



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD

FRUTICULTURA

**“RELACIÓN DEL ÁCARO *Polyphagotarsonemus latus* (BANKS)
Y *Papaya Ringspot Virus* (JENSEN) EN LA REDUCCIÓN
FOLIAR DE *Carica papaya* cv Maradol”**

JOSÉ ÁNGEL ALCÁNTARA JIMÉNEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2010

La presente tesis titulada: "**Relación del ácaro *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) y *Papaya ringspot virus* (Jensen) en la reducción foliar de *Carica papaya* cv Maradol**" realizada por el alumno **José Angel Alcántara Jiménez**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD-FRUTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR



CONSEJERO: **DRA. MA. TERESA SANTILLÁN GALICIA**

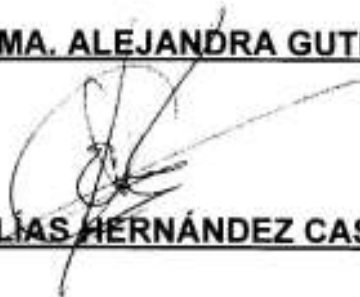


ASESOR: **DR. GABRIEL OTERO COLINA**



ASESOR: **DR. JOSÉ ANTONIO MORA AGUILERA**

ASESOR: **DRA. MA. ALEJANDRA GUTIÉRREZ ESPINOSA**



ASESOR: **DR. ELÍAS HERNÁNDEZ CASTRO**

**RELACIÓN DEL ÁCARO *Polyphagotarsonemus latus* (BANKS) Y EL
Papaya Ringspot Virus (JENSEN) EN LA REDUCCIÓN FOLIAR DE *Carica
papaya* L. cv Maradol**

**JOSÉ ÁNGEL ALCÁNTARA JIMÉNEZ, Dr.
COLEGIO DE POSTGRADUADOS 2010**

Polyphagotarsonemus latus es una especie cosmopolita que afecta diferentes cultivos tanto en áreas templadas como tropicales. El principal daño ocasionado por esta especie es la reducción o deformación de hojas jóvenes, brotes, frutos y flores. En papayo, el daño en hojas causado por este ácaro es conocido como "mano de chango" porque el área foliar de las hojas de papayo se reduce casi hasta las nervaduras, simulando los dedos de un mono. Este daño es similar al causado por *Papaya Ringspot Virus* (*PRSV-P*). Debido a que *P. latus* y *PRSV-P* causan daños similares a las hojas de papayo, el objetivo general de esta investigación fue estudiar la relación que existe entre el ácaro *P. latus* y *PRSV-P* en la reducción foliar de *Carica papaya* cv Maradol roja. Tres experimentos fueron llevados a cabo para determinar el efecto producido por *P. latus* y *PRSV-P* de manera independiente y combinada en plantas de papayo, así como el papel de *P. latus* en la transmisión del virus. *P. latus* redujo el área foliar de hojas de papayo, pero sin relación directa con diferencias en niveles de infestación del ácaro. El efecto de *PRSV-P* en la reducción foliar no fue evidente, pero esta reducción se incrementó al combinar ambos organismos. Los daños cualitativos producidos por *P. latus* son similares a los producidos por *PRSV-P*; sin embargo, se pueden distinguir unos de otros por la zona que es atacada. La altitud y el diámetro de los tallos de las plantas pueden verse afectados por la infestación de *P. latus* pero no es un daño consistente. La altitud y el diámetro del tallo no se afectaron con la presencia de *PRSV-P*. Aunque el resultado obtenido es preliminar, no se encontró evidencia de que *P. latus* pueda transmitir al *PRSV-P* a plantas sanas de papayo.

Palabras clave: Papayo, área foliar, síntomas, relación ácaro-virus.

**RELATIONSHIP OF THE MITE *Polyphagotarsonemus latus* (BANKS) AND
Papaya Ringspot Virus (JENSEN) IN REDUCING LEAF SYNDROME OF *Carica
papaya* L. cv Maradol red IN MEXICO
JOSÉ ÁNGEL ALCÁNTARA JIMÉNEZ
COLEGIO DE POSTGRADUADOS 2010**

Polyphagotarsonemus latus is a cosmopolitan species that attacks many crops in temperate and tropical regions. The main damage caused by this mite species is the reduction and deformation of leafs, young buds, fruits and flowers. In *Carica papaya*, the damage caused by this mite is known as “monkey hand” because the area of the young papaya leafs is reduced leaving only the veins visible, simulating monkey’s fingers. Such damage is similar to the damage caused by *Papaya Ringspot Virus* (*PRSV-P*). This similarity has caused confusion; therefore, more investigation is required to establish the individual role on these organisms in the reduction of the leaf area in *C. papaya* leaves. Series of experiments were carried out to study the role of each of these organisms separately and in combination in the reduction of leaf area in *C. papaya* plants, as well as the possible role of *P. latus* in the transmission of this virus. *Polyphagotarsonemus latus* reduced the leaf area, but a direct interaction with the number of mites inoculated was not found. The effect of *PRSV-P* in the leaf area reduction was not evident; however, the combination of both organisms increased the reduction in the leaf area. Qualitative damage produced by both organisms was similar; however, these damages can be distinguished by the zone in the leaves where the damages were evident. Height and diameter of the stems were affected by the presence of the mite, but no effect was found by *PRSV-P*. Although preliminary, the results suggested that *P. latus* was not able to transmit *PRSV-P* to healthy *C. papaya* plants.

Key-words: Papayo, leaf area, damage, virus-mite relationship.

DEDICATORIA

Es de suma satisfacción dedicarle este trabajo a Dios.

A mis padres: **María Isabel Jiménez García y Aurelio Alcántara Soto** a quienes debo la existencia y mi formación como persona. Así como sus esfuerzos por mantener una familia unida por el amor y el respeto.

A mi esposa: **Minerva Nazario Millán** por brindarme su apoyo y motivación para seguir adelante, y a mis hijos: **Yesenia Elided, Ángel Osvaldo y Alessandra** por todo su amor y paciencia en los momentos de mayor dificultad.

A mis hermanos, por ese gran amor que nos une y por el amor que han dedicado a sus proyectos de vida.

Con todo mi amor,
José Ángel

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por canalizar los recursos económicos en mi proyecto de posgrado a nivel doctorado.

Al Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas por ser la institución formadora en mi superación profesional.

Al Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, por ser la Unidad Educativa que dio todas las facilidades administrativas y laborales durante este proceso de actualización.

Al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por su apoyo en otorgarme una beca para investigación de postgrado.

Al Financiamiento a proyectos de investigación y desarrollo tecnológico 2008 Colegio de Postgraduados por el apoyo económico para la realización de la investigación.

A los integrantes de mi Consejo Particular: le agradezco en gran manera a la Dra. María Teresa Santillán Galicia por toda la ayuda y tiempo brindado durante toda esta investigación y por su alta calidad humana. Al Dr. Gabriel Otero Colina gracias por haber confiado en mí y compartir sus conocimientos y experiencias. Al Dr. Antonio Mora Aguilera por su contribución en esta investigación y por su sinceridad y sencillez. A la Dra. Alejandra Gutiérrez Espinosa por sus acertadas observaciones y sugerencias en este trabajo. Al Dr. Elías Hernández Castro muy agradecido por su ayuda y su motivación para culminar la investigación. Al Dr. Ariel W. Guzmán Franco por todas las aportaciones y sugerencias para culminar este trabajo y mi reconocimiento por su disciplina y dedicación a la investigación entomológica.

A mis profesores: Dr. Guillermo Calderón Z., Dra. Raquel Cano M., Dr. Eduardo Villanueva G., Dr. Enrique Becerril R., Dr. Isabel Cortez, Dr. Alfredo López J., Aníbal Quispe L., Dr. Daniel Téliz O., Dr. Carlos de León, M. C. David Jaén Contreras por ser la élite en mi programa de estudio, por compartir sus conocimientos, experiencias y sobre todo enseñarme a lograr el éxito con el deseo de ser más, no de tener más.

Muy especialmente a la Dra. Teresa Santillán G., Al Dr. Ariel Guzmán F., jóvenes emprendedores de la investigación, gracias por su invaluable apoyo y por su amistad.

Con afecto para el Dr. Félix González Cossío y al Lic. Armando Ramírez Gómez por su equilibrio de justicia que se conduce al bien.

A los compañeros de mi generación “Verano 2005” Raúl Berdeja Arbeu, Luzenira Zenil Lugo, Pablo Téllez Palos. Por su dedicación, disciplina, esfuerzo y con quienes compartí esta experiencia maravillosa en Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura.

Un gran reconocimiento a la Dra. Laura Silva Rosales del CINVESTAV, Irapuato, Guanajuato por proporcionarme las técnicas moleculares para la detección de *PRSV-P*.

A la Dra. Martha Elena De Coss Flores de la Universidad Autónoma de Chiapas por compartir su experiencia en la técnica de producción de *P. latus*.

Al M. C. Jorge M. Valdez Carrasco por su apoyo en la digitalización de imágenes.

A la M. C. Mayra Isela Merlos Brito por las facilidades brindadas para culminar mi trabajo de investigación.

Con sincero agradecimiento a Rebeca González Gómez, Marilú Valencia Domínguez y Gonzalo Silva Aguayo por su compañerismo y espíritu invencible.

Un agradecimiento al personal administrativo de Fruticultura, al Instituto de Fitosanidad, al personal técnico de biblioteca por su amabilidad y decidido apoyo en los quehaceres de gestoría. Quiero hacer extensivo mi agradecimiento a la Sra. Lourdes Huerta Díaz, María del Rocío Cuéllar Valdés, e Ignacio Zarco Hernández por su apoyo en la realización de gestoría y labores del laboratorio.

Por supuesto, gracias a todos mis compañeros y amigos los cuales me brindaron su ayuda y comprensión.

CONTENIDO

	Página
Resumen.....	i
Abstract.....	ii
Dedicatoria y agradecimientos.....	lii
Contenido.....	vii
Lista de figuras.....	ix
Lista de cuadros.....	X
CAPÍTULO I.	
INTRODUCCIÓN GENERAL	
Objetivo general.....	1
Objetivos específicos.....	2
1.1 Literatura citada.....	3
CAPÍTULO II.	
REVISIÓN DE LITERATURA	
2.1 Importancia del cultivo de papayo.....	6
2.2 <i>Polyphagotarsonemus latus</i>	6
2.2.1 Descripción.....	6
2.2.2 Biología.....	7
2.2.3 Hospedantes.....	9
2.2.4 Daños.....	10
2.3 <i>Papaya Ringspot Virus (PRSV-P)</i>	11
2.3.1 Descripción.....	11
2.3.2 Estructura.....	11
2.3.3 Hospedantes.....	11
2.3.4 Síntomas.....	11
2.4 Literatura citada.....	13
CAPÍTULO III.	
MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	
3.1 Material biológico.....	18
3.1.1 Plantas de frijol.....	18
3.1.2 Colonia de <i>Polyphagotarsonemus latus</i>	18
3.1.3 Plantas de <i>Carica papaya</i>	18
3.1.4 Detección de <i>PRSV-P</i> mediante transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR).....	19
3.1.5 Determinación del área foliar.....	20
3.2 Literatura citada.....	20
CAPÍTULO IV.	
DAÑOS CAUSADOS POR LA INFESTACIÓN DE	
<i>Polyphagotarsonemus latus</i> (BANKS) A PLANTAS DE <i>Carica papaya</i> L. cv Maradol roja LIBRES DE <i>Papaya Ringspot Virus</i>	22
4.1 Introducción.....	22
4.2 Materiales y métodos.....	24

4.2.1	<i>Polyphagotarsonemus latus</i>	24
4.2.2	Plantas de <i>Carica papaya</i>	25
4.2.3	Diagnóstico de <i>PRSV-P</i> mediante RT-PCR.....	25
4.2.4	Efecto de <i>Polyphagotarsonemus latus</i> en el área foliar de plantas de papayo libres de <i>PRSV-P</i>	26
4.2.5	Evaluación del experimento	26
4.3	Resultados.....	26
4.4	Discusión.....	31
4.5	Literatura citada.....	33

CAPÍTULO V.

DAÑOS CAUSADOS POR LA ASOCIACIÓN DEL <i>Papaya Ringspot Virus</i> y <i>Polyphagotarsonemus latus</i> EN EL ÁREA FOLIAR DE PLANTAS DE <i>Carica papaya</i> L. cv Maradol roja		37
--	--	----

5.1	Introducción.....	37
5.2	Materiales y métodos.....	38
5.2.1	<i>Polyphagotarsonemus latus</i>	38
5.2.2	Plantas de <i>Carica papaya</i>	39
5.2.3	Inoculación de <i>PRSV-P</i> a plantas sanas de <i>Carica papaya</i>	39
5.2.4	Diagnóstico de <i>PRSV-P</i> mediante RT-PCR.....	40
5.2.5	Efecto de <i>Polyphagotarsonemus latus</i> en combinación con <i>PRSV-P</i> en el área foliar de plantas de papayo.....	40
5.2.6	Evaluación del experimento.....	41
5.3	Resultados.....	41
5.4	Discusión.....	48
5.5	Literatura citada.....	50

CAPÍTULO VI.

PAPEL DEL ÁCARO <i>Polyphagotarsonemus latus</i> EN LA TRANSMISIÓN DEL <i>Papaya Ringspot Virus</i>		53
---	--	----

6.1	Introducción.....	53
6.2	Materiales y métodos.....	55
6.2.1	<i>Polyphagotarsonemus latus</i>	55
6.2.2	Plantas de <i>Carica papaya</i>	55
6.2.2.1	Plantas libres de <i>PRSV-P</i>	55
6.2.2.2	Plantas infectadas con <i>PRSV-P</i>	55
6.2.3	Diagnóstico de <i>PRSV-P</i> mediante RT-PCR.....	56
6.2.4	Periodo de adquisición de <i>PRSV-P</i>	56
6.2.5	Diseño experimental.....	56
6.2.6	Evaluación del experimento.....	57
6.3	Resultados.....	57
6.4	Discusión.....	58
6.5	Literatura citada.....	59

CAPÍTULO VII.

CONCLUSIONES GENERALES		61
------------------------	--	----

Lista de figuras

		Página
Figura 4.1	Área foliar de plantas de papayo <i>Carica papaya</i> L. de los diferentes tratamientos realizados en el experimento (primera repetición).....	27
Figura 4.2	Área foliar de plantas de papayo <i>Carica papaya</i> L. de los diferentes tratamientos realizados en el experimento (segunda repetición).....	27
Figura 4.3	Altitud de plantas de papayo <i>Carica papaya</i> L. afectadas por la infestación de <i>P. latus</i> . En el experimento (primera repetición).....	28
Figura 4.4	Diámetro de plantas de papayo <i>Carica papaya</i> L. afectadas por la infestación de <i>P. latus</i> . En el experimento (primera repetición).....	29
Figura 4.5	Daños causados a plantas de papayo <i>Carica papaya</i> L. con infestación artificial por 30 hembras en cámara de crecimiento.....	30
Figura 4.6	Ejemplo de reacciones de RT-PCR que confirman la ausencia de <i>PRSV-P</i> en el papayo <i>Carica papaya</i> L. usadas antes (líneas 1-8) y después (líneas 9-16) de realizar el experimento.....	31
Figura 5.1	Inoculación mecánica de <i>PRSV-P</i> en papayo <i>Carica papaya</i> L.....	40
Figura 5.2	Área foliar de papayo <i>Carica papaya</i> L. afectadas por la infestación de <i>P. latus</i>	42
Figura 5.3	Diámetro del tallo de papayo <i>Carica papaya</i> L. utilizadas en los experimentos.....	43
Figura 5.4	Altitud de papayo <i>Carica papaya</i> L. utilizadas en los experimentos.....	44
Figura 5.5	Hojas de papayo <i>Carica papaya</i> L. que muestran daños cualitativos que producen <i>P. latus</i> y <i>PRSV-P</i>	45
Figura 5.6	Hojas de papayo <i>Carica papaya</i> L. que muestran deformaciones de la lámina foliar cuando <i>P. latus</i> se alimenta de éstas durante su desarrollo.....	46
Figura 5.7	Hojas de papayo <i>Carica papaya</i> L. infectadas con <i>PRSV-P</i> . Las flechas indican las manchas aceitosas observadas	46
Figura 5.8	Ejemplo de reacciones de RT-PCR que confirman la presencia o ausencia de <i>PRSV-P</i> en las plantas antes de ser inoculadas con <i>PRSV-P</i> (líneas 1-4) y después de la inoculación mecánica de <i>PRSV-P</i> (líneas 5-16).....	47

Lista de cuadros

	Página
Cuadro 2.1 Hospedantes de <i>Polyphagotarsonemus latus</i>	9
Cuadro 6.1 Porcentaje de transmisión de <i>PRSV-P</i> por <i>P. latus</i>	57

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

El papayo (*Carica papaya*) es una planta tropical de valor comercial en muchos países por sus frutos y propiedades medicinales. En México, este cultivo tiene una gran importancia socioeconómica, ya que en los últimos cuatro años ha ido en aumento la superficie cultivada (FAO, 2007). A pesar de que este cultivo puede ser muy redituable para los agricultores, existen diversos factores que han afectado la producción de este fruto, siendo principalmente las plagas y enfermedades, las cuales pueden reducir el rendimiento.

En México, las enfermedades causadas por virus son la principal limitante del cultivo y el virus de la mancha anular del papayo (PRSV-P por sus siglas en inglés) es considerado como la enfermedad más severa para el rendimiento del papayo (Hernández-Castro *et al.*, 2004; Gómez y Pedrero, 2000; Flores *et al.*, 1995). Este virus puede ocasionar pérdidas desde 10% hasta 100% si la infección ocurre en los primeros meses de crecimiento vegetativo (Hernández-Castro *et al.*, 2004; Becerra, 1994). La enfermedad se encuentra en todas las zonas agrícolas donde se produce papayo en México; ésta limita la productividad y longevidad del cultivo, que ha pasado de un sistema productivo multianual a uno anual, con los consecuentes incrementos en costo de producción y riesgos de pérdidas (De los Santos *et al.*, 2000). Existen una diversidad de trabajos sobre la identificación del virus, la caracterización de la enfermedad que produce y su manejo integrado (Becerra, 1994; Cárdenas, 1992; Mora-Aguilera *et al.*, 1992; Téliz *et al.*, 1991; Ochoa y Galindo, 1977). Asimismo, se han realizado algunos trabajos para estudiar el papel de los áfidos en la transmisión de la enfermedad (Mora-Aguilera *et al.*, 1992; Becerra, 1989; Villanueva *et al.*, 1990). Se han identificado algunos otros grupos de insectos que pueden ser vectores de PRSV-P y plagas importantes del cultivo de papayo, tales como coleópteros, homópteros, dípteros y ácaros. Estos últimos han sido poco estudiados, pero quizá sean las plagas más persistentes en el cultivo de *papaya*. En Hawái, por ejemplo, los ácaros más comunes son *Tetranychus cinnabarinus*, *Brevipalpus phoenicis* y *Calacarus brionesae*. Sin

embargo, en áreas tropicales el ácaro predominante es *Polyphagotarsonemus latus* (Pantoja *et al.*, 2002; Pantoja y Peña, 2007).

Coincidentemente, uno de los síntomas más graves atribuidos al PRSV-P es la reducción severa del área foliar, que deja a las hojas reducidas prácticamente a las nervaduras. Sin embargo, al parecer estos síntomas han sido también atribuidos al ataque del ácaro *P. latus*, el cual daña al papayo cuando se alimenta de las hojas nuevas durante la brotación (Acuña y Agostini, 2000; Aubert *et al.*, 1981; De Coss, 2006); aunque una verificación de la presencia del virus no fue llevada a cabo, por lo que en esta investigación pretendemos profundizar aún más en la relación ácaro–virus.

Debido a que los síntomas de reducción de la lámina foliar de las hojas del papayo, en sus diversas expresiones denominadas “pata de ganso”, “mano de mono” o “mano de chango” han sido atribuidos al virus de la mancha anular del papayo y a *P. latus*, se plantea realizar esta investigación con los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Estudiar la relación que existe entre *Polyphagotarsonemus latus* y el *Papaya Ringspot Virus-P* en la reducción foliar de *Carica papaya*.

Objetivos específicos:

Determinar el daño causado por la infestación de *P. latus* en el área foliar de plantas de papayo libres de *PRSV-P*.

Estudiar los daños que causa la presencia combinada de *P. latus* y el *PRSV-P* en el área foliar de plantas de papayo.

Estudiar el papel de *P. latus* en la transmisión del *PRSV-P* en plantas de papayo.

1.1 Literatura citada

- Acuña, L. E. y Agostini, J. P. 2000. Búsqueda del agente causal de los síntomas del mosaico del mamón *Carica papaya* L. Rev. Citrusmisiones. (29):17- 20
- Aubert, B., P. Lossois, J. Marchal, J. Rabaud y Boisvilliers, P. 1981. Mise en evidence des dégats causes par *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) sur papayer á l' île de la Réunion. Fruits 36(1): 9 – 24
- Becerra, L. E. N. 1989. Preferencia al color del papayo (*Carica papaya* L.) y barreras de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) como medios para reducir la transmisión por áfidos de virosis en papayo. Revista Mexicana de Fitopatología 7: 218 - 222.
- Becerra, L. E. N. 1994. Manejo integrado del virus de la mancha anular del papayo. Revista Universidad Cristóbal Colón 11: 17- 27.
- Cárdenas, S. E. 1992. Caracterización de aislamientos del virus de la mancha anular de papayo, patogénesis y epidemiología de la mancha anular del papayo en *Carica papaya* L. Tesis de doctorado. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 209 p.
- De Coss, F. M. E. 2006. Bioecología y herbivoría del ácaro *Polyphagotarsonemus latus* (BANKS) en *Carica papaya* L. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Chiapas. Chiapas. 118 p.
- De los Santos, R., E. N. L. Becerra, V. R. Mosqueda, H. A. Vázquez y García, V. 2000. Manual de producción de papaya en el estado de Veracruz. Folleto Técnico No. 17, División Agrícola INIFAP-SAGAR-FVP. Veracruz, México 86 pp.

- FAO, 2007. On line In: <http://www.cabi.org/compendia/cpc/> (12 noviembre de 2010)
- Flores, R. C.; García, E.; Nieto, D. A.; Téliz, O. D. y Villanueva, J. A. J. 1995. Integrated management of papaya in México. *Acta Horticultura*. 370: 151-159.
- Gómez, R. y Pedrero, R. 2000. Generalidades de la producción de papaya en México (Trabajo referativo). *Plantaciones Modernas. AGROSEM*, 5(1): 27-34.
- Hernández-Castro, E.; Villanueva-Jiménez, J. A.; Mosqueda-Vázquez, R. y Mora-Aguilera, J. A. 2004. Efecto de la erradicación de plantas enfermas por el *PRSV-p* en un sistema de manejo integrado del papayo (*Carica papaya* L.) en Veracruz, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22(3): 382 - 387.
- Mora-Aguilera, G.; Téliz, O. D.; Campbell C. L. y Ávila, C. 1992. Temporal and spatial development of papaya ringspot in Veracruz, Mexico. *Journal of Phytopathology*. 136:27- 36.
- Ochoa, F. M. y Galindo, A. J. 1977. La virosis del papayo en México. *Panagfa* 5(38): 6 - 7.
- Pantoja, A. y Peña, J. E. 2007. Papaya Insects: Ecology and Control. In: *Papaya Insects: Ecology and Control*. Taylor & Francis Group, LLC.
- Pantoja, A.; Follet, P. y Villanueva-Jiménez, J. 2002. Pest of Papaya. In: Peña, J.E., Sharp, J. L., y Wysoki, M. (eds). *Tropical Fruit Pests and Pollinators*. CABI Publishing. 131-157.

Téliz, O. D.; A. Mora A., Nieto D. A.; Goncalves, E. D.; García, L. Matheis y Ávila, C. 1991. Mancha anular del papayo en México. Revista Mexicana de Fitopatología. 9:64 - 68.

Villanueva, B., J.; Mosqueda V. R., De los Santos, F. y Becerra, L N. 1990. El Cultivo del papayo, Plagas y Enfermedades. Gabinete de Asesoramiento, Capacitación y Servicios Agropecuarios. Veracruz, México. 80 p.

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Importancia del cultivo de papayo

El papayo (*Carica papaya*) es una planta tropical de valor comercial en muchos países por sus frutos y propiedades medicinales. En México, este cultivo tiene una gran importancia socioeconómica, ya que en los últimos cuatro años ha ido en aumento la superficie cultivada. En el 2004 México ocupó el primer lugar con 96 mil toneladas, lo que representó el 38% del total mundial, y del 2000 a 2006 se desempeñó como el principal exportador de papaya en el mundo y el segundo productor mundial (CORSPAC, 2009). A nivel nacional, durante el periodo de 1997 a 2007, se sembraron 21,836 hectáreas de riego y temporal. El rendimiento promedio en los sistemas de producción con riego fue de 45.894 ton/ha⁻¹ y temporal, 30.208 ton/ha⁻¹ (CORSPAC, 2009).

En la actualidad la producción de papaya registra una expansión de la demanda mundial, debido a que su fruta destaca por contener vitaminas A, B, C y D, minerales, calcio, potasio y fibra. Es considerada también como antioxidante debido a que contiene carotenoides capaz de protegernos contra el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Pérez, 2008).

2.2 *Polyphagotarsonemus latus*

2.2.1 Descripción

P. latus es conocido como el ácaro plateado de los cítricos (*Citrus* spp), ácaro del chile *Capsicum annuum*, ácaro amarillo del té (*Camellia sinensis*) o ácaro blanco; se alimenta de muchos cultivos como hortalizas, frutales tropicales y ornamentales (Jeppson *et al.*, 1975; Gerson, 1992). Lindquist (1986) confirmó y redefinió al género *Polyphagotarsonemus* y concluyó que la especie *latus* es un complejo de especies. Así mismo, De Coss (1999) analizó las fases de desarrollo empleando microscopía electrónica de barrido y de contraste de fases; observó diferencias cualitativas importantes entre el material analizado y las descripciones publicadas de *P. latus*, como la carencia de las sedas unguinales de los tarsos I y II de la

hembra, por lo cual confirmó los planteamientos hechos por Lindquist (1986) y Gerson (1992).

Los miembros de la familia Tarsonemidae, a la que pertenece *P. latus*, se caracterizan por presentar las siguientes fases de vida: huevo, larva en su forma activa e inactiva, y adulto (Hugon, 1983). El huevo es ovalado y alargado con la superficie superior cubierta por filas de proyecciones hemisféricas que pueden ser de 29 a 37 con un índice alto de refracción de color blanco. Su base donde se adhiere a la epidermis de la hoja es plana y mide 0.08 mm de longitud (Jeppson et al., 1975; Baker, 1997). Las larvas se alimentan por un día y mudan, al final de esta fase inician un periodo de reposo llamado pupa o ninfocrisálida, en el que permanecen un día más dentro de la cutícula larval y después emergen como adultos. Su ciclo de vida se completa en cinco días a una temperatura de 25 °C (Karl, 1965; Hugon, 1983). Fritzon y Souza (2004) señalan que el ciclo de vida (huevo a adulto) varía de tres a cinco días. Al llegar a la fase adulta, la hembra puede ovipositar por 15 días, cerca de 40 huevos. La oviposición la realizan en forma aislada. Los huevos son de coloración blanca, ovoides, miden cerca de 0,1 mm de diámetro. Los machos emergen primero y su color varía en función de los alimentos ingeridos; pueden asumir el color dependiendo de la superficie del hospedero del que se estén alimentando. Su tamaño es de 0.11 mm y tienen movimientos más rápidos que las hembras, presentan un par de patas traseras modificadas en forma de pinza para recoger a las larvas femeninas en reposo (Lavoipierre, 1940; Jeppson et al., 1975). Las hembras adultas miden 0.2 mm de largo y su color es similar al de los machos. Tiene cuatro pares de patas, las posteriores son delgadas, en forma de flagelo y tienen una uña fuerte en cada una de las patas anteriores. Poseen una banda blanca en la parte dorsal del cuerpo (Uygun et al., 1995; Fasulo, 2007).

2.2.2 Biología

Esta especie se reproduce en un ambiente cálido y húmedo, su mayor crecimiento poblacional se logra a 25°C (Jones y Brown 1983; Ferreira et al., 2006) Sin embargo, De Coss (1999) obtuvo el crecimiento más rápido a 28°C. La fecundidad

promedio es de aproximadamente 40 huevos por hembra dependiendo de la temperatura, humedad y si la hembra está fecundada (Kabir, 1979). Ferreira *et al.* (2006) estudiaron la biología de *P. latus* a 18, 22, 25, 28 y 32 °C, una humedad relativa de 65% y 12 horas de iluminación en uva (*Vitis vinifera* L.) cv. Italy y encontraron que a 25°C la duración de huevo a adulto fue de 4.4 días, al disminuir la temperatura (18°C) fue de 7.3 días y al aumentar a 32 °C fue de 3.5 días. También observaron que la longevidad de las hembras fue de 15 días y siete para los machos. Por otra parte, Ramos (1986) evaluó la duración del ciclo biológico de *P. latus* en cuatro variedades de cítricos, y reportó que el desarrollo del ácaro en todas las variedades de cítricos fue similar con una duración aproximada de cuatro días, desde huevo hasta adulto. Según dicho autor, las hembras adultas ponen de 30 a 76 huevos (un promedio de cinco por día) en el envés de las hojas en un período de ocho a 13 días y luego mueren.

Se ha observado que el número de huevos que cada hembra deposita, así como la dinámica poblacional de estos ácaros, son afectados por la temperatura y la humedad (Baker, 1997). Los huevos eclosionan a los dos días (Ferreira *et al.*, 2006). Posteriormente, emergen las larvas, que tienen movimientos lentos, duran un día y al final de este estado entran a un periodo de reposo (ninfocrisálida) que dura de dos a tres días (Hugon, 1983); durante esta fase las larvas hembras son seleccionadas por el macho. Cuando las hembras terminan la fase de reposo, los machos se aparean con ellas de inmediato (Jones y Brown, 1983).

Esta especie vive en las hojas jóvenes en los meristemas apicales y flores, donde deposita sus huevos. La dispersión de los ácaros en la planta la realizan los machos, pues al transportar las pupas quiescentes, seleccionan los sitios de oviposición; las hembras se mueven de las hojas inferiores hacia el ápice de la planta (Jeppson *et al.*, 1975). Bautista *et al.* (2005) demostraron la relación forética, aparentemente específica, entre mosca blanca (*Bemisia tabaci*) y ácaros; al observar entre dos y 12 ácaros hembras por adulto de mosca blanca, sujetos a las tibias y tarsos de las patas de las moscas. Aubert *et al.* (1981) también señalaron que los ácaros llegan a las plantas no infestadas por medio del viento.

2.2.3 Hospedantes

El ácaro tiene una amplia gama de hospedantes en las áreas tropicales, subtropicales y templadas. También es un parásito de plantas en invernadero (Jeppson *et al.*, 1975). En el cuadro 2.1 se muestra la lista de hospedantes de las cuales se alimenta *P. latus* (Jones y Brown, 1983; Santos *et al.*, 2005; Pérez *et al.*, 2007).

Cuadro 2.1. Hospedantes de *Polyphagotarsonemus latus*

Nombre común	Nombre científico	Nombre común	Nombre científico
Crisantemo	<i>Chrysanthemum morifolium</i>	Ajo	<i>Allium sativum</i>
Berros	<i>Nasturtium officinale</i>	Ají	<i>Capsicum baccatum</i>
Pepino	<i>Cucumis sativus</i>	Arroz	<i>Oryza sativa</i>
Melón	<i>Cucumis melo</i>	Dalia	<i>Dahlia</i> spp.
Cítricos	<i>Citrus</i> spp.	Papa	<i>Solanum tuberosum</i>
Calabaza	Cucurbita pepo	Tomate	<i>Solanum lycopersicum</i>
Berenjena	<i>Solanum melongena</i>	Yerba buena	<i>Mentha spicata</i>
Frijol	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Té	<i>Camellia sinensis</i>
Guayaba	<i>Psidium guajava</i>	Algodón	<i>Gossypium hirsutum</i>
Macadamia	<i>Macadamia integrifolia</i>	Chile	<i>Capsicum annuum</i>
Mango	<i>Mangifera indica</i>	Vid	<i>Vitis vinifera</i>
Papayo	<i>Carica papaya</i>	Café	<i>Coffea arabica</i>
Maracuyá	<i>Passiflora edulis</i> , <i>Passiflora</i> spp.	Azálea	<i>Rhododendron indicum</i>
Pimiento	<i>Capsicum annuum</i>	Gerbera	<i>Margarita africana</i>
Jitomate	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Begonia	<i>Begonia gracilis</i>

(Jones y Brown, 1983; Santos *et al.*, 2005; Pérez *et al.*, 2007).

2.2.4 Daños

Los daños que ocasiona a la planta se manifiestan por una variedad de síntomas que la atribuyen a la toxicidad de la saliva de la especie (Gerson, 1992). Dichos síntomas pudieran en un momento dado, estar relacionados con un complejo de especies para el género de *Polyphagotarsonemus* o de un ambiente particular alimentario (Cross y Bassett, 1982). Aubert *et al.* (1981) observaron que los daños en papayo se manifiestan cuando el limbo apenas alcanza un cm de largo; éste se tuerce y adquiere un color verde pálido, y en seguida el tejido del limbo se espesa formando un muñón en forma de “pata de ganso”. Finalmente, el limbo y la nervadura central quedan limitados a estrechas bandas, debido al cese de funcionamiento del meristemo terminal durante varias semanas o meses que tiene como consecuencia la destrucción foliar. De los Santos *et al.* (2000) mencionaron que los ácaros atacan al follaje de plantas de papayo tanto jóvenes como adultas. En el haz se observa una coloración amarilla en las partes cercanas a las nervaduras; en el envés el daño se caracteriza por un polvillo de color blanco-grisáceo, con puntos rojos o blancos que corresponden a los cuerpos de los ácaros. En los lugares donde se alimentan dejan unas raspaduras que pueden causar la caída de las hojas y dejar expuestos los frutos al sol, causándoles quemaduras y disminuyendo su calidad. Además, señalan que los daños ocasionados por ácaros pueden confundirse con los ocasionados por el virus mancha anular del papayo, ya que en altas poblaciones provocan amarillamientos y deformaciones de las hojas como ahilamientos, lo que se denomina “mano de chango”. Medina (1989) afirma que el ácaro blanco *P. latus* daña al papayo ubicándose en las hojas nuevas durante la brotación, y en consecuencia, las hojas se tornan cloróticas, casi reducidas a las nervaduras, lo que paraliza la actividad vegetativa y productiva. Fritzens y Souza (2004) afirman que estos ácaros provocan fuertes alteraciones en las hojas; al inicio del ataque el color verde natural se torna clorótico, la lámina se vuelve coriácea y el área foliar se rasga. A medida que avanza el daño la clorosis es más intensa, las hojas se reducen así mismo, las nervaduras se reducen propiciando una suspensión del crecimiento, y eventualmente, la muerte del papayo.

2.3 Papaya Ringspot Virus (PRSV-P)

2.3.1 Descripción

El virus está constituido por largas partículas flexibles en forma de bastón, miden de 760 a 900 nm de largo. Su genoma contiene una sola cadena de ARN (ssARN). Poseen 5.5% de ácido nucleico y 94.5% de proteína (Brunt *et al.*, 1996).

2.3.2 Estructura

El virus es transmitido por numerosas especies de áfidos en forma no persistente y en forma mecánica. Está agrupado en dos tipos, *PRSV-P* y *PRSV-W* (variantes de papayo y sandía). El primer tipo infecta tanto a papayo como a cucurbitáceas, mientras que el último tipo infecta solamente a las cucurbitáceas, causándoles grandes daños y fue referido anteriormente como el virus del mosaico de la sandía variante 1. Ambos tipos causan lesiones locales en *Chenopodium quinoa* y *Chenopodium amaranticolor* (Gonsalves, 1993).

Gonsalves *et al.* (2008) agruparon a este virus en la familia Potyviridae, es un virus ARN de plantas con un genoma de alrededor de 10.326 monocistrónicos nucleótidos, una terminal 5' que se expresa a través de una poliproteína. El componente de proteína consiste en la cubierta proteica del virus (CP), que tiene un peso molecular de aproximadamente 36 kDa según los cálculos del análisis por Western blot. La densidad del componente de sedimentación en preparaciones purificadas de *PRSV-p* es de 1.32 g / cm³ en CsCl (Savarni *et al.*, 2008).

2.3.3 Hospedantes

La gama de hospedantes para *PRSV-P* está limitada a tres familias: Caricaceae, Cucurbitaceae y Chenopodiaceae (Gonsalves 1993).

2.3.4 Síntomas

Vegas *et al.* (1985 a) afirman que el *PRSV-P*, en campo, alcanza grados de infección alto en periodos cortos de tiempo (meses), causando a veces pérdidas totales en la producción. En México se han registrado pérdidas de 5 a 100% en

algunos estados productores de este cultivo (De los Santos *et al.*, 2000). Las plantas jóvenes muestran aclaramiento de venas en las hojas más nuevas como resultado de la infección temprana con *PRSV-P*, pero en pocas semanas las hojas exhiben deformaciones, moteados y disminución del tamaño de los lóbulos una característica de la enfermedad es la presencia de lesiones de apariencia aceitosa sobre tallos y pecíolos, las que también se presentan en forma de anillos concéntricos sobre los frutos que también pueden presentar deformaciones (Sánchez y Martínez, 1998). Vegas *et al.* (1985 b) mencionaron, el desarrollo inicial de una clorosis en las hojas más jóvenes, seguida por el aclareo las nervaduras, encrespamiento, ampollamiento, moteado y reducción de la lámina foliar. En el tallo y los pecíolos se forman manchas grasientas alargadas de color verde oscuro. Los frutos se reducen de tamaño, se ampollan, se deforman y producen manchas grasientas en forma de anillo, característico de la enfermedad. Las plantas infectadas a edad temprana o antes de la floración no producen, pero rara vez mueren. Sin embargo, algunos aislamientos de otros países, como Taiwán, causan marchitamiento y ocasionalmente la muerte. Kiranmai *et al.* (1998), al identificar el virus causante de la enfermedad distorsión foliar (ringspot) del papayo, señalan que después de dos semanas de haber inoculado savia de plantas enfermas a plantas sanas en vivero, las plantas inoculadas mostraron una clorosis sistémica inicial, manchas aceitosas y mosaico. Subsecuentemente, desarrollaron hojas filiformes, arrugamientos y deformación apical. Asimismo Páez (2003) afirma que los frutos pueden deformarse, pierden el aroma y presentan descenso en el contenido de sólidos solubles. Gonsalves *et al.* (2008) afirman que las hojas infectadas muestran síntomas de mosaico a menudo distorsionadas, reducidas en su forma y raquílicas. La fruta infectada muestra síntomas de mancha anular.

2.4 Literatura citada

- Aubert, B., P. Lossois, J. Marchal, J. Rabaud y Boisvilliers, P. 1981. Mise en evidence des dégats causes par *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) sur papayer á l' île de la Réunion. Fruits 36(1): 9 – 24
- Baker, J. R. 1997. Cyclamen mite and broad mite. Ornamental and Turf Insect Information Notes. <http://www.ces.ncsu.edu/depts/ent/notes/O&T/flowers/note28/note28.html> (10 Noviembre 2010).
- Bautista, L.; Arnal, E.; Aponte, O. 2005. Relación forética de *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) y adultos de *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleyrodidae). Entomotropica 20(1): 79 - 80.
- Brunt, A. A.; Crabtree, K.; Dallowitz, M. J.; Gibbs, A. J.; Watson, L.; Zurcher, E. J. 1996. Plant Viruses on line: Descriptions and lists from the VIDE Database. Vision: 12th Noviembre, (2010). URL Lltip: //biology,annu. Edu. Au/Groups/MES/vide.
- CORSPAC, 2009. Corporativo de servicios profesionales en administración y consultoría. En: Informe de estudio de mercado para la comercialización de la papaya en el municipio de Acapulco. Gro. SAGARPA. Plan Rector del Sistema Producto Papaya. http://www.corspac.com/1_informe_final_estudio_mercado_limon_jamaica_mango_papaya.pdf (10 Noviembre 2010).
- Cross, J. V.; Bassett. P. 1982. Damage to tomato and aubergine by broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). Plant Pathology. 31: 391 - 393.
- De Coss, M. E. 1999. Morfología externa de ácaros del género *Polyphagotarsonemus* (Actinedida: Tarsonemidae) procedentes de la

región del Soconusco, Chiapas. Tesis de maestría en ciencias Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey. 97 p.

De los Santos, de la R.; Becerra, E. N. L.; Mosqueda, V. R.; Vázquez, H. A.; García, V. 2000. Manual de producción de papaya en el estado de Veracruz. Folleto Técnico No. 17, División Agrícola INIFAP-SAGAR-FVP. Veracruz, México 86 p.

Fasulo, R.T. 2007. Broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Bancos) (Arachnida: Acari: Tarsonemidae. University of Florida. <http://entomology.ifas.ufl.edu/creatures> (10 Noviembre 2010).

Ferreira, R.C.F.; De Oliveira, J. V.; Haji, F.N.P.; Manoel, G. C.; Gondin, Jr. 2006. Biology, thermal requirements and fertility life table of the broad mite *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae) in grape (*Vitis vinifera* L.) cv. Italia. Neotropical Entomology 35(1):126-132

Fritzons, S. N.; Souza, N. A. 2004. Pragas e seu controle. Mamac Productos. Frutas de Brasil. No. 3

Gerson, U. 1992. Biology and control of the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae). Experimental and Applied Acarology, 13: 163 - 178.

Gonsalves, D. 1993. Papaya ringspot virus (P-strain), in: Crop Knowledge Master. [http:// new in extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/papring.htm](http://new.in.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/papring.htm) (10 Noviembre 2010).

Gonsalves, D.; Suzuki, J. Y.; Tripathi, S.; Ferreira, S. 2008. Papaya Ringspot Virus (Potyviridae). Encyclopedia of Virology, 5 vols, 3rd Edition, vol. 4, p. 1- 8. Edited by B. Mahy & M. VanRegenmortel. Oxford:Elsevier.

- Hugon, R. 1983. Biologie et écologie de *Polyphagotarsonemus latus* Banks, ravageur sur agrumes aux Antilles. *Fruits* 38: 635 - 646.
- Jeppson, L. R.; Keifer, H. H.; Baker, E. W. 1975. *Mites Injurious to Economic Plants*. University of California Press, Berkeley. 614 p.
- Jones, V. P.; Brown, R. D. 1983. Reproductive responses of the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae), to constant temperature-humidity regimes. *Annals of Entomology Society of America* 76(3):466 – 469
- Kabir, A. K. M. F. 1979. Bioecology and behavior of yellow jute mite. In: J.G. Rodriguez (Editor), *Recent Advances in Acarology*, Vol. 1. Academic Press, New York, pp. 519 - 523.
- Karl, E. 1965. Untersuchungen zur Morphologie und Okologie von *Tarsonemus confusus* Ewing, *T. talpae* Schaarschmidt, *T. setifer* Ewing, *T. smithi* Ewing und gartnerischer Kulturpflanzen. II. *Hemitarsonemus latus* (Banks), *Tarsonemus Tarsonemoides belemnitooides* Weis-Fogh. *Biol. Zentralbl.* 84: 331 - 357.
- Kiranmai, G.; Hema, M.; Sreenivasulu, P. 1998. Identification of a virus causing leaf distortion disease of papaya in Andhra Pradesh as cucumber mosaic cucumovirus. *Indian Phytopathology* 51 (2):130 - 135
- Lavoipierre, M. M. J. 1940. *Hemitarsonemus latus* (Banks) (Acarina), a mite of economic importance new to South Africa. *Journal of Entomological Society of South Africa* 3: 116 - 123.
- Lindquist, E. E. 1986. The world genera of Tarsonemidae (Acari: Heterostigmata): a morphological, phylogenetic, and systematic revision, with a

reclassification of family-group taxa in the Heterostigmata. *Memories of Entomological Society of Canada* 136 -517.

Medina, J. C. 1989. Mameo: cultura, materia-prima, procesamiento e aspectos económicos. Instituto de tecnología de alimentos. Campinas, Brasil. 24 p.

Páez, R. A. R. 2003. Manejo del virus de la mancha anular de la papaya en la región Caribe colombiana. *Boletín Técnico* No. 8. Valledupar, Colombia. 34 p.

Pérez, C. 2008. Alimentación sana. Papaya, beneficios y propiedades en línea <http://www.natursan.net/papaya-beneficios-y-propiedades/> (21 Noviembre 2010).

Pérez, O. R.; Mansilla, V. J. P.; Salinero, C. M. C. 2007. First report of the broad mite *Polyphagotarsonemus latus* Banks on *Camellia japonica* in Spain. Estación Fitopatológica do Areeiro. Deputación Provincial de Pontevedra. pp. 52 - 56.

Ramos, M. 1986. Ciclo biológico de *Polyphagotarsonemus latus* (Acari: Tarsonemidae) en cuatro variedades de cítricos. *Revista Protección Vegetal Habana* 2:119 - 123.

Sánchez, de L. C.; Martínez, L. I. A. 1998. El virus de la mancha anular de la papaya (papaya ringspot *potyvirus*, PRSV) en Colombia. *Virología*. No. 17 Manizales, Colombia.

Santos, G. M. A.; Botta, E. F.; Alea, R. E. de la C. 2005. Catálogo acarológico de la Provincia de Sancti Spíritus. *Fitosanidad* 9(2): 12 - 18.

- Savarni, T.; Suzuki, J. Y.; Stephen, F. A.; Gonsalves, D. 2008. Patología molecular de plantas. *Molecular Plant Pathology* 9 (3): 269 - 280.
- Uygun, N.; Ulusoy, M. R.; Karaca, I. 1995. A citrus pest in the East Mediterranean region of Turkey, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acarina: Tarsonemidae). *Turkish Journal of Entomology* 19 (1): 247-252.
- Vegas, A. G.; Trujillo, G.; Cermeli, M. 1985a. Importancia, distribución e incidencia de los virus que afectan la lechosa *Carica papaya* L., en algunas zonas productoras del país. *Revista de la Facultad de Agronomía* 16:213 - 237.
- Vegas, A. G.; Cermeli, M.; Trujillo, G. 1985b. Áfidos relacionados con el virus de la mancha anillada de la lechosa en Venezuela. Presencia, transmisión y eficiencia. *Agronomía Tropical* 35 (1 - 3): 21:31.

CAPÍTULO III

MATERIAL Y MÉTODOS GENERALES

El experimento se realizó en una cámara de crecimiento con condiciones controladas de temperatura (28 y 30⁰C) y humedad relativa (60 a 70%) y fotoperiodo de 14 horas luz y 10 horas oscuridad.

3.1 Material biológico

3.1.1 Plantas de frijol

Para mantener la colonia de *P. latus*, se utilizó semilla de frijol *Phaseolus vulgaris* L. de mata variedad Jamapa. La siembra se realizó en un sustrato esterilizado de Growing Mix[®] y Agrolita (1000:100 g). Las semillas se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 6% (Cloralex[®]) durante 15 minutos, posteriormente se secaron y se sembraron en macetas de 1 L con el sustrato previamente mencionado. La siembra de frijol se hizo cada siete días para mantener constante la colonia de ácaros. Las plantas fueron regadas cada dos días.

3.1.2 Colonia de *Polyphagotarsonemus latus*

P. latus se obtuvo de una plantación de chile (*Capsicum annuum*) de la localidad del Papayo en la Costa Grande de Guerrero, México. Una vez confirmada la especie según claves taxonómicas para la familia Tarsonemidae (Lindquist, 1986), se colectaron las hembras adultas y depositaron en hojas jóvenes de plantas de frijol. Cuando las hojas de frijol infestadas maduraron, se cortaron y se colocaron sobre otras hojas de frijol jóvenes para que los ácaros se movieran a éstas.

3.1.3 Plantas de *Carica papaya*

Se obtuvieron semillas certificadas de papaya variedad Maradol roja a las cuales se les dio un tratamiento pregerminativo que consistió en remojarlas durante tres días en agua, la cual se renovó cada ocho horas. Al tercer día se aplicó 1g de N-

triclorometilto-4 ciclohexeno-1,2–dicarboximida (Captan^R 50 PH) por litro de agua. Posteriormente, las semillas se sembraron en charolas para constituir el almacigo; una semana después de germinadas se trasplantaron individualmente en vasos de unicel de 150 mL usando como sustrato Growing Mix^R y Agrolita esterilizados. Las plantas fueron regadas cada dos días con una solución nutritiva universal (Steiner, 1968).

3.1.4 Detección de *PRSV-P* mediante transcripción inversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR)

Para la detección de *PRSV-P* en las plantas usadas en los experimentos, se cortó una hoja de cada planta antes y después de realizar cada experimento. Las hojas fueron mantenidas a -20°C y posteriormente analizadas mediante RT-PCR. El ARN total de cada hoja fue extraído con Trizol (Sigma-Aldrich^R) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Antes de la reacción de transcripción inversa, se verificó la integridad del ARN de cada muestra mediante un gel desnaturalizante de formaldehído y la concentración de ARN determinada mediante un espectrofotómetro Nanodrop 2000^R (Thermo Scientific^R).

En la reacción de transcripción inversa se utilizaron 5 µg de RNA y 30 picomoles/µl del iniciador (primer) oligonucleótido 3' (Ruiz-Castro y Silva-Rosales 1997) en un volumen final de 14.5 µl, los cuales fueron incubados por 10 min a 70°C y 2 min a 4°C. Posteriormente, se agregó una mezcla de dideoxinucleótidos a una concentración de 10 mM más 0.5 µl de la enzima transcriptasa inversa SuperScript II (Invitrogen, United States), 5 µl de 5X del "First strand buffer" y 10 mM de DTT (incluida con la SuperScript II). La síntesis de ADN se realizó por 60 min a 42°C. La reacción de PCR se llevó a cabo al agregar el oligonucleótido 5' (Ruiz-Castro y Silva-Rosales 1997) a una concentración de 30 pmol, 50mM de MgCl₂, 5 unidades de Taq polimerasa (Quiagen, California, USA) con un volumen final de reacción de 50 µl. Las condiciones de reacción fueron un ciclo inicial de desnaturalización a 94°C durante 5 min, seguidos por 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 45 s, hibridación a 58°C durante 1 min, extensión a 72°C durante 2 min y un ciclo final de extensión a 72°C durante 7 min

en un termociclador (BIO-RAD). Los productos finales fueron teñidos con bromuro de etidio (10mg/μl), visualizados en un gel de agarosa y buffer TAE al 0.8% y finalmente fotografiados. En cada etapa de la detección de *PRSV-P* (transcripción inversa y PCR) se incluyó un testigo positivo (muestra conocida de *PRSV-P*) y un testigo negativo (agua destilada estéril libre de RNAsas), los cuales sirvieron para, primero, confirmar la validez de las reacciones tanto para confirmar la presencia y/o ausencia del virus, y segundo, para confirmar la no existencia de contaminación cruzada, respectivamente.

3.1.5 Determinación del área foliar

El área foliar se determinó de acuerdo con el método propuesto por O'neal *et al.* (2002). Las hojas se digitalizaron con un (escáner, HP ScanJet 4990^R), y posteriormente se procesaron las imágenes usando el software Adobe Photoshop SC3^R versión 10.0. Finalmente, el área foliar se obtuvo al convertir los píxeles a centímetros cuadrados mediante el software Image Tool^R versión 3.0.

3.2 Literatura citada

- Lindquist, E. E. 1986. The world genera of Tarsonemidae (Acari: Heterostigmata): a morphological, phylogenetic, and systematic revision, with a reclassification of family-group taxa in the Heterostigmata. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* 136: 1 - 517.
- O'Neal, E. M.; Landis, A. D.; Isaacs, R. 2002. An inexpensive, accurate method for measuring leaf area and defoliation through digital image analysis. *Journal of Economic Entomology* 95 (6): 1190 - 1194.
- Ruiz-Castro, S.; Silva-Rosales. L. 1997. Use of RT-PCR for papaya ringspotvirus detection in papaya (*Carica papaya*) plants from Veracruz, Tabasco and Chiapas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 15(2): 86 - 90.

Steiner, A. A. 1968. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15:134 -154.

CAPÍTULO IV

DAÑOS CAUSADOS POR LA INFESTACIÓN DE *Polyphagotarsonemus latus* (BANKS) A PLANTAS DE *Carica papaya* L.cv Maradol roja LIBRES DE *Papaya Ringspot Virus*

4.1 Introducción

P. latus se alimenta de las yemas en formación y hojas o frutos de sus huéspedes (Jeppson *et al.*, 1975). Los daños que ocasiona a la planta se manifiestan por una variedad de síntomas que se atribuyen a la toxicidad de su saliva (Gerson, 1992) y a la susceptibilidad de la variedad de planta de la que se está alimentando (Peña y Bullock, 1994). Cross y Bassett (1982) encontraron graves daños en tomate y berenjena cultivados en invernadero, determinaron que en las partes aéreas de las plantas infestadas se reducían sus márgenes y doblaban hacia abajo, mientras que las hojas apicales se observaban severamente distorsionadas. Asimismo, si el meristemo apical y las hojas jóvenes estaban muy infestadas por *P. latus*, los frutos se agrietaban y deformaban. Gerson (1992) afirmó que la variedad de síntomas en diferentes hospederos refleja reacciones específicas de la planta a dicho ácaro en su alimentación y en la toxina de su saliva. Mencionó, además que en forma general daña a las plantas mediante la reducción y deformación de hojas, flores y frutos. Peña y Bullock (1994) analizaron las lesiones que ocasiona *P. latus* en el crecimiento vegetativo de papa, frijol, naranja dulce y naranja ácida. En frijol observaron que el área foliar promedio fue 1.30 veces mayor en las plantas no infestadas que en las plantas infestadas, lo que indica que hubo una disminución significativa entre el área foliar y nivel de lesión. Concluyeron que el área foliar, en general, se redujo en la mayoría de las especies de plantas infestadas y señalaron que el número de hojas por planta y altura no se correlacionó significativamente con las lesiones del ácaro. De Coss-Romero y Peña (1998) observaron que los daños causados por *P. latus* en plantas de pimiento *Capsicum annuum* depende de la fenología de la planta. Además, mencionaron que los niveles altos de estrés de la planta, inducidos por este ácaro durante su alimentación, dieron lugar a reducciones en la cantidad y calidad de

fruto y afirmaron que esta reducción se debió al desarrollo del meristemo apical de las hojas jóvenes, que parecen ser más susceptibles que las plantas con mayor número de hojas maduras. Grinberg *et al.* (2005) caracterizaron el daño de *P. latus* en pepino (*Cucumis sativus*) y observaron una severa reducción en las plantas con respecto a la altura y número de hojas. Las hojas nuevas que se desarrollaron con infestación de ácaros crecieron menos que las del testigo. A 18 días después de la infestación hubo una correlación negativa significativa entre la rigidez de las hojas y el área foliar infestada. Además, observaron que, en las hojas infestadas, la epidermis inferior desapareció, mientras que la epidermis superior se deshizo y desapareció por completo después de 18 días. Al mismo tiempo, las células del mesófilo de las hojas infestadas parecían más grandes, con espacios intercelulares pequeños. La epidermis de hojas infestadas se secó debido a los altos niveles de sustancias fenólicas de lignina y suberina. Finalmente, señalan que en las deformaciones de las paredes celulares, también se observaron espacios intercelulares con lignina y suberina. Broughton (2007) menciona que los daños causados por este ácaro en tangelos son de color gris plateado, señala también que estos mismos síntomas se observan en limón, limas, pomelos, naranjas y mandarinas.

En papayo *P. latus* afecta la parte apical de la planta prefiriendo el tejido nuevo y en crecimiento, aunque también ataca a los rebrotes y retoños nuevos de la planta; ocasiona daños a los botones florales, los que llegan a distorsionarse y a abortar. Este ácaro se alimenta tanto del haz como en el envés de las hojas, las cuales se tornan cloróticas, casi reducidas a las nervaduras, asemejando a los síntomas iniciales del virus mancha anular del papayo (*PRSV-P*), (Jensen, 1949; Waterhouse y Norris, 1987; Téliz *et al.*, 1991; Gonsalves, 1998). Este virus, al infectar plantas de papayo, también puede causar aclaramiento de las venas en las hojas más nuevas, amarillamiento y manchas aceitosas en hojas, tallos y peciolas y deformación de hojas. En frutos se observan manchas anulares, reducción de tamaño y deformación (Ridings, 1978; Téliz *et al.*, 1991; Sánchez y Martínez, 1976; Kiranmai *et al.*, 1998).

Uno de los síntomas más graves atribuidos al virus de la mancha anular del papayo es la reducción severa del área foliar, que deja a las hojas reducidas prácticamente a las nervaduras. Sin embargo, al parecer estos síntomas pueden ser fácilmente confundidos por los daños causados por el ácaro blanco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks), el cual daña al papayo cuando se alimenta de las hojas nuevas durante la brotación, y como resultado del ataque, las hojas se tornan cloróticas, casi reducidas a las nervaduras (Acuña y Agostini, 2000). En el sureste de México estos síntomas se denominan “mano de mono” o “mano de chango” y existen evidencias de que los síntomas los causa el ácaro blanco *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (De Coss, 2006), en vez del virus de la mancha anular. Estas evidencias están soportadas además por el trabajo de Aubert *et al.* (1981), quienes encontraron síntomas parecidos a la “mano de mono” en la Isla de la Reunión, territorio francés en el Océano Índico, en plantas de papayo infestadas por el ácaro *P. latus* y al parecer libres del virus de la mancha anular, pues éste no estaba presente en el área donde se desarrolló dicha investigación.

Debido a que los síntomas de reducción de la lámina foliar de las hojas del papayo, en sus diversas expresiones denominadas “pata de ganso”, “mano de mono” o “mano de chango”, han sido atribuidos al virus de la mancha anular del papayo y también al ácaro *P. latus*, se realizó esta investigación con el siguiente objetivo:

Determinar el daño causado por la infestación de *P. latus* en el área foliar de plantas de papayo libres de *PRSV-P*

Hipótesis: La reducción foliar en las hojas de papayo es debido a la infestación de *Polyphagotarsonemus latus*.

4.2. Material y métodos

4.2.1 *Polyphagotarsonemus latus*

La cría de *P. latus* fue mantenida en las condiciones mencionadas anteriormente en la sección 3.1.2. Para desarrollar colonias en plantas de papayo se

seleccionaron los folíolos de hojas trifoliadas de plantas de frijol infestadas con ácaros en donde se observaron principalmente hembras adultas y pocas exuvias. Para transferir el número deseado de hembras adultas a las hojas de papayo, se eligieron folíolos de hojas jóvenes de frijol, se contabilizaban y se dejaba el número exacto de cada tratamiento; estos folíolos se dejaron durante 24 h sobre las hojas de papayo más jóvenes para que los ácaros se pasaran a éstas. Al término de este tiempo se retiraron los folíolos de frijol ya deshidratados.

4.2.2 Plantas de *Carica papaya*

Las plantas de papayo utilizadas para este experimento se utilizaron como se mencionó en el apartado 3.1.3. Las plantas fueron utilizadas para los experimentos si contaban al menos con tres pares de hojas verdaderas. En general, la mayoría de las plantas presentaron tres pares de hojas verdaderas al inicio del experimento, aunque hubo algunas con cuatro o seis pares. Sin embargo, todas ellas fueron distribuidas de manera uniforme en todos los tratamientos. Una vez distribuidas en los tratamientos y antes de inocular a los ácaros, se procedió a medir el ancho del tallo y la altura de las plantas. Cabe hacer mención que todas las plantas fueron minuciosamente inspeccionadas antes de iniciar los experimentos para corroborar que no presentaran síntomas de alguna enfermedad o la presencia de alguna plaga. Las plantas fueron regadas cada tres días con 100 ml de solución nutritiva universal de Steiner (1968).

4.2.3 Diagnóstico de *PRSV-P* mediante RT-PCR

Para determinar que las plantas usadas en los experimentos estuvieran libres de *PRSV-P* se colectó una hoja de cada planta (la hoja inmediatamente anterior a la hoja en donde se añadieron los ácaros), la cual se almacenó en toallas de papel a -20°C para su posterior análisis mediante RT-PCR. Asimismo, al final del experimento se volvió a tomar otra hoja de cada planta (la más joven) para determinar si estaban libres de *PRSV-P*. Todas las hojas fueron procesadas de acuerdo al método descrito en la sección 3.1.4.

4.2.4 Efecto de *Polyphagotarsonemus latus* en el área foliar de plantas de papayo libres de PRSV-P

Para determinar el daño causado por la infestación de *P. latus* en plantas de papayo libres de PRSV-P, se infestaron plantas de papayo con 10, 20 y 30 hembras adultas de *P. latus* y un testigo al cual no se añadió ningún ácaro.

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar y se repitió en dos ocasiones diferentes. Los datos de área foliar, ancho del tallo y altitud de las plantas se analizaron mediante una prueba ANOVA con el paquete estadístico GenStat (v8.2).

4.2.5 Evaluación del experimento

Las plantas utilizadas en los tratamientos fueron revisadas minuciosamente a las 24 h bajo un microscopio estereoscópico para corroborar el establecimiento de las hembras de *P. latus*. Posteriormente, fueron revisadas semanalmente para verificar el daño causado por los ácaros. Las observaciones continuaron durante diez semanas. Al término de este periodo, se midió el diámetro del tallo y la altura de las plantas, se fotografiaron y registraron los cambios que sufrieron durante el desarrollo del experimento; y finalmente, se cortaron todas las hojas, iniciando de la hoja en la que se inocularon los ácaros, para medir el área foliar, la que fue determinada tal y como se especificó en la sección 3.1.5.

4.3 Resultados

Los valores del área foliar en la primera y segunda repetición presentaron diferencias estadísticas significativas entre ellos ($F_{1,626} = 339.8$; $P < 0.001$) por lo que el análisis estadístico se realizó de manera independiente para cada experimento. En cuanto a la reducción del área foliar entre los diferentes tratamientos en el primer experimento (primera repetición), se encontró una diferencia estadística significativa entre ellos ($F_{3,241} = 8.51$; $P < 0.001$). La mayor área foliar se obtuvo en el testigo (51.4 cm^2) y la menor área foliar se obtuvo en el tratamiento 3, en donde se inocularon 30 ácaros (41.97 cm^2) (Figura 4.1).

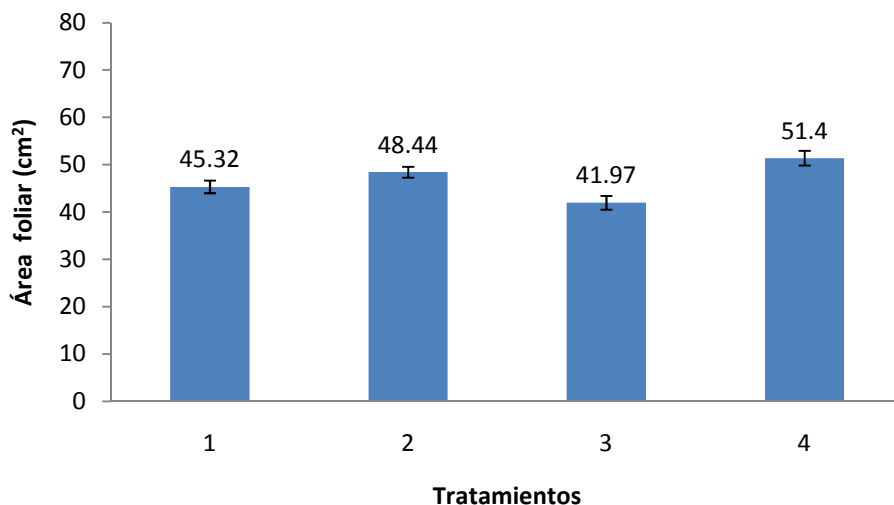


Figura 4.1. Área foliar de plantas de papayo *Carica papaya* L. de los diferentes tratamientos realizados en el experimento (primera repetición). T1= 10 ácaros; T2= 20 ácaros; T3= 30 ácaros y T4= testigo. Los valores sobre las barras representan la media. La barra de error representa el error estándar de la media.

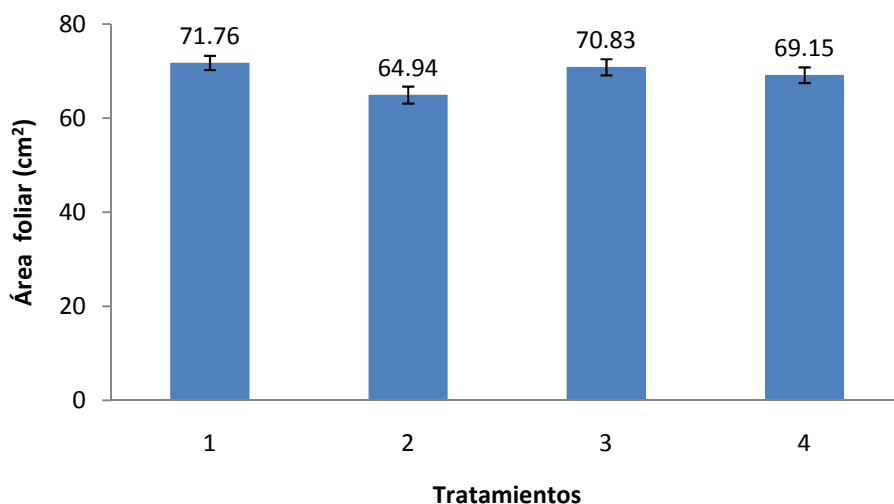


Figura 4.2. Área foliar de plantas de papayo *Carica papaya* L. de los diferentes tratamientos realizados en el experimento (segunda repetición). T1= 10 ácaros; T2= 20 ácaros; T3= 30 ácaros y T4= testigo. Los valores sobre las barras representan la media. La barra de error representa el error estándar de la media.

En la segunda repetición, se observó una diferencia estadística entre los tratamientos ($F_{3,370} = 2.7$; $P=0.045$). Sin embargo, la mayor área foliar se obtuvo en el tratamiento 3 (30 ácaros) (70.83 cm^2) y la menor en el tratamiento 2, en donde se añadieron 20 ácaros (64.94 cm^2) (Figura 4.2).

Con respecto a las variables diámetro de tallo y altitud de las plantas, al realizar el análisis antes de iniciar la primera repetición del experimento, se encontró que no hubo diferencias significativas de estas dos variables en las plantas usadas entre los tratamientos ($F_{3,26} = 1.36$; $P=0.277$; $F_{3,26} = 1.19$; $P=0.332$, respectivamente). Al final del experimento se encontraron diferencias estadísticas significativas en la variable altitud entre los tratamientos ($F_{3,26} = 19.84$; $P<0.001$). La mayor altura se obtuvo en el tratamiento 4 (22.75 cm) (testigo) y la menor con el tratamiento 3 (7.92 cm) (Figura 4.3). Con respecto a la variable diámetro del tallo, también se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos ($F_{3,26} = 7.95$; $P<0.001$); sin embargo, el mayor diámetro del tallo se obtuvo en el tratamiento 3 (30 ácaros) (Figura 4.4).

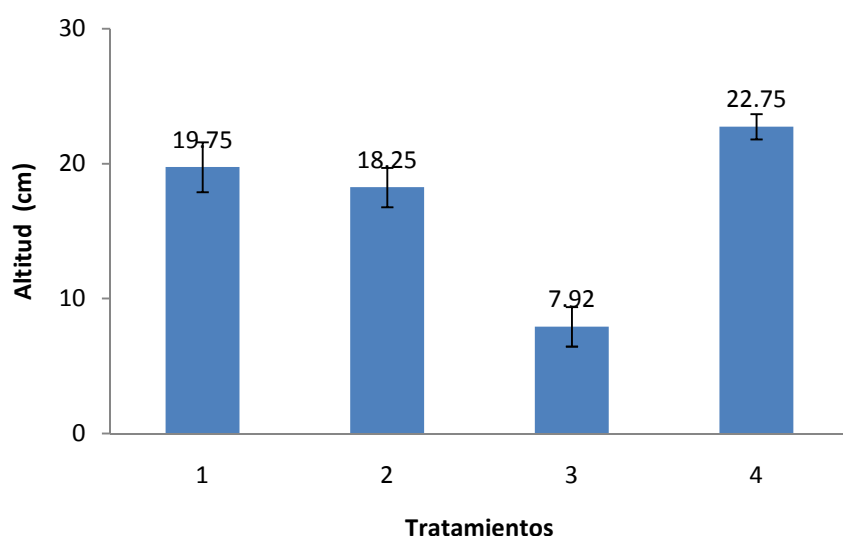


Figura 4.3. Altitud de plantas de papayo *Carica papaya* L. afectadas por la infestación de *P. latus*. En el experimento (primera repetición). T1= 10 ácaros; T2= 20 ácaros; T3= 30 ácaros y T4= testigo. Los valores sobre las barras representan la media. La barra de error representa el error estándar de la media.

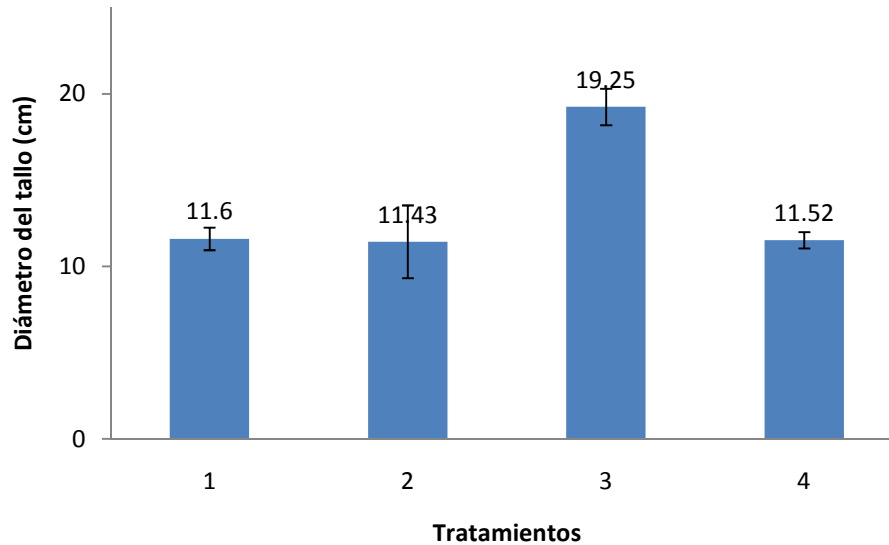


Figura 4.4. Diámetro de plantas de papaya *Carica papaya* L. afectadas por la infestación de *P. latus*. En el experimento (primera repetición). T1= 10 ácaros; T2= 20 ácaros; T3= 30 ácaros y T4= testigo. Los valores sobre las barras representan la media. La barra de error representa el error estándar de la media.

Cabe destacar que durante el desarrollo del experimento se observó que la población de *P. latus* se desplazó a la zona meristemática (hoja más joven) cuando ésta ya tenía bien definida la lámina foliar; a pesar de que las plantas siempre exhibieron crecimiento foliar continuo, la población de *P. latus* desaparecía repentinamente pero dejaba el daño en las hojas en donde se había alimentado (Figura 4.5).

El análisis de RT-PCR mostró que el virus no estuvo presente en ninguna de las plantas experimentales empleadas (Figura 4.6), lo cual confirmó que la sintomatología cuantificada y observada fue atribuible al efecto de la alimentación del ácaro.

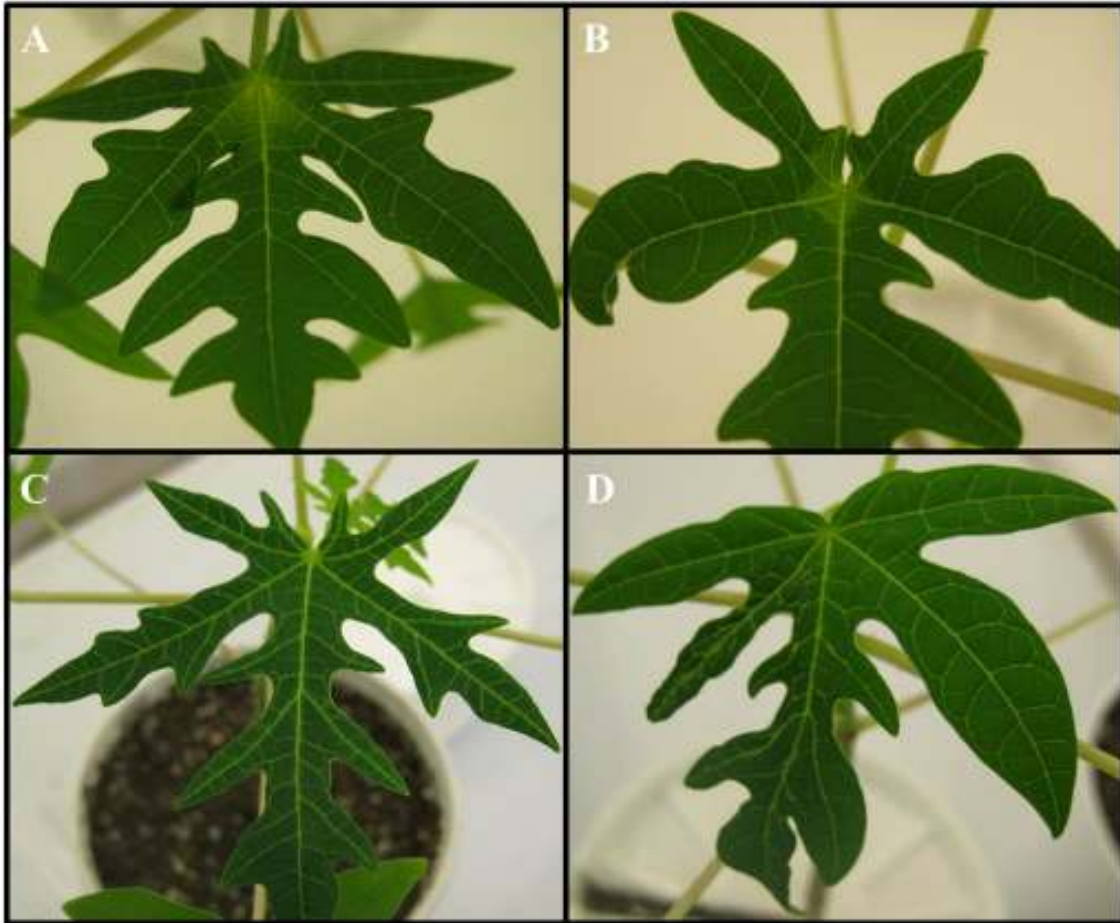


Figura 4.5. Daños causados a plantas de papayo *Carica papaya* L. con infestación artificial por 30 hembras en cámara de crecimiento. A y B) Clorosis en la parte central al inicio de la nervadura central. C) Reducción del área foliar y aclaramiento de las nervaduras. D) Deformación de la lámina foliar y cambio de la estructura de las nervaduras.



Figura 4.6. Ejemplo de reacciones de RT-PCR que confirman la ausencia de *PRSV-P* en el papayo *Carica papaya* L. usadas antes (líneas 1-8) y después (líneas 9-16) de realizar el experimento. La primera línea de la izquierda corresponde al marcador de peso molecular 1kb. La que le continúa es el testigo negativo (agua destilada estéril). La tercera línea corresponde a una muestra positiva de *PRSV-P*. La última línea corresponde al marcador de peso molecular 100pb.

4.4 Discusión

En general, los resultados obtenidos en el primer experimento muestran que hubo una reducción en el área foliar de las plantas inoculadas con ácaros comparados con el testigo, lo cual concuerda con lo reportado por otros autores (De Coss 2006; De Coss-Romero y Peña 1998), pero no se encontró una relación directa en el grado de reducción foliar y la densidad inicial de ácaros inoculados, ya que se observó en la primera repetición que tanto en el tratamiento en donde se inocularon 10 como en el que se inocularon 20, el área foliar fue muy similar. En la segunda repetición se observó que el área foliar de los tratamientos en los que se infestaron 10 y 30 ácaros fue también muy similar. En la primera repetición sí observamos que la reducción foliar fue mayor en el tratamiento 3, en donde se

inocularon 30 ácaros, y en la segunda repetición fue en el tratamiento 2, en donde se inocularon 20 ácaros. Por lo que consideramos que estas reducciones del área foliar pudieron haber sido consecuencia de las diferencias en incrementos poblacionales de cada grupo de hembras inoculadas en las diferentes plantas, ya que a pesar de haberse confirmado el establecimiento de los ácaros en cada planta, ya no se tuvo control sobre el incremento de la población. Esto se confirmó al observar que los ácaros del tratamiento 2 invadieron un área más grande de las hojas que los que se establecieron en el tratamiento 3; asimismo, las colonias establecidas en el tratamiento 2 vivieron más tiempo que en el tratamiento 3. La inconsistencia en los patrones de disminución de área foliar entre las dos repeticiones sugiere que no solo las diferencias en los niveles de población de ácaros inoculadas en las plantas juegan un papel importante, sino que existe una interacción compleja posiblemente con otros factores como por ejemplo la edad del hospedante vegetal. En la segunda repetición, las plantas tenían cuatro semanas más de edad que las empleadas en la primera repetición, y a pesar de que cumplían con los requisitos de rango de edad y número de hojas verdaderas, esta ligera diferencia en edad podría haber influenciado en esta inconsistencia; sin embargo, se requiere de mayor experimentación obtener resultados más concluyentes a este respecto.

A pesar de observar una reducción del área foliar ésta no tuvo la magnitud que describieron De Coss (2006) y Aubert *et al.* (1981). Esta diferencia puede deberse a la cantidad de ácaros añadidos, ya que estos investigadores experimentaron con un mayor número de ácaros por planta.

Los datos de altitud y diámetro del tallo se consideraron como variables a evaluar debido a que existen reportes del efecto negativo de la infestación de *P. latus* en el desarrollo de las plantas. El no encontrar diferencias estadísticas de estas variables entre los tratamientos al inicio del experimento, nos confirmó que las plantas fueron distribuidas de manera uniforme entre éstos. Sólo se presentan los datos de diámetro y altitud de las plantas para la primera repetición.

Al evaluar la altitud de las plantas al final del experimento, se observó que las plantas a las que se les inocularon 30 ácaros tuvieron una disminución significativa

en comparación con el testigo, lo cual concuerda con lo reportado por Peña y Bullock (1994); De Coss-Romero y Peña (1998); Gringberg (2005) y De Coss (2006).

Contrariamente a la variable altitud, aparentemente el diámetro del tallo se incrementó con la infestación de *P. latus*, ya que en el tratamiento 3 en donde se inocularon 30 ácaros las plantas presentaron el mayor diámetro. Estos resultados concuerdan con lo reportado por De Coss (2006) quien observó que en plantas de papayo con tres pares de hojas, el diámetro de los tallos de plantas infestadas con *P. latus* fueron más grande que en las plantas testigo.

Los daños cualitativos observados, como la clorosis de la parte central de las hojas, el aclaramiento y cambio de la estructura de las nervaduras y la deformación de las hojas, coinciden con los daños descritos por De Coss (2006). Sin embargo, otros daños atribuidos a *P. latus* como epinastia en pecíolos, rizado del borde foliar en hojas formadas, pecíolos abatidos, venación con apariencia de cicatrices, primordios foliares deformados, tejido del limbo limitado a nervaduras (mano de mono) y necrosis de los tejidos apicales, descritos también por De Coss (2006), no fueron observados durante el desarrollo de este experimento, debido quizá a que la cantidad de ácaros utilizados fue considerablemente menor a los utilizados por De Coss (2006) en sus experimentos.

Los resultados del análisis de RT-PCR realizado en todas las plantas de este experimento, antes y después del mismo, indican que no hubo presencia de *PRSV-P*, por lo que consideramos que los daños observados en las plantas de papayo son atribuibles al ácaro y no a un efecto del virus.

4.5 Literatura citada

Acuña, L. E.; Agostini, J. P. 2004. Búsqueda del agente causal de los síntomas del mosaico del mamón *Carica papaya* L. Revista Citrumisiones (29): 17- 20.

Aubert, B., P. Lossois, J. Marchal, J. Rabaud y Boisvilliers, P. 1981. Mise en evidence des dégats causes par *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) sur papayer á l' île de la Réunion. Fruits 36(1): 9 – 24

- Broughton, S. 2007. Mites in Citrus. Entomologist. Department of Agriculture and Food. Farmnote Note 225. Western Australia.
- Cross, J. V.; Bassett, P. 1982. Damage to tomato and aubergine by broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). Plant Pathology 31: 391- 393.
- De Coss, F. M. E. 2006. Bioecología y herbivoría del ácaro *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) en *Carica papaya* L. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Chiapas, pp. 121.
- De Coss-Romero, M.; Peña, J. E. 1998. Relationship of broad mite (Acari: Tarsonemidae) to host phenology and injury levels in *Capsicum annuum*. Florida Entomologist. 81 (4): 515 - 526.
- Gerson, U. 1992. Biology and control of the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae). Exp. Appl. Acarology, 13: 163-178.
- Gonsalves, D. 1998. Control of *papaya ringspot virus* in papaya: a case study. Annual Review of Phytopathology 36:415 – 37.
- Grinberg, M.; Perl-Treves, R.; Palevsky, E.; Shomer, L. L.; Soroker, V. 2005. Interaction between cucumber plants and the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus*: from damage to defense gene expression. Entomologia Experimentalis et Applicata 115: 135 – 144.
- Jensen, D. D. 1949. Papaya virus diseases with especial reference to papaya ringspot. Phytopathology 39: 191- 211.
- Jeppson, L. R.; Keifer, H. H.; Baker, E. W. 1975. Mites injurious to economic plants. University of California Press. Berkeley, pp. 614.

- Kiranmai, G.; Hema, M.; Sreeniv, P. 1998. Identification of a virus causing leaf distortion disease of papaya in Andhra Pradesh as cucumber mosaic cucumovirus. *Indian Phytopathology* 51 (2): 130 - 135.
- Nemesthoty, K. K., Volcsansky, E. y Simon, N. 1982. Influence of damage of the mites *Tarsonemus pallidus* Banks and *Polyphagotarsonemus latus* Banks (Acari: Tarsonemidae) on the morphological properties of fatshedera and hedera leaves. *Novennyvedelem*. 18: 437- 442.
- Peña, J.E. 1999. Broad Mite: Damage and Control. *Acarology IX, Vol.2 Symposia*. Editores: Needham, G. R., R. Mitchell, D. J. Horn y W.C. Welbourn. The Ohio Biological Survey Columbus, Ohio 43210.
- Peña, E. J.; Bullock, C. R. 1994. Effects of feeding of broad mite (Acari: Tarsonemidae) on vegetative plant growth. *Florida Entomologist* 77(1): 180 - 184.
- Ridings, W. H.; Zettler, F. W.; Conover, R. A. 1978. Distortion ringspot of papaya. *Plant Pathology Circular* No. 184. pp. 1- 2.
- Sánchez, D. L. C.; Martínez, L. G. 1976. Algunas observaciones sobre el virus de la mancha anular de la papaya en Colombia. *Noticias Fitopatológicas* 5(2): 62 - 73.
- Steiner A. A. 1968. Soil less culture. *Proceedings of the 6th Colloquium of international Potash Institute*. Florence Italy Published by International Potash Institute Berne Switzerland. pp. 324 – 341
- Téliz, O. D.; Mora, A. A.; Nieto, A. D.; Gonsalves, D.; García E.; Matheis, L.; Avila, C. 1991. La mancha anular del papayo en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 9: 64 - 68.

Waterhouse, D. F.; K. R. Norris. 1987. *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). In:
Biological Control Pacific Prospects. Inkata Press: Melbourne, pp. 454.

CAPÍTULO V
DAÑOS CAUSADOS POR LA ASOCIACIÓN DEL *Papaya Ringspot Virus*
y *Polyphagotarsonemus latus* EN EL ÁREA FOLIAR
DE PLANTAS DE *Carica papaya* L. cv Maradol roja

5.1 Introducción

Polyphagotarsonemus latus (Banks) (Acari: Tarsonemidae) es una especie de importancia económica por ser de hábitos polífagos, ya que puede alimentarse de cultivos como papa *Solanum tuberosum*, frijol *Phaseolus vulgaris*, pimiento *Capsicum annum*, pepino *Cucumis sativus*, berenjena *Solanum melongena*, calabaza *Cucurbita pepo*, tomate *Solanum lycopersicum*, papaya *Carica papaya*, melón *Cucumis melo*, maracuyá *Passiflora edulis*, *Passiflora* spp., guayaba *Psidium guajava*, mango *Mangifera indica*, cítricos *Citrus* spp., entre otros (Cross y Bassett, 1982; Gerson, 1992; Peña y Bullock, 1994; De Coss-Romero y Peña 1998). Se alimenta de las yemas en formación, de hojas o frutos de sus huéspedes (Jeppson *et al.*, 1975). Los daños que ocasiona se manifiestan por una variedad de síntomas que se atribuyen a la toxicidad de su saliva (Gerson, 1992) y a la susceptibilidad de la variedad de planta de la que se está alimentando (Peña y Bullock, 1994). En general, se le encuentra en el envés de las hojas jóvenes, en donde perfora la epidermis de la lámina foliar para succionar su contenido celular (Jeppson *et al.*, 1975); se ha sugerido que esta acción ocasiona la formación de manchas descoloridas en las hojas que aumentan con la intensidad de alimentación de la población. Asimismo, la lámina foliar de las hojas comienza a distorsionarse hasta deformarse o sus orillas se enroscan hacia adentro (epinastia) (Cross y Bassett, 1982; Gerson, 1992; Peña y Bullock, 1994; De Coss-Romero y Peña, 1998). En infestaciones severas se inhibe el crecimiento del tallo y la producción de frutos (Collier *et al.*, 2004).

En México, el cultivo de papayo (*Carica papaya*) tiene una gran importancia socioeconómica, ya que en los últimos cuatro años ha ido en aumento la superficie cultivada. Durante 2007 se cultivaron 22,451 ha de las que se produjeron 821,540 toneladas de fruta. Como resultado de dicha producción, México ocupó el tercer

lugar a nivel mundial en producción de papaya y primer lugar como exportador (37%) (Cadena Agroalimentaria 2006; FAO 2007).

En papayo, *P. latus* puede ocasionar reducción de la lámina foliar casi hasta las nervaduras, así como deformación de hojas (Aubert *et al.*, 1981; Medina, 1989; Acuña y Agostini, 2000; De Coss, 2006), síntomas que también se han atribuido a la infección por el *Virus de la mancha anular del papayo (PRSV-P)*, (Jensen, 1949; Téliz *et al.*, 1991; Gonsalves, 1998). Este virus, también puede causar aclaramiento de venas en las hojas más nuevas, amarillamiento, manchas aceitosas en hojas, tallos y peciolo y deformación de hojas en plantas de papayo. En frutos se observan manchas anulares, reducción de tamaño y deformación (Ridings, 1978; Téliz *et al.*, 1991; Sánchez y Martínez, 1976; Kiranmai *et al.*, 1998).

Los trabajos mencionados anteriormente mencionan a *P. latus* y al *PRSV-P* como agentes causales independientes de dicha deformación y sin considerar la posible interacción entre ellos. Es importante determinar cuál es el agente causal de la deformación foliar para poder establecer una estrategia de manejo adecuada, ya que la atribución errónea de un complejo de síntomas (síndrome) a cierto agente causal, puede ocasionar una incorrecta selección de un método de control y un manejo deficiente del agente causal de la enfermedad.

Objetivo: Estudiar los daños que causa la presencia simultánea de *P. latus* y el *PRSV-P* en el área foliar de plantas de papayo.

Hipótesis: La reducción foliar en las hojas de papayo es causada por la asociación de *P. latus* con el *PRSV-P*.

5.2 Material y métodos

5.2.1 *Polyphagotarsonemus latus*

La cría de *P. latus* fue mantenida en las condiciones mencionadas en la sección 3.1.2. Para la infestación de las plantas de papayo se seleccionaron los folíolos de hojas trifoliadas de frijol infestadas con ácaros en donde se observaron

principalmente hembras adultas y pocas exuvias. Para transferir el número deseado de hembras adultas a las hojas de papayo, se elegían folíolos de hojas de frijol jóvenes, se contabilizaban y se dejaba el número exacto que correspondía a cada tratamiento; estos folíolos se dejaban durante 24 h sobre las hojas de papayo más jóvenes para que los ácaros se desplazaron a éstas. Al término de este tiempo se retiraban los folíolos de frijol ya deshidratados.

5.2.2 Plantas de *Carica papaya*

Las plantas de papayo utilizadas para este experimento fueron obtenidas como se menciona en el apartado 3.1.3. Las plantas utilizadas para los experimentos si contaban al menos con tres pares de hojas verdaderas; en general, las plantas presentaban tres pares de hojas verdaderas al inicio del experimento, aunque hubo algunas con cuatro o seis pares. Sin embargo, todas ellas fueron distribuidas de manera uniforme en todos los tratamientos. Una vez distribuidas en los tratamientos y antes de inocular a los ácaros, se procedió a medir el ancho del tallo y la altura de cada planta. Las plantas fueron minuciosamente inspeccionadas antes de los experimentos para corroborar que no presentaran síntomas de alguna enfermedad o la presencia de alguna plaga y regadas cada tres días con 100 ml de solución nutritiva universal de Steiner (1968).

5.2.3 Inoculación de *PRSV-P* a plantas sanas de *Carica papaya*

PRSV-P fue inoculado mediante el raspado con un hisopo estéril que contenía una suspensión de *PRSV-P* en agua destilada estéril. El raspado se hizo sobre la lámina foliar de una hoja preseleccionada, hasta que ésta quedara translúcida (Figura 5.1). El inóculo de *PRSV-P* se obtuvo a partir de 1 g de hojas de plantas infectadas con *PRSV-P*, las cuales se molieron con 3 ml de agua destilada estéril (Silva-Rosales, comunicación personal, 3 de diciembre de 2009).



Figura 5.1. Inoculación mecánica de *PRSV-P* en papayo *Carica papaya* L. A) Hisopo utilizado para raspar la lámina foliar. B) Apariencia de la hoja después de la inoculación.

5.2.4 Diagnóstico de *PRSV-P* mediante RT-PCR

Para determinar que las plantas usadas en los experimentos estuvieran libres de *PRSV-P* se colectó una hoja de cada planta (la inmediatamente anterior a la hoja infestada artificialmente con ácaros), la cual se almacenó en toallas de papel a -20°C para su posterior análisis mediante PCR. Asimismo, al final del experimento se volvió a tomar otra hoja de cada planta (la más joven) para determinar si estaban libres de *PRSV-P*. Las hojas fueron procesadas de acuerdo al método descrito en la sección 3.1.4.

5.2.5 Efecto de *Polyphagotarsonemus latus* en combinación con *PRSV-P* en el área foliar de plantas de papayo

Para determinar los daños que causa la infestación de *P. latus* en plantas de papayo en combinación con *PRSV-P* se formaron diferentes tratamientos que consistieron en colocar 30 hembras adultas por planta, tal y como se describe en la sección 5.2.1, e inocularon plantas sanas con una extracto de plantas infectadas con *PRSV-P* (5.2.3), para lo cual se evaluaron los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1. Plantas inoculadas con *PRSV-P*.

Tratamiento 2. Plantas infestadas con 30 ácaros.

Tratamiento 3. Plantas inoculadas con agua destilada con un procedimiento similar al descrito para la inoculación viral según sección 5.2.3

Tratamiento 4. Plantas inoculadas con *PRSV-P* e infestadas con 30 ácaros.

Tratamiento 5 (Testigo). Sin ácaros y sin virus.

Los tratamientos estuvieron distribuidos en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones para cada tratamiento, dentro de la cámara de cría. El experimento se repitió dos veces en diferentes fechas.

5.2.6 Evaluación del experimento

Las plantas utilizadas en todos los tratamientos fueron revisadas minuciosamente a las 24 h bajo un microscopio estereoscópico para corroborar el establecimiento de las hembras de *P. latus*. Posteriormente, fueron revisadas semanalmente para verificar el daño causado por los ácaros y la infección viral. Las observaciones continuaron durante diez semanas. Al término de este periodo, se midió el diámetro del tallo y altura de plantas, se fotografiaron y registraron los cambios que sufrieron durante el desarrollo experimental, y finalmente, se colectaron todas las hojas de las plantas, a partir de la hoja (progresivamente, hacia arriba) en la que se inocularon los ácaros, para medir el área foliar, la que fue determinada tal y como se especificó en la sección 3.1.5.

5.3 Resultados

Los resultados obtenidos del área foliar en los experimentos 1 y 2 del experimento no presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($F_{1,498} = 0.57$; $P = 0.451$), por lo que el análisis estadístico se realizó considerando ambas repeticiones como un solo experimento. En cuanto a la reducción del área foliar entre los diferentes tratamientos, se observó una diferencia estadística entre ellos ($F_{4,495} = 20.16$; $P < 0.001$), con una mayor área foliar en el testigo absoluto (108.6 cm^2) y la menor área foliar en el tratamiento 4, en donde se inocularon 30 ácaros y el extracto del virus (81.35 cm^2) (Figura 5.2).

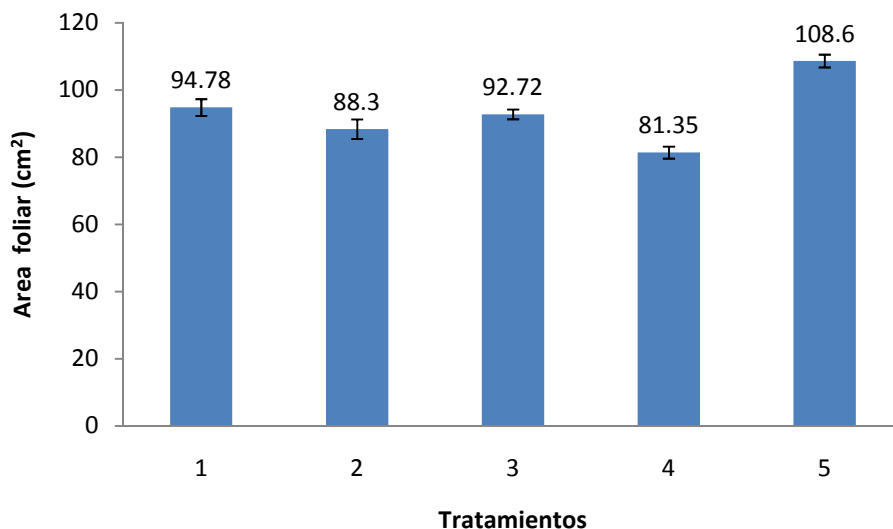


Figura 5.2 Área foliar de papayo *Carica papaya* L. afectadas por la infestación de *P. latus*. T1= Inoculación de PRSV-P; T2= 30 ácaros; T3= inoculación de agua destilada; T4= 30 ácaros + inoculación de PRSV-P y T5= plantas testigo sin hembras de *P. latus* ni PRSV-P. Los valores sobre las barras representan la media. La barra de error representa el error estándar de la media.

Con respecto al diámetro de tallo y altitud de las plantas, se observó que no hubo diferencias significativas entre las plantas usadas en todos los tratamientos, al iniciar ($F_{4,46} = 0.71$; $P=0.591$; $F_{4,46} = 0.03$; $P=0.998$, respectivamente) (Figura 5.3 A y 5.4 A), ni ó al término del experimento ($F_{4,46} = 1.15$; $P=0.346$; $F_{4,46} = 0.54$; $P=0.705$) (Figura 5.3 B y 5.4 B).

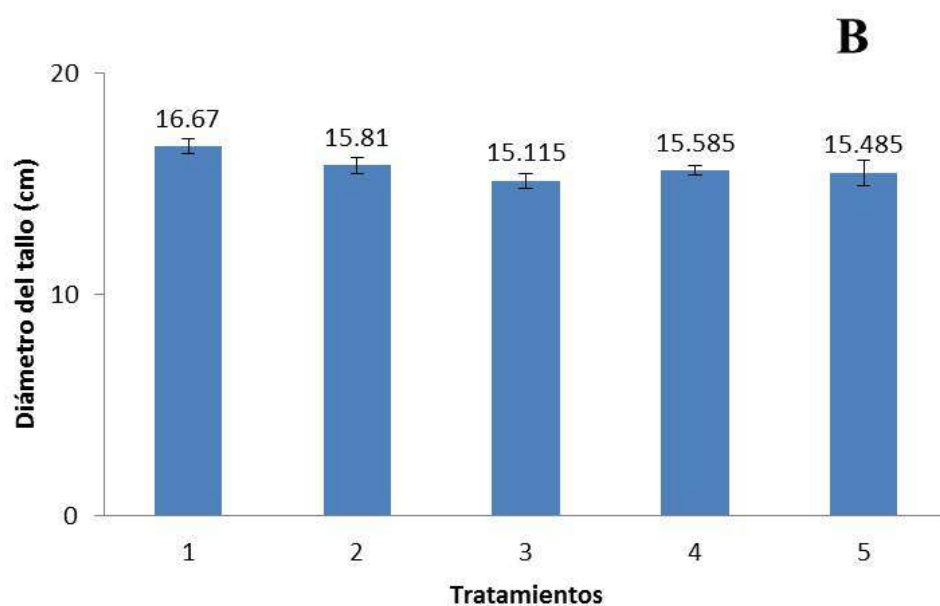
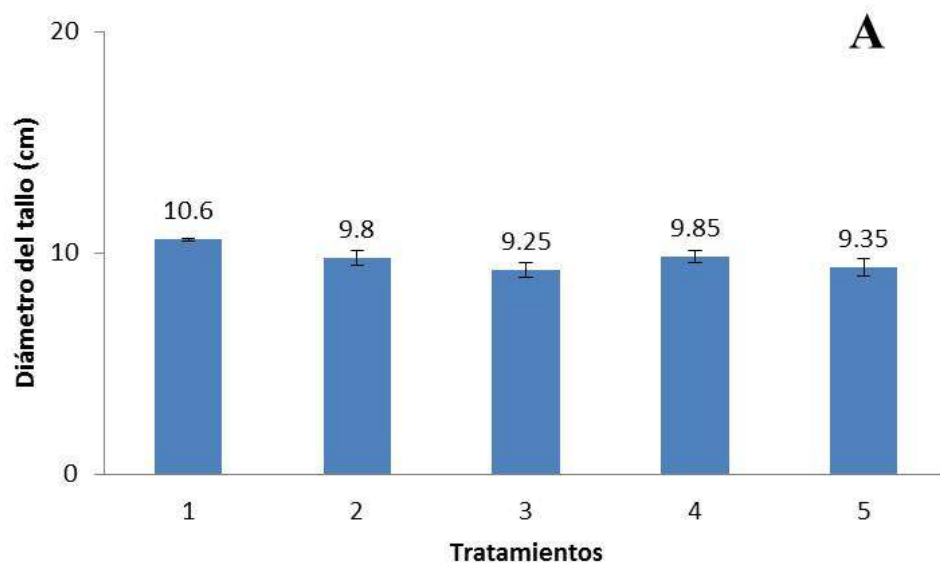


Figura 5.3 Diámetro del tallo de papayo *Carica papaya* L. utilizadas en los experimentos. T1= Inoculación de PRSV-P; T2= 30 ácaros; T3= inoculación de agua destilada; T4= 30 ácaros + inoculación de PRSV-P y T5= plantas testigo. A) Antes de iniciar el experimento. B) Al término del experimento. Los valores sobre las barras representan la media. La barra de error representa el error estándar de la media.

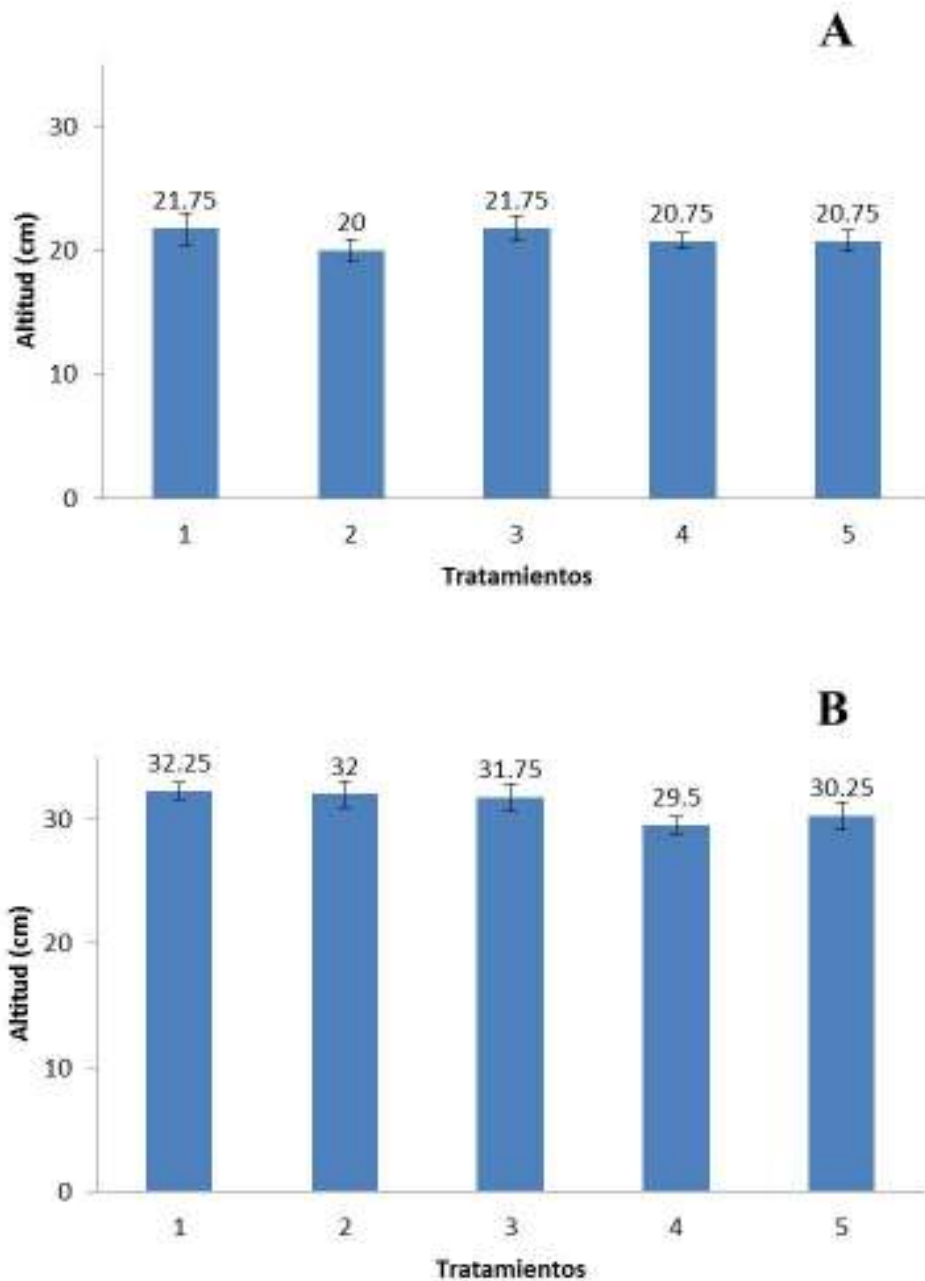


Figura 5.4 Altitud de papayo *Carica papaya* L. utilizadas en los experimentos. T1= Inoculación de PRSV-P; T2= 30 ácaros; T3= inoculación de agua destilada; T4= 30 ácaros + inoculación de *PRSV-P* y T5= plantas testigo. A) Antes de iniciar el experimento. B) Al término del experimento. Los valores sobre las barras representan la media. La barra de error representa el error estándar de la media.

Los síntomas observados en los tratamientos con virus, ácaros y combinación de ambos fueron similares a los anteriormente descritos; venación más aparente, reducción del área foliar y decoloración de la lámina foliar en el centro de la hoja (Figura 5.5). Deformaciones de la lámina foliar fueron más evidentes en el tratamiento en donde se inocularon 30 ácaros (Figura 5.6). En el tratamiento 1 y 4 en donde se inoculó a *PRSV-P* se observaron manchas aceitosas en las hojas y peciolo (Figura 5.7).

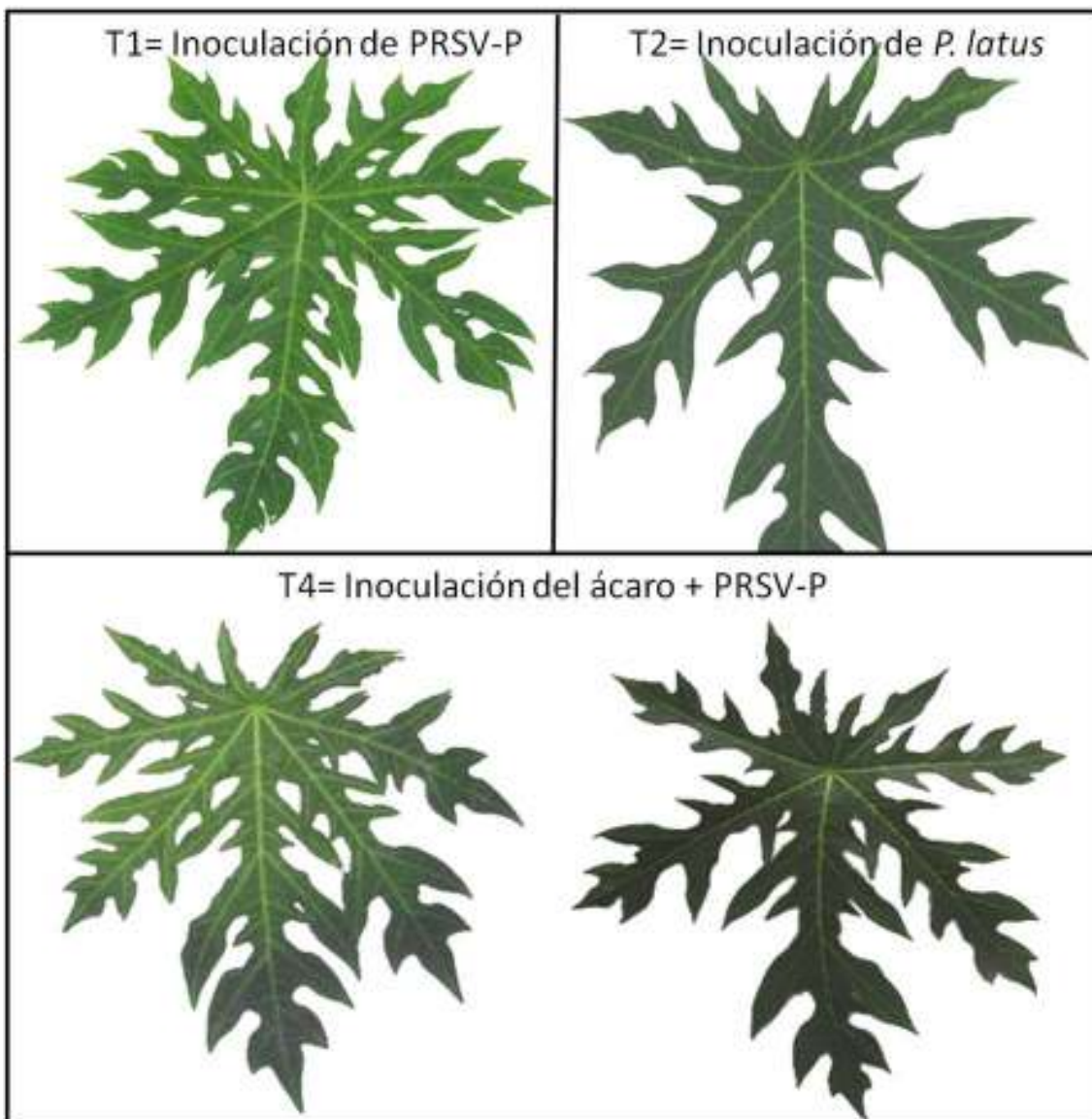


Figura 5.5 Hojas de papayo *Carica papaya* L. que muestran daños cualitativos que producen *P. latus* y *PRSV-P*

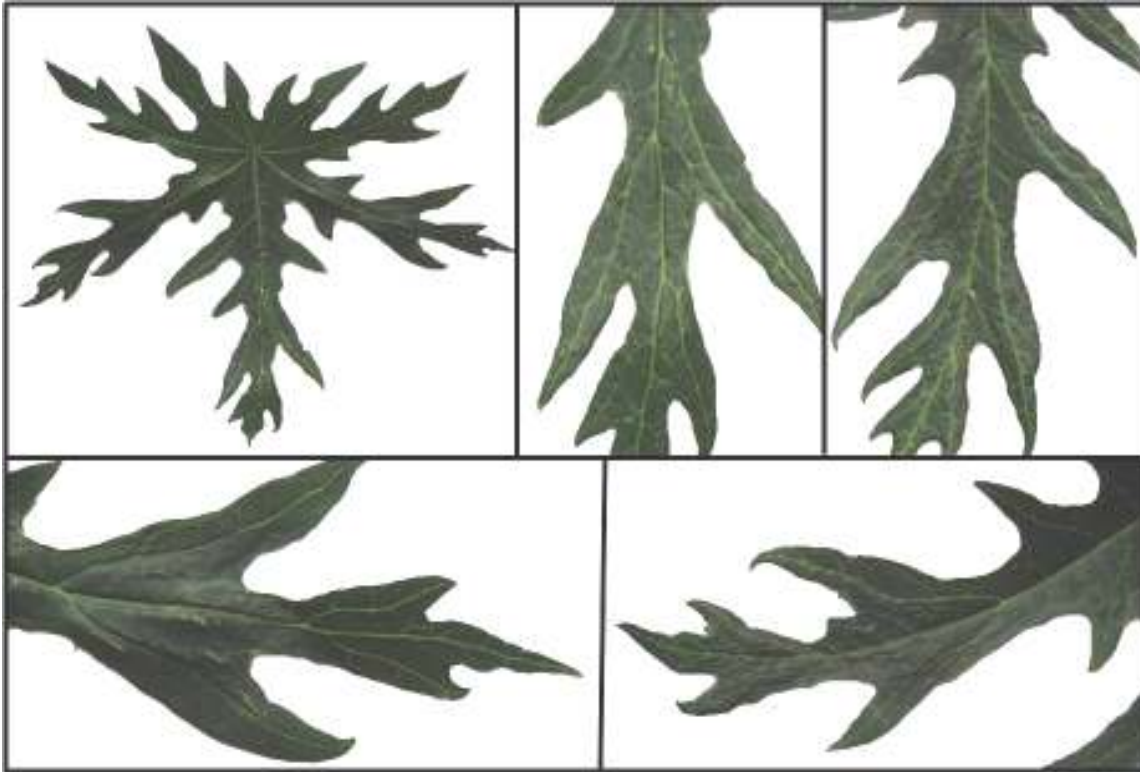


Figura 5.6 Hojas de papayo *Carica papaya* L. que muestran deformaciones de la lámina foliar cuando *P. latus* se alimenta de éstas durante su desarrollo.



Figura 5.7. Hojas de papayo *Carica papaya* L. infectadas con PRSV-P. Las flechas indican las manchas aceitosas observadas.

El análisis de RT-PCR realizado en las plantas de papayo de todos los tratamientos antes de iniciar el experimento, confirmó que el virus no estuvo presente en ninguna de ellas. Posteriormente, al realizar el mismo análisis al finalizar el experimento, se confirmó la ausencia del virus en los tratamientos T2 (30 ácaros/planta), T3 (agua destilada) y T5 (testigo absoluto). Así mismo, el análisis de RT-PCR confirmó la presencia del virus en parte de las plantas de los tratamientos T1 (inoculado con *PRSV-p*) y T4 (inoculado con *PRSV-p* y ácaros) (Figura 5.8). Con base en lo anterior, para el análisis estadístico se incluyeron todas las plantas de los tratamientos T2, T3, T5 y en los tratamientos T1 y T4 únicamente aquellas que dieron positivo al virus *PRSV-p*.

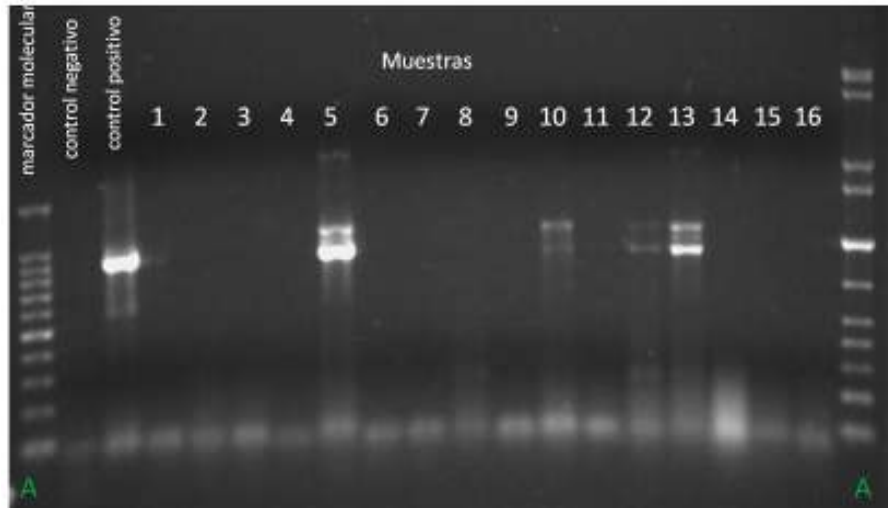


Figura 5.8. Ejemplo de reacciones de RT-PCR que confirman la presencia o ausencia de *PRSV-P* en papayo *Carica papaya* L. antes de ser inoculadas con *PRSV-p* (líneas 1-4) y después de la inoculación mecánica de *PRSV-P* (líneas 5-16). La primera línea de la izquierda corresponde al marcador de peso molecular 1kb. La que le continúa es el testigo negativo (agua destilada estéril). La tercera línea corresponde a una muestra positiva de *PRSV-P*. La última línea corresponde al marcador de peso molecular 100pb.

5.4. Discusión

De acuerdo con los resultados, la reducción foliar máxima se encontró en el tratamiento T4 (ácaros + *PRSV-P*) y la menor T5 (testigo absoluto). Esto sugiere que tanto *P. latus* como el virus causan este daño y al combinarlos se potenció éste. La reducción foliar en el tratamiento en donde se inocularon 30 ácaros es menor que en donde se inoculó sólo el virus, lo cual pudo deberse a el virus no expresó esa reducción foliar que se describe en algunos trabajos (Cook, 1975; Téliz *et al.* 1991; Arenas *et al.*, 1992; Andrade *et al.*, 1994). De hecho, el área foliar de este tratamiento (inoculación del virus) y el tratamiento en donde se inoculó agua destilada (T2) fueron muy similares, por lo que el daño que se produce con la inoculación mecánica también pudo haber tenido un efecto. Es probable que los síntomas ocasionados por el virus se expresen en un tiempo de observación mayor al evaluado en esta investigación; esto, aunado al hecho de que la inoculación mecánica no fue 100% eficiente, sugiere la necesidad de repetir el experimento considerando métodos alternativos para minimizar los problemas mencionados anteriormente.

Con respecto a las variables altitud y diámetro del tallo, nuevamente observamos que antes de iniciar los experimentos las plantas estuvieron distribuidas uniformemente entre los tratamientos. Al final de los experimentos tampoco se observaron diferencias significativas entre los tratamientos, resultados que no esperábamos por lo encontrado en el Capítulo 4. Consideramos que una explicación para estos resultados es que las plantas empleadas en este experimento eran un poco más maduras que las empleadas en el Capítulo 4 y pudo haber hecho la diferencia, ya que se ha reportado que los daños de *P. latus* no son uniformes y dependen de la etapa fenológica de la planta, en la cual puede ser más susceptible al daño (De Coss, 2006).

En cuanto a los síntomas foliares observados fue evidente que los daños ocasionados por los ácaros son muy similares a los producidos por el *PRSV-P*, tales como aclaramiento de nervaduras, decoloración de la lámina foliar y reducción del área foliar. Sin embargo, es conveniente señalar que hay diferencias en el patrón de desarrollo de síntomas que permiten, determinar en cierto grado, si

el daño es producido por *P. latus* o por *PRSV-P*. Por ejemplo, la decoloración de la lámina foliar producida por *P. latus* siempre inicia en la vena central entre la unión del peciolo y el área foliar o limbo, a diferencia de la decoloración producida por *PRSV-P*, la cual puede presentarse en cualquier parte de la lámina foliar; de hecho, en esta investigación siempre se observó en la parte terminal de los folíolos. También se observó que las plantas infectadas con *PRSV-P* no se vuelven a recuperar, las hojas nuevas aparecen cada vez más pequeñas y deformadas. En contraste, en las plantas infestadas con *P. latus*, las hojas nuevas pueden recuperarse si la población del ácaro desaparece. Se requiere mayor investigación para explicar la desaparición de las poblaciones de ácaros de plantas experimentales, ya que factores como temperatura y humedad fueron constantes durante los experimentos, por lo que cambios en estos parámetros no pudieron ser la causa como se reportó previamente (De Coss, 2006). Tampoco se atribuye al estado fenológico de la planta que al irse desarrollando, sus hojas se lignifican e impiden que los ácaros se alimenten porque les es más difícil perforar la epidermis con sus quelíceros; sin embargo, el comportamiento de *P. latus* es buscar siempre las hojas más jóvenes (no lignificadas) para alimentarse, las que fueron apareciendo y por lo tanto estuvieron disponibles para ser pobladas por los ácaros.

Otra diferencia de los daños producidos por *PRSV-P* es la producción de manchas aceitosas en las hojas y en los tallos, lo cual no es producido por la infestación de *P. latus*. Finalmente, la diferencia entre los daños producidos por *P. latus* y *PRSV-P* es que las plantas infestadas por el ácaro se recuperan cuando éstos desaparecen; en contraste, las plantas infectadas por el *PRSV-P* nunca se recuperan porque el virus continúa replicándose.

Éste es el primer reporte del efecto combinado de *P. latus* y *PRSV-P* en plantas de papayo, a pesar de que algunos resultados no son concluyentes, aportan información como base para realizar mayor investigación al respecto. Asimismo, se recomienda la inclusión de la detección molecular en tiempo real, como método más adecuado para detectar la presencia del virus y cuantificar su concentración

para definir concentraciones en las cuales su infección producirá efectos visibles y cuantificables, así como considerar diferentes tiempos de incubación.

5.5 Literatura citada

Acuña, L. E.; Agostini, J. P. 2000. Búsqueda del agente causal de los síntomas del mosaico del mamón *Carica papaya* L. Revista Citrumisiones. (29):17- 20.

Andrade, H.; Ávila, C.; García, E.; Mora, A.; Nieto, D.; Téliz, D.; Villanueva, J. 1994. La mancha anular del papayo en Veracruz, México, y su manejo integrado. Séptima reunión Científica del Sector Agropecuario y Forestal del Estado de Veracruz, México., pp. 87- 92.

Arenas, L.; Ávila, C.; Cárdenas, E.; Etchevers, J.; Flores, C.; García E.; González, V.; Matheis, L.; Mora, A.; Nieto, A.; Riestra, D.; Téliz, D.; Velásquez J.; Villanueva, J. 1992. La Virosis del papayo en Veracruz: etiología y control. Quinta Reunión Científica del Sector Agropecuario y Forestal del Estado de Veracruz. Resultados y Avances de Investigación, pp. 62 - 71.

Aubert, B.; Lossois, P.; Marchal, J.; Rabaud, J.; Boisvilliers, P. 1981. Mise en evidence des dégats causes par *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) sur papayer à l' île de la Réunion. Fruits 36(1): 9 - 24.

Cadena Agroalimentaria. 2006. Perfil de la papaya. Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria.
www.cofupro.org.mx/Publicación/penit47.pdf (11 Noviembre, 2010).

Collier, K. F. S.; De Lima, J. O.G.; Albuquerque, G. S. 2004. Predacious mites in papaya (*Carica papaya* L.) orchards: in search of a biological control agent of phytophagous mite pests. Neotropical Entomology 33(6):799 - 803.

- Cook, A. A. 1975. Disease of Tropical and Subtropical Fruits and Nuts. Hafner Press, pp. 318.
- Cross, J.V.; Bassett, P. 1982. Damage to tomato and aubergine by broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks). Plant Pathology 31: 391 - 393.
- De Coss, F. M. E. 2006. Bioecología y herbivoría del ácaro *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) en *Carica papaya* L. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma de Chiapas, pp. 121.
- De Coss-Romero, M.; Peña, J. E. 1998. Relationship of broad mite (Acari: Tarsonemidae) to host phenology and injury levels in *Capsicum annuum*. Florida Entomologist 81: 515 - 526.
- FAO, World papaya production 2007. In: <http://www.cabi.org/compendia/cpc/> (12 noviembre de 2010).
- Gerson, U. 1992. Biology and control of the broad mite, *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) (Acari: Tarsonemidae). Experimental and Applied Acarology 13: 163 -178.
- Gonsalves, D. 1998. Control of papaya ringspot virus in papaya: a case study. Annual Review of Phytopathology 36:415 – 37.
- Jensen, D. D. 1948. Papaya virus diseases with especial reference to papaya ringspot. Phytopathology 39: 191- 211.
- Jeppson, L. R.; Keifer, H. H.; Baker, E. W. 1975. Mites injurious to economic plants. University of California Press, Berkeley. 614 p.

- Kiranmai, G.; Hema, M.; Sreeniv, P. 1998. Identification of a virus causing leaf distortion disease of papaya in Andhra Pradesh as cucumber mosaic cucumovirus. *Indian Phytopathology* 51 (2): 130 -135
- Medina, J. C. 1989. Mameo: cultura, materia-prima, procesamiento e aspectos económicos. Instituto de tecnología de alimentos. Campinas, Brasil.
- Peña, J. E.; Bullock, R. C. 1994. Effects of feeding of broad mite (Acari: Tarsonemidae) on vegetative plant growth. *Florida Entomologist* 77 (1): 180 - 184.
- Ridings, W. H.; Zettler, F. W.; Conover, R. A. 1978. Distortion ringspot of papaya. *Plant Pathology Circular No.* 184.
- Sánchez, D. L. C.; Martínez, L. G. 1976. Algunas observaciones sobre el virus de la mancha anular de la papaya en Colombia. *Noticias Fitopatológicas* 5(2): 62 - 73.
- Steiner, A. A. 1968. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* 15:134 -154.
- Téliz, O. D.; Mora, A. A.; Nieto, A. D.; Gonsalves, D.; García E.; Matheis, L.; Ávila, C. 1991. La mancha anular del papayo en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 9: 64 - 68.

CAPÍTULO VI

PAPEL DE *Polyphagotarsonemus latus* EN LA TRANSMISIÓN DEL *Papaya Ringspot Virus*

6.1 Introducción

La mayoría de los virus que infectan a las plantas dependen de un vector para su supervivencia y transmisión (James, 2004). Insectos, ácaros y nematodos juegan un papel muy importante en la transmisión de virus. Sin embargo, insectos del orden Hemiptera son los vectores más comunes, y entre ellos, destacan los áfidos (Nault, 1997; Spence, 2001; Astier *et al.*, 2001; Hogenhout *et al.*, 2008). Entre los ácaros, las únicas familias consideradas, hasta ahora, transmisoras de virus son la familia Eriophyidae y Tenuipalpidae (Paliwal, 1980; Kitajima *et al.*, 2000; Skare *et al.*, 2006).

Las características comunes entre los vectores de virus de plantas son: hábitos polífagos que contribuyen a la diseminación de los virus en una gran variedad de plantas, habilidad de reproducirse partenogenéticamente y poseer un aparato bucal punzante capaz de perforar las células vegetales y succionar el contenido celular y por lo tanto introducir partículas virales dentro de las células de sus huéspedes (James, 2004; Hogenhout *et al.*, 2008). Sin embargo, el éxito de transmisión de los virus de plantas por determinada especie de vector depende de la especificidad del virus y de los mecanismos de transmisión.

En este sentido, Hogenhout *et al.* (2008) mencionan que los modos de transmisión de virus están basados, principalmente, en los sitios de retención y el movimiento de éstos dentro del vector. Se consideran circulativos si los virus penetran las células del vector y son transportados en la hemolinfa hasta las glándulas salivales para ser transmitidos por el vector a través de la saliva. Los virus circulativos además son clasificados como propagativos y no propagativos si la partícula adquirida se replica dentro del vector. Los virus no circulativos tienen una relación más superficial y esporádica con el vector y sólo están asociados con las partes bucales y el aparato digestivo. Son persistentes o no persistentes, con base en el

tiempo durante el cual el vector más tiene la capacidad de transmitir el virus después de haberlo adquirido.

Cualquiera que sea el modo de transmisión, se deben dar los siguientes pasos para que haya transmisión: a) que el vector adquiera el virus de un hospedante infectado, b) que haya sitios de retención en el vector del virus adquirido y c) que los virus retenidos sean inoculados por el vector nuevamente en el hospedante.

En el caso de *PRSV-P*, éste es transmitido por muchas especies de áfidos (principalmente *Myzus persicae* y *Aphis gossypii*) (Jensen, 1948; López, 1972) de una manera no persistente (Tripathi *et al.*, 2008). La adquisición y transmisión de *PRSV-P* ocurre cuando los áfidos introducen sus estiletes dentro de la planta; aunque el virus puede también puede ser transmitido mecánicamente.

Higa y Namba (1971) realizaron experimentos de transmisión de *PRSV-P* por medio de áfidos y dos especies de ácaros muy comunes en el cultivo de papayo, *Tetranychus cinnabarinus* y *P. latus*. Concluyeron que no hubo transmisión por ácaros estudiados, posiblemente debido al corto periodo de adquisición del virus, y concluyeron, además, que estas dos especies no se conocen como transmisores del virus.

P. latus no es considerado como transmisor del virus; sin embargo, éste se encuentra muy frecuentemente en plantas infectadas con *PRSV-P*, aunado al hecho de que tanto el virus como el ácaro causan daños foliares muy similares a las plantas de papayo; por esta razón se desarrolló la investigación con el objetivo de obtener un mayor conocimiento de la relación que pudiera existir entre *P. latus* y la transmisión del *PRSV-P*.

Objetivo: Estudiar el papel de *P. latus* en la transmisión del *PRSV-P* en plantas de papayo.

Hipótesis: *P. latus* tiene habilidad para transmitir el *PRSV-P*.

6.2 Material y métodos

6.2.1 *Polyphagotarsonemus latus*

La cría de *P. latus* fue mantenida en las condiciones mencionadas anteriormente en la sección 2.1.2. Para que los ácaros se alimentaran de plantas infectadas con *PRSV-P*, 50 hembras adultas de *P. latus* fueron transferidas individualmente con un pincel a la hoja más joven de las plantas infectadas, las cuales permanecieron alimentándose por tiempos determinados, tal y como se especificó en la sección 5.2.4, para después pasarlos a plantas sanas libres de *PRSV-P*.

6.2.2 Plantas de *Carica papaya*

6.2.2.1 Plantas libres de *PRSV-P*

Las plantas de papayo utilizadas para este experimento fueron obtenidas como se menciona en el apartado 2.1.3. Sin embargo, cabe mencionar que al momento de realizar los experimentos las plantas ya presentaban entre 8-10 pares de hojas, por lo que se les podaron las hojas más maduras y se dejaron únicamente los tres pares de hojas más jóvenes. Todas las plantas fueron minuciosamente inspeccionadas antes de iniciar los experimentos para corroborar que no presentaran síntomas de alguna enfermedad o la presencia de alguna plaga. Así mismo, se tomó una hoja de cada planta para procesarla y corroborar la usencia de *PRSV-P* mediante RT-PCR.

6.2.2.2 Plantas infectadas con *PRSV-P*

Para obtener plantas enfermas con *PRSV-P* fue necesario inocular mecánicamente al virus en plantas sanas. El inóculo del virus se obtuvo macerando 1 g de hojas infectadas más 3 mL de agua destilada estéril. La inoculación mecánica del virus se realizó mediante la metodología que se describe a continuación. De cada planta sana, se tomó la cuarta hoja y se le raspó varias veces con un hisopo previamente impregnado con el extracto de hojas infectadas con *PRSV-p*, el raspado se hizo hasta que la lámina foliar se observó translúcida. Las hojas inoculadas fueron marcadas en la base del peciolo. Todas las plantas inoculadas fueron mantenidas en la cámara de cría en las condiciones

anteriormente mencionadas, hasta que la mayoría de sus hojas presentaran síntomas de la infección de *PRSV-P* para que de éstas se alimentaran los ácaros.

6.2.3 Diagnóstico de *PRSV-P* mediante PCR

Para determinar que las plantas usadas en los experimentos estuvieran libres de *PRSV-P* se colectó una hoja de cada planta (inmediatamente anterior a la hoja en donde se infestaron los ácaros), y se guardó en toallas de papel a -20°C para su posterior análisis para PCR.

Asimismo, se tomó una hoja de las plantas infectadas con *PRSV-P* y usadas para alimentar a los ácaros. Al final del experimento se tomaron todas las hojas de las plantas usadas en el experimento para determinar si estaban infectadas con *PRSV-P*. Todas las hojas fueron procesadas de acuerdo al método descrito en la sección 2.1.4.

6.2.4 Periodo de adquisición de *PRSV-P*

El periodo de adquisición del virus (PAV) se definió como el tiempo en el cual *P. latus* fue obligado a alimentarse de plantas infectadas con *PRSV-P* para adquirir el virus. Para ello se formaron varios grupos: en el primero los ácaros se mantuvieron en plantas infectadas durante 6 h (periodo de adquisición de 6 h), en el segundo, 12 h, y en el tercero, 24 h. Como grupos testigo se mantuvieron los ácaros alimentándose por 24 h en plantas sanas.

6.2.5 Diseño experimental

De acuerdo con los diferentes tiempos de adquisición del virus se diseñaron los siguientes tratamientos:

Tratamiento 1. 10 ácaros alimentados 24 h de plantas sanas

Tratamiento 2. Testigo absoluto (plantas sanas sin ácaros y sin virus)

Tratamiento 3. 10 ácaros alimentados 6 h de plantas infectadas con *PRSV-P*

Tratamiento 4. 10 ácaros alimentados 12 h de plantas infectadas con *PRSV-P*

Tratamiento 5. 10 ácaros alimentados 24 h de plantas infectadas con *PRSV-P*

La transferencia de los ácaros de las plantas infectadas a las sanas se hizo individualmente con un pincel muy fino. EL experimento se realizó con un diseño completamente al azar, con cinco repeticiones por tratamiento. Todo el experimento se repitió, dos veces en ocasiones diferentes.

6.2.6 Evaluación del experimento

Todas las plantas experimentales infestadas con ácaros se revisaron a las 24 h con un microscopio estereoscópico para corroborar el establecimiento de las hembras de *P. latus*. Posteriormente, se revisaron semanalmente para evaluar posibles síntomas de infección por el *PRSV-P*. El experimento tuvo una duración de ocho semanas, al término del cual se fotografiaron y registraron los cambios que sufrieron las plantas. Finalmente, se cortaron todas las hojas de las plantas, a partir de la hoja en la que se infestaron los ácaros, para su diagnóstico del *PRSV-P* mediante PCR.

6.3 Resultados

No se detectaron síntomas visuales de infección por el *PRSV-P* en plantas sanas infestadas por ácaros alimentados en plantas enfermas. Este resultado fue verificado por RT-PCR. Las plantas infectadas de las cuales se alimentaron a los ácaros para adquisición viral si fueron positivas a *PRSV-P* (Cuadro 6.1).

Cuadro 6.1. Porcentaje de transmisión de *PRSV-P* por *Polyphagotarsonemus latus*.

TRATAMIENTOS		No. plantas infectadas/ No. plantas ensayadas (% transmisión)	
	PAV	EXP 1	EXP 2
T1 (ácaros testigo)	24 h	0/5 (0%)	0/5 (0%)
T2 (plantas testigo)	0	0/5 (0%)	0/5 (0%)
T3	6	0/5 (0%)	0/5 (0%)
T4	12	0/5 (0%)	0/5 (0%)
T5	24	0/5 (0%)	0/5 (0%)

6.4 Discusión

Las observaciones indican que los ácaros transferidos de plantas infectadas a sanas sí se establecieron en estas últimas. Sin embargo, no se verificó si los ácaros adquirieron el virus al alimentarse de las plantas infectadas, por lo que este aspecto debe determinarse en trabajos futuros, para determinar si la ausencia de transmisión viral se debió a la incapacidad del ácaro para adquirir el virus o para transmitirlo.

Es posible que *P. latus* no tenga la habilidad para transmitir a *PRSV-P* debido a que este virus necesita una interacción con su transmisor, como sucede con los virus de la familia Potyviridae, los cuales necesitan que sus transmisores tengan proteínas que sirvan como puentes entre las proteínas de la cubierta de los viriones con las de la superficie del aparato bucal y aparato digestivo para poder ser transmitido (Stenger *et al.*, 2005).

Estudios realizados para confirmar el papel de *P. latus* como transmisor de *PRSV-P* son muy escasos y los que existen fueron realizados sin considerar varios aspectos como el tiempo de adquisición de virus y el tiempo de inoculación, entre otros. Aunque no puede descartarse la posibilidad de que, efectivamente, *P. latus* no tiene habilidad para ser transmisor de *PRSV-P* como fue indicado Higa y Namba en 1971.

Esta investigación no es concluyente respecto a la posible habilidad de *P. latus* para transmitir el *PRSV-P*. Se requiere mayor experimentación, en la que se consideren más variables, como son; el tiempo de inoculación, prolongar el tiempo para la expresión de síntomas, ajustar densidades de ácaros, considerar posibles periodos de latencia y retención del virus, la conveniencia de que ácaros tengan un periodo de ayuno para promover una alimentación más efectiva en las plantas infectadas y el tiempo de inoculación del virus, entre otros. También será indispensable verificar si el virus es adquirido por *P. latus* y donde es retenido.

6.5 Literatura citada

- Astier, S.; Albouy, J.; Maury, Y.; Lecoq, H. 2001. Principes de Virologie Vegetale. INRA, Paris, France.
- Higa, S.Y.; Namba, R. 1971. Vectors of the papaya Mosaic Virus in Hawaii. Vol. XXXI. No. 1
- Hogenhout, S. A.; Ammar, E. D.; Whitfield, A. E.; Redinbaugh, M. G. 2008. Insect vector interactions with persistently transmitted viruses. Annual Review of Phytopathology 46:327– 59
- James C. K. N G; Keith L. Perry. 2004. Transmission of plant viruses by aphid vectors. Molecular Plant Pathology. 5 (5): 505 – 511
- Jensen, D. D. 1948. Papaya virus diseases with especial reference to papaya ringspot. Phytopathology 39: 191-211
- Kitajima E.W., Rodríguez J.C.V., de Moraes G. J., Childers, C. C. 2000. *Brevipalpus* mite-borne viruses. Virus Review Research 5:44 – 45
- López, P. O. 1972. Identificación de la virosis de la lechosa (*Carica papaya* L.) en Venezuela. Revista Facultad de Agronomía 6(4): 5 - 36.
- Nault, L. R. 1997. Arthropod transmission of plant viruses: a new synthesis. Annals of the Entomological Society of America 90:521– 41
- Paliwal, Y. C. 1980. Relationship of wheat streak mosaic and barley stripe mosaic viruses to vector and non vector eriophyid mites. Archive of Virology 63:123 – 32

Skare, J. M.; Wijkamp, I.; Denham, I.; Rezende, J. A.; Kitajima, E. W. 2006. A new eriophyid mite-borne membrane-enveloped virus-like complex isolated from plants. *Virology* 347:343 – 53

Spence, N. J., 2001. Virus-vector interactions in plant virus disease transmission and epidemiology. *In*: Jeger M.J. and Spence N.J. (eds.). Biotic interactions in plant-pathogen associations, pp. 15 - 26. Oxford University Press, New York, USA.

Stenger, D. C.; Hein, G. L.; Gildow, F. E.; Horken, K. M.; French, R. 2005. Plant virus HC-Pro is a determinant of eriophyid mite transmission. *Journal of Virology* 79(14): 9054 – 9061.

Tripathi, S; Suzuki, J. Y.; Ferreira, S. A.; Goncalves, D. 2008. *Papaya ringspot virus-P*: characteristic, pathogenicity, sequence variability and control. *Molecular Plant Pathology* 9 (3): 269 - 280.

CAPÍTULO VII

CONCLUSIONES GENERALES

La alimentación de *P. latus* y la infección de *PRSV-P* ocasionan reducción de la lámina foliar en plantas de *Carica papaya* cv Maradol. No es posible realizar una relación directa entre severidad en la reducción foliar y número de ácaros infestados por planta, ya que los resultados sugieren que es más importante el éxito en el establecimiento de las poblaciones del ácaro comparado con el número de individuos iniciales inoculados. Para el estudio del virus, además de la cantidad de inóculo, es importante considerar los tiempos de evaluación, ya que los resultados sugieren que su efecto es visible en un mayor tiempo. Así mismo, el efecto de ambos organismos tiene una interacción con otros factores no considerados directamente en los experimentos reportados en este estudio, pero que son importantes para su futura consideración, como la etapa fenológica de la planta.

La reducción foliar es un parámetro de evaluación importante del efecto de *P. latus* y *PRSV-P* en plantas de *C. papaya*; sin embargo, se deben considerar factores adicionales de difícil cuantificación, como el lugar de origen de las lesiones, aspecto de las mismas, que en conjunto ayudarán a estudiar mejor el papel de ambos organismos en los daños ocasionados a *C. papaya*.