del Virus Waika del Arroz mediada por *Nephotettix cincticeps*, se observó que con un periodo de adquisición de media hora, que consistió en colocar de tres hembras sobre plantas enfermas, el cicadélido presentó un porcentaje de transmisión del 15% y, además, ese porcentaje incrementó al aumentar el periodo de adquisición. Adicionalmente, se observó que el insecto expuesto a un periodo de adquisición de 12 horas fue capaz de transmitir el virus hasta por 36 h. Estos resultados corresponden con una transmisión no persistente o semipersistente en la que no existe un periodo de retención, ya que este periodo está dado por el tiempo que le toma al virus

ingresar al tracto digestivo, atravesar las membranas, establecerse en hemolinfa, ingresar a glándulas salivales y posteriormente ser transmitido. Adicionalmente, el tiempo en el que el insecto es virulífero es corto, nuevamente, algo que apoya la hipótesis de una transmisión no persistente. Dado que nuestro análisis de adquisición y transmisión de PMeV-Mx se desarrolló directamente con insectos presentes en campo, desconocemos el periodo de adquisición; sin embargo, el periodo de transmisión analizado fue más amplio y la cantidad de insectos colocados por planta fue de cinco 15 veces mayor que la analizada en el trabajo de Hirao & Inoue, (1979).

El único ensayo de transmisión que se ha realizado con cicadélidos para determinar la capacidad de adquisición y transmisión de meleira es el realizado por García-Cámara et al. (2019) donde se analizó a *E. papayae*, el cicadélido más estudiado en el cultivo de papaya, y se observó que el periodo de adquisición del virus por parte del insecto fue menor a seis horas; sin embargo no se realizaron análisis a un menor periodo de tiempo, por lo que este pudiera ser inclusive menor. Por otro lado, los insectos virulíferos se mantuvieron sobre las plantas sanas durante 14 días, seis días menos que los analizados en nuestro ensayo, y la primera detección del virus sobre la planta se logró establecer a los 21 días, comparado con el análisis de presencia del virus en este ensayo que se realizó 20 días después de haber iniciado la inoculación, por lo que, por un lado, es posible que los insectos tengan un periodo de retención más amplio, lo que significaría que la transmisión requiera de una mayor cantidad de tiempo para poder ser detectada en las plántulas; sin embargo, dado el tiempo de exposición, la cantidad de insectos por plántula y el hecho de que los insectos fueron colectados de plantas que presentaban síntomas intensos, los cuales se han relacionado con un mayor título viral, es posible que el insecto no sea capaz de transmitir el virus o que la tasa de transmisión sea baja, lo que indicaría una baja importancia del insecto en la dispersión del virus en campo.

Interesantemente, este es el primer reporte de *E. laceiba* en el estado de Michoacán y como plaga de un cultivo de importancia económica, por lo que la información obtenida en el presente trabajo establece un área importante para futuras investigaciones en el cultivo de papaya en la región.

El análisis taxonómico de especies colectadas determinó, además la presencia de *E. dilitara*, una especie ya reportada como parte del complejo de especies que actúa como plaga de papaya y al igual que lo aquí reportado, se encontró siendo una especie no predominante en papaya, asociada regularmente a *E. papayae* (Martorell & Adsuar, 1969; Young, Jr., 1969)

10. Conclusión

La especie de *Empoasca* predominante en los sitios de muestreo, fue *E. laceiba*; No obstante, no se obtuvo evidencia de la transmisión de PMeV-Mx a plántulas de papaya en las condiciones analizadas.

11. Perspectivas

Se plantea la necesidad de realizar análisis de adquisición y transmisión de PMeV-Mx sobre los insectos presentes dentro y en las cercanías de cultivos de papaya enfermos para poder determinar los posibles vectores, así como posibles arvenses que puedan ser hospederos alternos.

Por otro lado, se proponen ensayos de transmisión con un intervalo de tiempo más amplio entre inoculación y análisis, así como una mayor cantidad de repeticiones por ensayo para poder determinar con mayor exactitud el porcentaje de transmisión.

Por último, se sugiere el análisis de la dinámica poblacional de insectos plaga que presenten algún indicio de transmisión del virus, con la finalidad de poder determinar, en condiciones de campo, el insecto con la mayor eficiencia en la dispersión de meleira.

12. Referencias

- Abreu, P. M. V., Antunes, T. F. S., Magaña-Álvarez, A., Pérez-Brito, D., Tapia-Tussell, R., Ventura, J. A., Fernandes, A. A. R., & Fernandes, P. M. B. (2015). A current overview of the Papaya meleira virus, an unusual plant virus. *Viruses*, 7(4): 1853-1870. <https://doi.org/10.3390/v7041853>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Alara, J. A. (2022). Carica papaya: comprehensive overview of the nutritional values, phytochemicals and pharmacological activities. *Advances in Traditional Medicine*, 22(1): 17-47. <https://doi.org/10.1007/s13596-020-00481-3>
- Antunes, T. F. S., Amaral, R. J. V., Ventura, J. A., Godinho, M. T., Amaral, J. G., Souza, F. O., Zerbini, P. A., Zerbini, F. M., & Fernandes, P. M. B. (2016). The dsRNA virus papaya meleira virus and an ssRNA virus are associated with papaya sticky disease. *PLoS ONE*, 11(5):1-14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155240>
- Magaña-Álvarez A.A. (2017). Estudio de la expresión diferencial de genes involucrados en la respuesta de Carica papaya al virus de la meleira y de las alteraciones nanoestructurales en hojas y látex. Centro de Investigación Científica de Yucatán. Tesis doctoral. https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/456/1/PCB_BT_D_Tesis_2017_Magana_Anuar.pdf
- Araújo, M. M. M. de, Tavares, É. T., Silva, F. R. da, Marinho, V. L. de A., & Júnior, M. T. S. (2007). Molecular detection of Papaya meleira virus in the latex of Carica papaya by RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 146(1-2): 305-310. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.07.022>
- Arroyo P., W., Pérez-H., A., Díaz-Soto, J., & Beltrán H, J. (2015). Identificación de morfotipos de Empoasca spp. (Hemiptera: Cicadellidae) en agro-ecosistemas de ñame y yuca (Sucre, Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*, 41(2): 163-169. Consultado en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rcen/v41n2/v41n2a02.pdf>
- Australian government. (2019). Final report. Integrated disease management strategies for the productive, profitable and sustainable production of high quality papaya fruit in the southern Philippines and Australia. 1-64. Consultado en:

https://www.aciar.gov.au/sites/default/files/project-page-docs/final_report_hort.2012.113.pdf

- Badillo, V. M., & Leal, F. (2019). Taxonomy and botany of the caricaceae. *Horticultural Reviews*, 47(6): 289-323. <https://doi.org/10.1002/9781119625407.ch6>
- Baspinar H., Uygun N., & De Mendoza A.H.D. (2012). Cicadellidae. In *Integrated Control of Citrus Pests in the Mediterranean Region*. BENTHAM SCIENCE PUBLISHERS, (7): 119-125. <https://doi.org/10.2174/978160805294311201010119>
- Basso, M. F., Lima, J. A. de A., Deguchi, M., Galdeano, D. M., Amaral, L. da S., & Fernandes, P. M. B. (2016). Papaya viral diseases: Recent advances and perspectives. *Advances in Genetics Research*, 16(8): 1-20. Consultado en: [https://www.researchgate.net/publication/313201733_Papaya_Viral_Diseases_Recent_Advances_and_Perspectives#fullTextFileContent](https://www.researchgate.net/publication/313201733_Papaya_Viral_Diseases_Recent_Advances_and_Perspectives_Papaya_Viral_Diseases_Recent_Advances_and_Perspectives#fullTextFileContent)
- Bermúdez-Guzmán, M. D. J., Guzmán-González, S., Lara-Reyna, J., Palmeros-Suárez, P. A., López-Muraira, I. G., & Gómez-Leyva, J. F. (2017). Presencia de Papaya ringspot virus (PRSV) en arvenses asociadas a Carica papaya en Colima, México. *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 36(1): 1-15. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-2>
- Bogantes, A., Mora, E., Umaña, G., & Loria, C. (2010). Guia para la produccion de la papaya en Costa Rica. *Ministerio de Agricultura y Ganaderia*.
- Bradamante, G., Scheid, O. M., & Incarbone, M. (2021). Under siege: Virus control in plant meristems and progeny. *Plant Cell*, 33(8): 2523-2537. <https://doi.org/10.1093/plcell/koab140>
- Cambra, M., & Vidal, E. (2017). Sharka, a vector-borne disease caused by Plum pox virus: Vector species, transmission mechanism, epidemiology and mitigation strategies to reduce its natural spread. *Acta Horticulturae*, 1163(1163): 57-68. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1163.10>
- Card, S. D., Pearson, M. N., & Clover, G. R. G. (2007). Plant pathogens transmitted by pollen. *Australasian Plant Pathology*, 36(5): 455-461. <https://doi.org/10.1071/AP07050>
- Carvalho, F. A., & Renner, S. S. (2014). The phylogeny of the Caricaceae. In *Genetics and*

- Genomics of Papaya*, (5): 81-92. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8087-7_5
- Chan, Y. K. (2009). Breeding papaya (*Carica papaya* L.). In *Breeding Plantation Tree Crops: Tropical Species*, 121-159. https://doi.org/10.1007/978-0-387-71201-7_4
- Chávez-Calvillo, G., Contreras-Paredes, C. A., Mora-Macias, J., Noa-Carrazana, J. C., Serrano-Rubio, A. A., Dinkova, T. D., Carrillo-Tripp, M., & Silva-Rosales, L. (2016). Antagonism or synergism between papaya ringspot virus and papaya mosaic virus in *Carica papaya* is determined by their order of infection. *Virology*, 489: 179-191. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.11.026>
- Chávez-Pesqueira, M., & Núñez-Farfán, J. (2017). Domestication and genetics of papaya: A review. In *Frontiers in Ecology and Evolution*, 5(155): 1-9. <https://doi.org/10.3389/fevo.2017.00155>
- Cobos, A., Montes, N., López-Herranz, M., Gil-Valle, M., & Pagán, I. (2019). Within-Host Multiplication and Speed of Colonization as Infection Traits Associated with Plant Virus Vertical Transmission. *Journal of Virology*, 93(23): 1-20. <https://doi.org/10.1128/jvi.01078-19>
- CONABIO. (2007). *Carica papaya*. *Species Plantarum*, 2, 96-99. Consultado en: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/23-caric1m.pdf
- Cornejo-Condori, G. B., Lima-Medina, I., Bravo-Portocarrero, R. Y., Barzola-Tito, K., & Casa-Coila, V. H. (2021). Nematodes associated with andean papaya (*Carica pubescens* L.) in sandia district, puno, Peru. *Bioagro*, 33(3): 191-202. <https://doi.org/10.51372/bioagro333.5>
- Cornejo-Franco, J. F., Alvarez-Quinto, R. A., & Quito-Avila, D. F. (2018). Transmission of the umbra-like Papaya virus Q in Ecuador and its association with meleira-related viruses from Brazil. *Crop Protection*, 110: 99-102. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.04.006>
- da Costa, A. R., Faroni, L. R. D., Salomão, L. C. C., Cecon, P. R., & de Alencar, E. R. (2021). Use of Ozonized Water to Control Anthracnose in Papaya (*Carica papaya* L.) and its Effect on the Quality of the Fruits. *Ozone: Science and Engineering*, 43(4): 384-393. <https://doi.org/10.1080/01919512.2020.1816450>
- de Souza Andrade, J., Aires Ventura, J., Pessini Rodrigues, S., de Oliveira Freitas Couto,

- A., de Cássia Antunes Lima, R., da Silva Tatagiba, J., Costa, H., Machado Bueno Fernandes, P., & dos Santos Martins, D. (2003). EVIDÊNCIA DA NÃO-TRANSMISSÃO DO VÍRUS DA MELEIRA DO MAMOEIRO POR MOSCA-BRANCA *Trialeurodes variabilis*. *Papaya Brasil*, 605-608. Consultado en: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/899/1/2003-fitopatologia-09.pdf>
- DeLong & Davidson. (1935). *Empoasca* (*Empoasca*) *dilitara*. In *3I Interactive Keys and Taxonomic Databases*, 36. Consultado en: <http://dmtriev.speciesfile.org/taxahelp.asp?hc=19722&key=Erythroneura&lng=En>
- Evans, E., & Ballen, F. (2014). Assessing the Intensity of Market Competition in the US Papaya Import Market. *Journal of Food Distribution Research*, 45(2): 213–226. 10.22004/ag.econ.186933
- FAO. (2020). FAOSTAT-Value of Agricultural Production. Base de datos. Consultado en: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QV>
- Felker, P., Bunch, R., Russo, G., Preston, K., Tine, J. A., Suter, B., Xiaohan, M., Cushman, J. C., & Yim, W. C. (2019). Biology and chemistry of an umbravirus like 2989 bp single stranded RNA as a possible causal agent for *Opuntia* stunting disease (engrosamiento de cladodios) - A review. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 21:1–31. Consultado en: file:///C:/Users/uberi/Downloads/bmurillo04,+1-31_Umbravirus_Review_Felker_et_al.pdf
- García-Cámara, I., Pérez-Brito, D., Moreno-Valenzuela, O., Magaña-Álvarez, A., Fernandes, P. M. B., & Tapia-Tussell, R. (2018). Molecular and experimental evidence of Watermelon (*Citrullus lanatus*) as host of the Mexican variant of Papaya meleira virus. *European Journal of Plant Pathology*, 151(1): 1-7. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1357-8>
- García-Cámara, I., Tapia-Tussell, R., Magaña-álvarez, A., Velázquez, A. C., Martín-Mex, R., Moreno-Valenzuela, O., & Pérez-Brito, D. (2019). *Empoasca papayae* (Hemiptera: Cicadellidae)-mediated transmission of Papaya meleira virus-Mexican variant in Mexico. *Plant Disease*, 103(8): 2015-2023. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1101-RE>

- Hamelin, F. M., Allen, L. J. S., Prendeville, H. R., Hajimorad, M. R., & Jeger, M. J. (2016). The evolution of plant virus transmission pathways. *Journal of Theoretical Biology*, 396: 75-89. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2016.02.017>
- Hirao, J., & Inoue, H. (1979). Transmission Characteristics of Rice Waika Virus by the Green Rice Leafhopper, *Nephotettix cincticeps* Uhler (Hemiptera: Cicadellidae). *Applied Entomology and Zoology*, 14(1): 44-50. <https://doi.org/10.1303/aez.14.44>
- Hogenhout, S. A., Ammar, E. D., Whitfield, A. E., & Redinbaugh, M. G. (2008). Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. *Annual Review of Phytopathology*, 46(1): 327-359. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.022508.092135>
- Huang, H., Li, J., Zhang, C., & Chen, J. (2022). HEMIPTERAN-TRANSMITTED PLANT VIRUSES: RESEARCH PROGRESS AND CONTROL STRATEGIES. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 9(1): 98-109. <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2021389>
- Hull, R. (2002). Transmission 2: Mechanical, Seed, Pollen and Epidemiology. *Matthews' Plant Virology*, (12): 533-581. <https://doi.org/10.1016/b978-012361160-4/50063-3>
- INTAGRI. (2018). Biología y Ecofisiología del Cultivo de Papaya. *Serie Frutales*, 48:1-5. Consultado en: <https://www.intagri.com/index.php/articulos/frutales/biologia-y-ecofisiologia-del-cultivo-de-papaya>
- Isogai, M., Shimoda, R., Nishimura, H., & Yaegashi, H. (2022). Pollen grains infected with apple stem grooving virus serve as a vector for horizontal transmission of the virus. - *Journal of General Plant Pathology*, 88(1): 81-87. <https://doi.org/10.1007/s10327-021-01039-0>
- Jiménez, V. M., Mora-Newcomer, E., & Gutiérrez-Soto, M. V. (2014). Biology of the papaya plant. In *Genetics and Genomics of Papaya*, (2): 17-33. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8087-7_2
- Jones, R. A. C. (2018). Plant and Insect Viruses in Managed and Natural Environments: Novel and Neglected Transmission Pathways. *Advances in Virus Research*, 101: 149-187. <https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2018.02.006>
- Kazeem, S. A., Inaba, J., Zhao, Y., Zwolinska, A., Ogunfunmilayo, A. O., Arogundade, O., & Wei, W. (2021). Molecular identification and characterization of 'Candidatus

- Phytoplasma convolvuli²-related strains (representing a new 16SrXII-O subgroup) associated with papaya bunchy top disease in Nigeria. *Crop Protection*, 148: 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105731>
- Kitajima, E. W. ., Rodrigues, C. H. ., Silveira, J. S. ., Alves, F. ., Ventura, J. A. ., Aragão, F. J. L. ., & Oliveira, L. H. R. (1993). Association of isometri viruslike particles, restricted to laticifers, with “Meleira” (“Sticky disease”) of papaya (*Carica papaya*). In *Fitopatologia Brasileira*, 18(1): 118-122. Consultado en: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/123456789/3650/1/association-isometric-ventura.pdf>
- Lima, R. C. A., Lima. Albersio A., Souza Jr., M. T., Pio-Ribeiro, G., & Andrade, G. P. (2001). Etiologia e estratégias de controle de viroses do mamoeiro no brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 26(4): 689-702. <https://doi.org/10.1590/s0100-41582001000400001>
- Liu, J., Carino, E., Bera, S., Gao, F., May, J. P., & Simon, A. E. (2021). Structural analysis and whole genome mapping of a new type of plant virus subviral rna: Umbravirus-like associated rnas. *Viruses*, 13(4): 1-29. <https://doi.org/10.3390/v13040646>
- Maciel-Zambolim, E., Kunieda-Alonso, S., Matsuoka, K., De Carvalho, M. G., & Zerbini, F. M. (2003). Purification and some properties of Papaya meleira virus, a novel virus infecting papayas in Brazil. *Plant Pathology*, 52(3): 389-394. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2003.00855.x>
- Magaña-López, I., Guillén-Sánchez, D., Alia-Tejacal, I., López-Martínez, V., Juárez-López, P., Andrade-Rodríguez, M., & Hernández-Pérez, R. (2019). Efecto de inhibidores en el control del Papaya ringspot virus y productividad en papaya (*Carica papaya*). *Revista Mexicana de Fitopatología, Mexican Journal of Phytopathology*, 37(1): 80-86. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1904-8>
- Marcus, I. M., White, D., Backus, E. A., Walker, S. L., & Roper, M. C. (2022). Fluid dynamic simulations at the interface of the blue-green sharpshooter functional foregut and grapevine xylem sap with implications for transmission of *Xylella fastidiosa*. *PLoS ONE*, 17(3): 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265762>
- Martorell, L. F., & Adsuar, J. (1969). INSECTS ASSOCIATED WITH PAPAYA VIRUS DISEASES IN THE ANTILLES AND FLORIDA. *The Journal of Agriculture of the*

- University of Puerto Rico*, 36(4): 319-329. <https://doi.org/10.46429/jaupr.v36i4.12786>
- Maule, A. J., & Wang, D. (1996). Seed transmission of plant viruses: A lesson in biological complexity. In *Trends in Microbiology*, 4(4): 153-158. [https://doi.org/10.1016/0966-842X\(96\)10016-0](https://doi.org/10.1016/0966-842X(96)10016-0)
- Maurastoni, M., Sá-Antunes, T. F., Oliveira, S. A., Santos, A. M. C., Ventura, J. A., & Fernandes, P. M. B. (2020). A multiplex RT-PCR method to detect papaya meleira virus complex in adult pre-flowering plants. *Archives of Virology*, 165(5): 1211-1214. <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04588-5>
- Mishra, R., Gaur, R. K., & Patil, B. L. (2016). Current knowledge of viruses infecting papaya and their transgenic management. *Plant Viruses: Evolution and Management*, 189-203. https://doi.org/10.1007/978-981-10-1406-2_11
- Mo, C., Wu, Z., Guo, Y., Zhang, S., Li, P., & Li, H. (2022). First Report of Tobacco Mosaic Virus Infecting Papaya in China. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/pdis-11-21-2547-pdn>
- Montes, N., Cobos, A., Gil-Valle, M., Caro, E., & Pagán, I. (2021). Arabidopsis thaliana genes associated with cucumber mosaic virus virulence and their link to virus seed transmission. *Microorganisms*, 9(4): 1-16. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040692>
- Nakagawa, J., Takayawa, Y., & Suzucawa, Y. (1987). Exsudação do látex do mamoeiro: estudo da ocorrência em Teixeira de Freitas, BA. *CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA*, 555-559.
- Noa-Carrazana, J. C., González-De-León, D., Ruiz-Castro, B. S., Piñero, D., & Silva-Rosales, L. (2006). Distribution of Papaya ringspot virus and Papaya mosaic virus in papaya plants (*Carica papaya*) in Mexico. *Plant Disease*, 90(8): 1004-1011. <https://doi.org/10.1094/PD-90-1004>
- Perez-Brito, D. (2012). First report of papaya meleira virus (PMeV) in Mexico. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 11(71): 13564-13570. <https://doi.org/10.5897/ajb12.1189>
- Pérez-Padilla, V., Fortes, I. M., Romero-Rodríguez, B., Arroyo-Mateos, M., Castillo, A. G., Moyano, C., de León, L., & Moriones, E. (2020). Revisiting Seed Transmission of the Type Strain of Tomato yellow leaf curl virus in Tomato Plants. *Phytopathology*,

110(1): 1-35. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-19-0232-FI>

Pérez, K. A., Piñol, B., Rosete, Y. A., Wilson, M., Boa, E., & Lucas, J. (2010). Transmission of the phytoplasma associated with Bunchy Top Symptom of Papaya by *Empoasca papayae* Oman. *Journal of Phytopathology*, 158(3): 194-196. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2009.01590.x>

Pombo D. (2012). Hemípteros. *El Árbol de la Vida: sistemática y evolución de seres vivos*, 302–311.

Rodrigues, C. H., Ventura, J. A., & Maffia, L. A. (1989). Distribuição e transmissão da meleira em pomares de mamão no Estado do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira*, 14: 118. <http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/handle/123456789/3647>

Rodrigues, C. H., Ventura, J. A., & Marin, S. L. D. (1989). Ocorrência e sintomas da meleira do mamoeiro (*C. papaya*) no Estado do Espírito Santo. *Fitopatologia Brasileira*, 14, 118. <http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/handle/123456789/3943>

Ross & Cunningham. (1960). *Empoasca* (*Empoasca*) *laceiba*. In *3I Interactive Keys and Taxonomic Databases* (1). Illinois Natural History Survey

Ryabov, E. V., & Taliansky, M. E. (2021). Umbraviruses (Tombusviridae). In *Encyclopedia of Virology*, 3: 827-832. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809633-8.21255-7>

Sa Antunes, T. F., Maurastoni, M., Madroñero, L. J., Fuentes, G., Santamaria, J. M., Ventura, J. A., Abreu, E. F., Fernandes, A. A. R., & Fernandes, P. M. B. (2020). Battle of three: The curious case of papaya sticky disease. *Plant Disease*, 104(11): 2754-2763. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-19-2622-FE>

SAGARPA. (2017). Planeación Agrícola Nacional (2017-2030), I (1).

Sánchez, A., Miranda, I., Quiñones, M., Piñol, B., & Fernández, B. (2016). Saltahojas (Typhlocybae) y su relación con los síntomas de enfermedades en un campo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista de Protección Vegetal*, 31(3): 153-158. Consultado en: cielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522016000300001

Schaefer G.A. (1969). Aphid Vectors of the Papaya Mosaic Viruses in Puerto Rico. *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 53(1): 1-13. <https://doi.org/10.46429/jaupr.v53i1.11172>

Shi, X., Zhang, Z., Zhang, C., Zhou, X., Zhang, D., & Liu, Y. (2021). The molecular

- mechanism of efficient transmission of plant viruses in variable virus–vector–plant interactions. *Horticultural Plant Journal*, 7(6): 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2021.04.006>
- SIAP. (2022). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola.
- Taha, M. D. M., Jaini, M. F. M., Saidi, N. B., Rahim, R. A., Shah, U. K. M., & Hashim, A. M. (2019). Biological control of *Erwinia mallotivora*, the causal agent of papaya dieback disease by indigenous seed-borne endophytic lactic acid bacteria consortium. *PLoS ONE*, 14(12): 1-20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224431>
- Tapia-Tussell, R., Magaña-Alvarez, A., Cortes-Velazquez, A., Itza-Kuk, G., Nexticapan-Garcez, A., Quijano-Ramayo, A., Martin-Mex, R., & Perez-Brito, D. (2015). Seed transmission of Papaya meleira virus in papaya (*Carica papaya*) cv. Maradol. *Plant Pathology*, 64(2): 272-275. <https://doi.org/10.1111/ppa.12279>
- Tavares, E. T., Tatagiba, J. S., Ventura, J. A., & Souza Jr., M. T. (2004). Dois novos sistemas de diagnose precoce da meleira do mamoeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 29(5): 563-566. <https://doi.org/10.1590/s0100-41582004000500018>
- Thangaraj, T. (2010). An insight into the post harvest handling and storage of papaya (*Carica papaya* L.). *Acta Horticulturae*, 851, 497–504. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.851.76>
- Tripathi, S., Suzuki, J. Y., Ferreira, S. A., & Gonsalves, D. (2008). Papaya ringspot virus-P: Characteristics, pathogenicity, sequence variability and control. *Molecular Plant Pathology*, 9(3): 269-280. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00467.x>
- Valencia Sandoval, K., Duana Ávila, D., & Hernández Gracia, T. J. (2017). Estudio del mercado de papaya mexicana: un análisis de su competitividad (2001-2015). *Suma de Negocios*, 8(18): 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.sumneg.2017.10.002>
- Vargas-Mejía, P., Vega-Arreguín, J., Chávez-Calvillo, G., Ibarra-Laclette, E., & Silva-Rosales, L. (2020). Differential accumulation of innate- And adaptive-immune-response-derived transcripts during antagonism between papaya ringspot virus and papaya mosaic virus. *Viruses*, 12(2): 1-14. <https://doi.org/10.3390/v12020230>
- Ventura, J. A., Costa, H., Tatagiba, J. da S., & Andrade, J. de S. (2003). *Meleira do mamoeiro: Etiologia, sintomas e epidemiologia*. Papaya Brasil.
- Wu, W., Shan, H. W., Li, J. M., Zhang, C. X., Chen, J. P., & Mao, Q. (2022). Roles of

- Bacterial Symbionts in Transmission of Plant Virus by Hemipteran Vectors. In *Frontiers in Microbiology*, 13: 1-11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.805352>
- Wu, X., & Ye, J. (2020). Manipulation of jasmonate signaling by plant viruses and their insect vectors. *Viruses*, 12(2): 1-15. <https://doi.org/10.3390/v12020148>
- Xu, Y., Dietrich, C. H., Zhang, Y. L., Dmitriev, D. A., Zhang, L., Wang, Y. M., Lu, S. H., & Qin, D. Z. (2021). Phylogeny of the tribe Empoascini (Hemiptera: Cicadellidae: Typhlocybinae) based on morphological characteristics, with reclassification of the *Empoasca* generic group. *Systematic Entomology*, 46(1): 266-286. <https://doi.org/10.1111/syen.12461>
- Young, Jr., D. A. (1969). Empoaskan leafhoppers of the Solana group with descriptions of two new species (homoptera, cicadellidae). *The Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico*, 37(2): 151-160. <https://doi.org/10.46429/jaupr.v37i2.12758>
- Zainal-Abidin, R. A., Ruhaizat-Ooi, I. H., & Harun, S. (2021). A review of omics technologies and bioinformatics to accelerate improvement of papaya traits. In *Agronomy*, 11(7): 1-17. <https://doi.org/10.3390/agronomy11071356>
- Zamudio-Moreno, E., Ramirez-Prado, J. H., Moreno-Valenzuela, O. A., & Lopez-Ochoa, L. A. (2015). Early diagnosis of a Mexican variant of Papaya meleira virus (PMeV-Mx) by RT-PCR. *Genetics and Molecular Research*, 14(1): 1145-1154. <https://doi.org/10.4238/2015.February.6.18>
- Zhao, H., Jia, R. Z., Zhang, Y. L., Zhu, Y. J., Zeng, H. C., Kong, H., McCafferty, H., Guo, A. P., & Peng, M. (2016). Geographical and genetic divergence among Papaya ringspot virus populations within Hainan Province, China. *Phytopathology*, 106(8): 937-944. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-15-0111-R>
- Zhou, J. S., Drucker, M., & Ng, J. C. (2018). Direct and indirect influences of virus–insect vector–plant interactions on non-circulative, semi-persistent virus transmission. *Current Opinion in Virology*, 33: 129-136. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2018.08.004>

Anexo 1

Empoasca laceiba isolate IIQB cytochrome c oxidase subunit I (COX1) gene, partial
cds; mitochondrial

GenBank: ON255876.1

[FASTA Graphics](#)

[Go to:](#)

LOCUS ON255876 685 bp DNA linear INV 23-APR-2022
DEFINITION Empoasca laceiba isolate IIQB cytochrome c oxidase subunit I (COX1)
gene, partial cds; mitochondrial.
ACCESSION ON255876
VERSION ON255876.1
KEYWORDS .
SOURCE mitochondrion Empoasca laceiba
ORGANISM [Empoasca laceiba](#)
Eukaryota; Metazoa; Ecdysozoa; Arthropoda; Hexapoda; Insecta;
Pterygota; Neoptera; Paraneoptera; Hemiptera; Auchenorrhyncha;
Membracoidea; Cicadellidae; Typhlocybininae; Empoascini; Empoasca.
REFERENCE 1 (bases 1 to 685)
AUTHORS Zarco Ramirez,U.I., Luna Cruz,A., Reyes de la Cruz,H., Blanco
Rodriguez,E., Macias Rodriguez,L.I., Altamirano Hernandez,J. and
Loera Alvarado,E.
TITLE Empoasca laceiba as an insect pest in papaya (Carica papaya)
cultivation in Michoacan, Mexico
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 685)
AUTHORS Zarco Ramirez,U.I., Luna Cruz,A., Reyes de la Cruz,H., Blanco
Rodriguez,E., Macias Rodriguez,L.I., Altamirano Hernandez,J. and
Loera Alvarado,E.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (15-APR-2022) Instituto de Investigaciones
Quimico-Biologicas, Universidad Michoacana de San Nicolas de
Hidalgo, Av. Universidad s/n, Edif. B-3, Morelia, Michoacan 58030,
Mexico
COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES Location/Qualifiers
source 1..685
/organism="Empoasca laceiba"
/organelle="mitochondrion"

```

/mol_type="genomic DNA"
/isolate="IIQB"
/host="Carica papaya"
/db_xref="taxon:2935727"
/country="Mexico"
/collection_date="21-Oct-2020"
/collected_by="Uber Isai Zarco Ramirez"
/identified_by="Edith Blanco Rodriguez"
/PCR_primers="fwd_name: lcol490, fwd_seq:
ggtcaacaaatcataaagatattgg, rev_name: hc02198, rev_seq:
taaacttcagggtgacccaaaaaatca"

```

gene <1..>685
/gene="COX1"

CDS <1..>685
/gene="COX1"
/codon_start=2
/transl_table=5
/product="cytochrome c oxidase subunit I"
/protein_id="[UPA06415.1](#)"

/translation=

"KDIGTMYFIFGIWSGMVMMLSLIRVELSQPGSFFNNDQMYNVIVTSHAFIMIFFMVPIMIGGFGNWLLPLMIGA
PDMAFPRLNNSFWLLIPLSLLILSSFVEVGAGTGWTVPPLSSNIAHSGSSVDLAI FSLHLAGISSILGAVNFITT
VINMRCQGVTFDKIPLFVWSVFITAILLLLLSLPVLGAI TMLLTDRLNNTSFFDPSGGDPILYQHLFWFFGH"

ORIGIN

```

1 taaagatatt ggtacgatat attttatttt tgggtatttga tcaggcatag ttggtataat
61 attgagcata ttaattcgtg ttgaattatc tcagcctggt tcatttttta ataatgacca
121 aatatataat gttattgtaa cttcccatgc gtttattata atttttttta tagttatgcc
181 tattataatt ggggggttttg ggaattgatt actcccactt ataattgggtg caccgatat
241 agcttttcct cgtcttaata atataagttt ttgattatta attccttctt tatctttatt
301 aattttaaga tcatttggtg aagtggtgctc tgggtactggt tgaacagtat accccccact
361 atcttctaatt attgcacatt cagggtctag agtggattta gctatTTTTT cattacattt
421 agcaggatc tcatctattt taggggctgt aaattttatt actactgtta ttaatatacg
481 ttgtcaagggt gttacttttg ataaaattcc tttatttgtg tgatctgttt ttattacagc
541 aattttatta ctattatctc tccctgtatt agcagggtgct attactatat tgtaaactga
601 tcgtaattta aatacatctt tttttgatcc atctggtggt ggtgacccaa ttctatatca
661 gcatttattt tgattttttg gtcac

```

//