

Virus de la mancha anular de la papaya (PRSV-p): Biología, epifitología y diversidad genética como base para el manejo mediante técnicas biotecnológicas

Dariel Cabrera^{1*}, Dahert García², Orelvis Portal^{3*} Autor para correspondencia

¹ Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830. e-mail: dcabreram@uclv.edu.cu

² Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales. Apartado 6, Santo Domingo, Villa Clara, Cuba.

³ Instituto de Biotecnología de las Plantas (IBP). Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5, Santa Clara, Villa Clara, Cuba. CP 54 830

RESUMEN

El *Virus de la mancha anular de la papaya* constituye en muchos países tropicales y subtropicales el mayor obstáculo en la producción de papaya y es responsable de pérdidas considerables en las cosechas. El modo de transmisión de este virus impide el éxito de los tratamientos con insecticidas. Además, la presencia de áfidos vectores durante todo el año en las plantaciones constituye una importante vía para la distribución de la enfermedad. Una vez infectadas las plantaciones no existe tratamiento eficaz para su control. En varios países se han desarrollado estrategias mediante la ingeniería genética, donde se ha logrado obtener buenos resultados, lo que implica el estudio biológico y molecular de los posibles aislados del PRSV que se pueden presentar en una región o país. En Cuba, se han realizado investigaciones encaminadas al desarrollo de estrategias para el manejo de esta enfermedad viral. Este trabajo tuvo como objetivo relacionar los principales aspectos biológicos y epifitológicos del PRSV, con resultados de Cuba y el mundo, como herramienta para el manejo de esta enfermedad mediante el uso de la biotecnología vegetal.

Palabras clave: áfidos, proteína de la cápsida, PRSV

ABSTRACTS

Papaya ringspot virus constitutes, in many tropical and subtropical countries, the biggest obstacle in the production and responsible of considerable losses in papaya harvests. The way of transmission of this virus enables the success of treatments with insecticides. In addition, the presence of vector aphids during the year in the plantations constitutes an important way to spread the disease. Once the plantations are infected, there is not way to control this disease. Strategies using genetic engineering have been developed in several countries achieving good results. This implies biologic and molecular studies of possible PRSV isolates that can be present in a region or a country. In Cuba, investigations focused on the development of management strategies of this viral disease have been realized. The objective of this work was to state the main biological and epidemiology aspects of PRSV, with results in Cuba and the world, as a tool in the management by plant biotechnology techniques.

Keywords: aphids, coat protein, PRSV

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

EFFECTOS DEL PRSV EN LA PRODUCCIÓN DE PAPAYA

UBICACIÓN TAXONÓMICA DEL PRSV

Familia *Potyviridae*

Género *Potyvirus*

Genoma

BIOLOGÍA Y EPIFITOLOGÍA

Biotipos

Sintomatología

Transmisión

Plantas hospedantes

VARIABILIDAD GENÉTICA Y EVOLUCIÓN

FUNCIÓN Y APLICACIONES DE LA PROTEÍNA DE LA CÁPSIDA DE LOS POTYVIRUS

CONCLUSIONES

INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya* L.) es una planta propia de América Tropical (Rieger, 2006). Esta planta pertenece a la familia *Caricaceae* que está constituida por seis géneros, dentro de los que se incluye *Carica* (Mishra *et al.*, 2007). *C. papaya* es la única entidad taxonómica del género *Carica*, debido a la categorización del género *Vasconcellea* (Badillo, 2000; Morales *et al.*, 2004). Se supone que sus semillas se distribuyeron por el Caribe durante las exploraciones españolas. Estos también la introdujeron a Europa y las Islas del Pacífico a mediados del siglo XVII, extendiéndose por todo el trópico (Rieger, 2006). La extensa adaptación de esta planta en muchas regiones tropicales y subtropicales y la amplia aceptación de la fruta le han conferido considerables ventajas comerciales, con propósitos locales y de exportación.

Las condiciones de Cuba son favorables para el cultivo de la papaya, donde se desarrolla a escala comercial desde 1904 (MINAGRI, 2008). No obstante, presenta varios problemas fitosanitarios que han causado bajo rendimiento y mala calidad de los frutos en muchas zonas productoras del país, entre ellos las enfermedades producidas por virus son las más peligrosas.

El *Virus de la mancha anular de la papaya* (PRSV) familia: *Potyviridae*, género: *Potyvirus* (Fauquet *et al.*, 2005), pertenece a uno de los géneros más extensos e importantes desde el punto de vista económico (Tripathi *et al.*, 2008), y aparece en muchos países tropicales y subtropicales donde la papaya es cultivada (Bateson *et al.*, 1994); como el principal problema en su producción (Purcifull *et al.*, 1984).

Esta enfermedad causa mosaico severo y distorsión de las hojas, anillos concéntricos en los frutos y manchas aceitosas en la parte superior de los tallos y en pecíolos. Impide el crecimiento de la planta y reduce

drásticamente el tamaño y calidad de las frutas (Yeh *et al.*, 2007). Por los daños que el PRSV provoca en las plantaciones, puede limitar las producciones de grandes áreas a solo una cosecha (Gonsalves, 1998). Las plantaciones pueden comenzar la producción luego de ocho meses del trasplante y puede continuar produciendo de manera continua durante dos o tres años bajo condiciones normales. En muchas regiones de Cuba, debido a esta enfermedad viral las cosechas no se extienden más allá de cuatro meses.

En varios países se han desarrollado estrategias para el manejo de esta enfermedad mediante ingeniería genética, donde se han logrado buenos resultados. Esto implica la necesidad del estudio biológico y molecular de los posibles aislados del PRSV que se pueden presentar en el país o región ya que se ha demostrado que ciertos aislados pueden romper la resistencia en plantas transformadas con resistencia a esta enfermedad.

Una de las estrategias empleada en los últimos años, es la resistencia derivada del patógeno, fundamentalmente mediante el uso del gen de la proteína de la cápsida (Tennant *et al.*, 2005). Para ello, el conocimiento epifitiológico de los aislados del PRSV que se puedan presentar en una región o país, es un aspecto básico (Tripathi *et al.*, 2008). En Cuba, el análisis de poblaciones virales y la diversidad genética entre aislados del PRSV pueden tener un efecto palpable en la búsqueda de estrategias donde se emplee la resistencia mediada por la proteína de la cápsida o el silenciamiento postranscripcional de genes mediante técnicas biotecnológicas.

En este trabajo se realiza una revisión sobre la importancia, características biológicas, epifitología y diversidad genética del PRSV, con el objetivo de relacionar algunos elementos necesarios para el manejo a través de técnicas biotecnológicas.

EFFECTOS DEL PRSV EN LA PRODUCCIÓN DE PAPAYA

El PRSV provoca una de las enfermedades de mayor importancia en la producción de papaya en muchos países y aparece en la mayoría de las áreas tropicales y subtropicales donde se cultiva esta planta (Purcifull *et al.*, 1984).

Brasil es uno de los mayores productores de papaya en el mundo (FAO, 2009), el PRSV se observó en varios estados de este país y representa el impedimento principal del cultivo, con mayor intensidad en el perímetro norte del estado de Ceará (Barreto *et al.*, 2002). Desafortunadamente, el virus ha afectado la industria y cada vez es más difícil el establecimiento de nuevos campos que temporalmente escapan del virus, lo que ha convertido su manejo en una práctica cada vez más costosa y no siempre efectiva. Esto ha provocado que la producción en Brasil tenga costos muy elevados y con menor calidad (Gonsalves, 1998).

En Hawai, el PRSV fue descubierto en 1940 (Jensen, 1949) y virtualmente eliminó la producción de papaya a gran escala en la Isla Oahu durante 1950, esto provocó que a inicios de 1960 se trasladaran las plantaciones al distrito de Puna en la Isla de Hawai. La industria papayera creció en Puna debido a las óptimas condiciones climáticas, disponibilidad de tierra y mayormente porque estaba libre de PRSV. Durante 1980, se producía en Puna el 95% de la papaya de Hawai, la llegada del virus dentro del distrito de Puna se observó en Mayo del 1992, y se extendió rápidamente. En 1994, casi la mitad de las áreas papayeras estaban infectadas y varios granjeros comenzaron a abandonar este negocio (Gonsalves *et al.*, 1998).

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

En Venezuela el PRSV ha ocasionado la pérdida total en siembras comerciales y se le considera como severa y endémica en algunos estados (Vegas *et al.*, 1998). Situación similar se observa en México, donde el PRSV se encuentra distribuido en todo el país (Noa-Carrazana *et al.*, 2006).

En Cuba, el cultivo y exportación de la papaya se desarrolló mucho en la década de 1930 a 1940, con plantaciones importantes en Pinar del Río, La Habana y Camagüey (Roig, 1965). En la isla, el PRSV se señala por primera vez en 1946 (Acuña y Zayas, 1946). En muestreos realizados entre 1983 y 1985 en diferentes localidades del país, se determinó que el PRSV se encontraba ampliamente distribuido (Fariñas y López, 1986). Esto trajo como consecuencia la destrucción de la mayoría de las plantaciones y redujo al mínimo su producción. Actualmente se encuentra extendido en muchas zonas del país (Pérez y González, 2007) y se ha convertido en una enfermedad endémica en muchas áreas productivas.

UBICACIÓN TAXONÓMICA DEL PRSV

Familia *Potyviridae*

La familia *Potyviridae* es una de las más extensas dentro de los virus que afectan las plantas (Fauquet *et al.*, 2005). Se reconocen seis géneros en esta familia, con genomas monoparticulados (*Potyvirus*, *Macluravirus*, *Ipomovirus*, *Tritimovirus*, *Rymovirus*) de 650 a 900 nm de longitud y los *Bymovirus*, de genoma biparticulados con 250 a 300 nm y 500 a 600 nm respectivamente (Shukla *et al.*, 1998; Fauquet *et al.*, 2005). Los miembros monopartitas son transmitidos por áfidos (*Potyvirus*, *Macluravirus*), ácaros (*Rymovirus*, *Tritimovirus*) o moscas blancas (*Ipomovirus*), y los bipartitas (*Bymovirus*) mediante *Polymyxa graminis* (Shukla *et al.*, 1998).

Género *Potyvirus*

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

Los miembros del género *Potyvirus* tienen en común la morfología de los viriones, compuestos por partículas lisas, flexuosas y en forma de varilla; con una longitud de 650 a 950 nm y de 12 a 15 nm de diámetro (Shukla *et al.*, 1998). El genoma de los potyvirus posee una simple cadena de ácido ribonucleico (ARN) orientada en sentido positivo (Fauquet *et al.*, 2005); de aproximadamente 10 000 nucleótidos (Yeh *et al.*, 1992) y un único marco abierto de lectura (Riechmann *et al.*, 1992; Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001).

El ARN genómico posee en su extremo 5' una proteína terminal VPg (Riechmann *et al.*, 1989); que actúa como cebador en la replicación del ARN viral (Agrios, 2005).

La región terminal 3' contiene una cola poliadenilada de longitud variable (Hari *et al.*, 1979). Los viriones del PRSV están cubiertos por una cápsida proteica, con un peso molecular de 36 kDa (Gonsalves e Ishii, 1980). El genoma es monocistrónico y se traduce para dar una poliproteína que es procesada en proteínas funcionales individuales (Yeh y Gonsalves, 1985).

Genoma

El orden de los diferentes productos de genes virales en los potyvirus, orientados en sentido 5'!3' son: Proteína (P1), componente auxiliador de la proteinasa (HC-Pro) (del inglés: *Helper Component*), proteína (P3), primer péptido 6K (6K1), proteína de inclusión cilíndrica (CI) (del inglés: *Cylindrical Inclusion*), segundo péptido 6K (6K2), proteína de inclusión nuclear 'a' (NIa) (del inglés: *Nuclear Inclusion a*), proteína de inclusión nuclear 'b' (NIb) (del inglés: *Nuclear Inclusion b*), y la proteína de la cápsida (CP) (del inglés: *Coat Protein*). La proteína viral 'g' (Vpg) (del inglés: *Viral Protein g*) se localiza en el extremo 5'. La región no traducible (UTR) (del inglés: *Untranslatable Region*) y la cola poliadenilada (poli- A) se ubican en el extremo terminal 3' (Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001).

BIOLOGÍA Y EPIFITIOLOGÍA

Biotipos

Se han identificado dos biotipos para el PRSV (PRSV-p y PRSV-w), ambos poseen viriones

que no pueden diferenciarse en las pruebas serológicas pero difieren en su habilidad de infectar papaya. El PRSV-p infecta la papaya naturalmente y constituye el factor limitante de su producción a nivel mundial (Purcifull *et al.*, 1984). El PRSV-w se hospeda naturalmente en cucurbitáceas y es incapaz de infectar la papaya (Gonsalves, 1993; Gonsalves, 1998, Agrios, 2005). Aunque el PRSV-p puede transmitirse experimentalmente a cucurbitáceas, en el campo no es usual encontrarlo infectando esta especie (Gonsalves, 1998).

Sintomatología

El PRSV causa múltiples síntomas en *C. papaya* (Purcifull *et al.*, 1984). Los síntomas dependen del aislado viral, el estado de desarrollo y nivel nutricional de la planta, nivel de infección y de la temperatura (Conover, 1964). En Cuba, los síntomas producidos por el PRSV en condiciones de campo varían desde mosaico ligero, parches formados por áreas verde claro y verde oscuro alternadas en las hojas y zonas abultadas de color verde oscuro (islas verdes). Cuando la infección es severa se produce la deformación y reducción de la lámina foliar hasta alcanzar la filiformidad. En la zona superior del tallo y los pecíolos se forman manchas de apariencia aceitosa. En la superficie de los frutos afectados se producen manchas en forma de anillos concéntricos, que en casos severos pueden provocar ligera deformación y reducción del tamaño de estos (Figura 1).

El mosaico formado en las hojas de plantas de papaya infectadas con el PRSV está asociado con la disminución de pigmentos fotosintéticos (Cabrera *et al.*, 2009b). En frutos verdes, los anillos de apariencia aceitosa que se forman resaltan por su color más intenso. Cuando estos maduran los síntomas persisten, mostrando un color naranja castaño más oscuro (Persley, 2005).

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

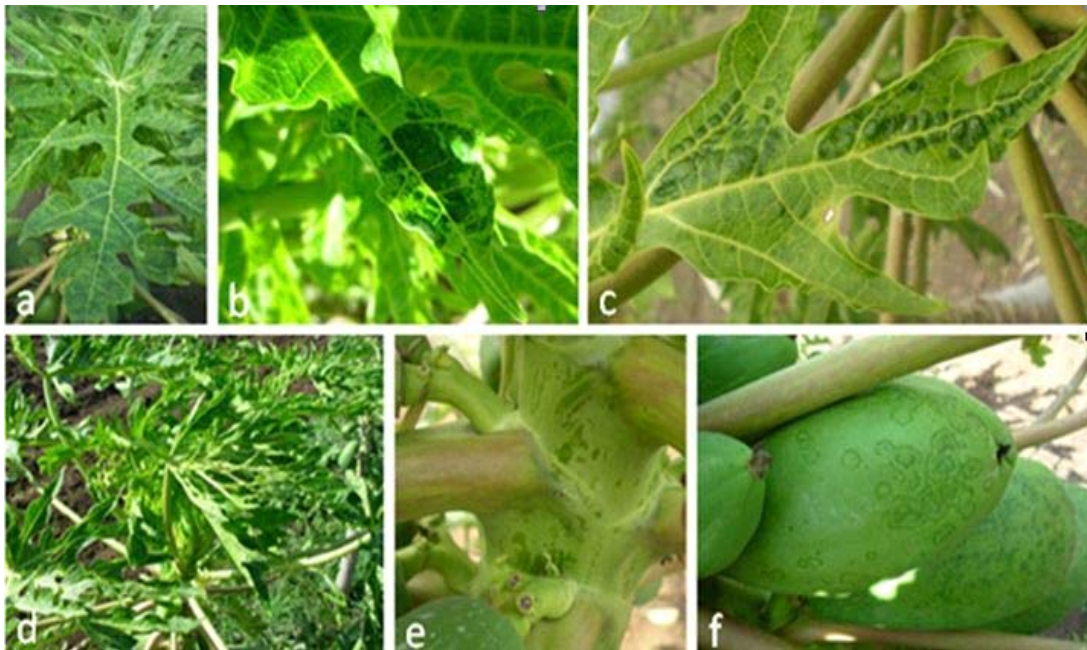


Figura 1. Síntomas producidos por el PRSV en papaya var. Maradol roja en campo. En hojas: a: Mosaico ligero; b: mosaico acentuado; c: Deformación y zonas abultadas de color verde oscuro (islas verdes); d: Reducción del limbo foliar y filiformidad. En tallo y pecíolos: e: Manchas de apariencia aceitosa. En frutos: f: Anillos concéntricos y ligera deformación.

Transmisión

En la naturaleza, la supervivencia de los virus de plantas depende en gran medida de su capacidad para dispersarse a nuevos hospedantes. Muchos de estos virus requieren, a diferencia de los virus de animales, de vectores para su transmisión. Esto se atribuye a la impermeabilidad de la cutícula que cubre la epidermis y las paredes de celulosa de las células vegetales, previniendo la entrada de las partículas virales (Raccah *et al.*, 2001; Dimmock *et al.*, 2007).

Los potyvirus se transmiten de manera no persistente por áfidos, (Raccah *et al.*, 2001), pertenecientes al orden *Hemiptera*, familia *Aphididae* (Blackman y Eastop, 2007). La transmisión no persistente se caracteriza por periodos de adquisición e inoculación muy cortos, de segundos a minutos (Pirone y Perry, 2002). El virus puede ser inoculado inmediatamente tras la adquisición. La capacidad de transmisión por el vector puede mantenerse durante periodos no prolongados (Ng y Perry, 2004). La capacidad del vector para inocular el virus se mantiene durante más tiempo, tras la adquisición luego de un período de ayuno (López-Moya y López-Abella, 1995).

En la región central de Cuba, *Myzus persicae* Sulzer, *Aphis gossypii* Glover y *Aphis spiraecola* Patch. son los áfidos que mayor importancia tienen en la transmisión del PRSV, los cuales pueden transportar el virus a través del estilete, desde algunos segundos hasta unos 25 minutos. *M. persicae* resulta una especie muy eficiente en el campo, pero se encuentra con poca frecuencia en las plantaciones de papaya. Sin embargo, *A. spiraecola* y *A. gossypii* son los de mayor incidencia, siendo *A. gossypii*, la que más frecuente las plantaciones. Estos insectos pueden incidir en el ciclo del cultivo correspondiente a los primeros cinco meses y tienen su mayor índice de peligrosidad durante los tres primeros (Hernández, 1994). González y Rodríguez (2008) en plantaciones de papaya de la Empresa de Cítricos de Jagüey Grande (Matanzas), señalaron la presencia de *A. gossypii*, *A. spiraecola* y *Toxoptera* sp., con gran número de individuos desde el mes de octubre hasta febrero. En estas áreas, el intercalado de naranja Valencia (*Citrus cinensis* (L.) Osbeck) con papaya puede favorecer la diseminación del PRSV en el campo.

La transmisión del PRSV por semillas no es significativa, aunque existen algunas referencias en este sentido (Bayot *et al.*, 1990).

Plantas hospedantes

El rango de hospedantes del PRSV-p es limitado a plantas de las familias *Caricaceae*, *Cucurbitaceae* y *Chenopodiaceae* (Gonsalves, 1993). Experimentalmente, se ha demostrado que las especies susceptibles al virus son: (*Carica papaya* L., *Chenopodium quinoa* W., *Cucumis melo* L., *Cucumis sativus* L., *Cucurbita maxima* D., *Cucurbita moschata* D., y *Cucurbita pepo* L.) (Purcifull *et al.*, 1984). En Cuba además, se señaló la especie *Thumbergia fragans* R., como hospedante del virus, luego de ser inoculada experimentalmente y se demostró su transmisión, mediante insectos, a plantas sanas (Hernández, 1994). En Jamaica, Chin *et al.* (2007) señalaron la especie *Momordica charantia* L. como un reservorio natural de PRSV-p, se comprobó la identidad del aislado mediante pruebas de transmisión vectorial y análisis molecular, detectando una alta homología en la secuencia obtenida con otras publicadas en la base de datos del Genbank, incluyendo una secuencia de Cuba.

VARIABILIDAD GENÉTICA Y EVOLUCIÓN

En los virus de plantas, la diversidad genética puede ser producida por diversos mecanismos. La variación en su genoma es generada por errores que ocurren durante su replicación. Los principales mecanismos responsables de producir variaciones son las mutaciones y las recombinaciones (García-Arenal *et al.*, 2001). Los virus de ARN tienen una mayor frecuencia de errores en el mecanismo de replicación, debido fundamentalmente, a que la enzima ARN polimerasa carece de actividad correctora de lectura y no posee un sistema de reparación post-replicación (Drake *et al.*, 1998; Drake y Holland, 1999).

El alto potencial de variación genética en los virus de plantas, no necesariamente deriva en una alta diversidad de las poblaciones virales. La selección mediante factores tales como la interacción virus-planta hospedante y virus-vector, así como la fluctuación genética al azar, reducen la diversidad dentro de las poblaciones virales. Existen evidencias de que la selección negativa de proteínas codificadas por el virus 'obliga' a que en estas se manifieste una variación menor que la observada en proteínas de su hospedante y vectores. Todo lo anterior

conduce a la idea de que la regla en la selección natural para estas entidades es mantener una pequeña diversidad poblacional y una alta estabilidad genética. Pues, las poblaciones virales generalmente están formadas por un pequeño número de variantes genéticas y otras poco frecuentes (García-Arenal *et al.*, 2001).

Los potyvirus parecen bien adaptados a la agricultura intensiva moderna de regiones templadas y trópicos, por ello es importante entender cómo han evolucionado y el origen de su variabilidad (Bousalem *et al.*, 2000). La variabilidad puede ser grande entre estos virus y los diferentes aislados de una misma especie pueden tener distintos rangos de hospedantes que los solapan con aquellos de otras especies (Spetz *et al.*, 2003).

La composición de nucleótidos y aminoácidos de la proteína de la cápsida son características individuales de las especies de virus en plantas. Existe poca homología a nivel de la proteína de la cápsida entre los diferentes géneros de virus de plantas. Excepto en la CP, muchos productos de los genes en los potyvirus contienen porciones de secuencias homólogas con otros géneros y familias de virus en plantas. Esto hace posible la clasificación de miembros del grupo de los potyvirus mediante análisis comparativos de la CP (Berger *et al.*, 1997; Adams *et al.*, 2004).

Las secuencias nucleotídicas de muchas especies de virus en plantas han sido determinadas y las relaciones filogenéticas deducidas (Bateson *et al.*, 1994; Bousalem *et al.*, 2000). En algunos de estos estudios se han analizado varios aislados de una misma especie, donde han sido detectadas diferencias que se correlacionan con su especialización y origen geográfico (Ohshima *et al.*, 2002).

Las secuencias de la CP han sido determinadas para varios aislados del PRSV-p en diferentes partes del mundo (Bateson *et al.*, 1994; Jain *et al.*, 1998; Silva-Rosales *et al.*, 2000), junto con un número menor de PRSV-w (Quemada *et al.*, 1990; Inoue-Nagata, 2007). La divergencia de nucleótidos y aminoácidos secuenciados entre estos aislados ha sido de 14 y 10%, respectivamente. Aunque los datos iniciales de EE.UU. y Australia (Quemada *et al.*, 1990; Bateson *et al.*, 1994), sugieren una

pequeña variación del PRSV en estos países. Algunos resultados de Brasil, India (Jain *et al.*, 1998) y México (Silva-Rosales, *et al.*, 2000), mencionan que puede haber una variación mayor dentro de otros países. Esta divergencia se ha señalado para secuencias de la CP del PRSV dentro y entre países como Australia (Bateson *et al.*, 1994), Brasil (Lima *et al.*, 2002), India (Jain *et al.*, 2004), México (Noa-Carrazana *et al.*, 2006), Tailandia, Vietnam, Filipinas (Bateson *et al.*, 2002) y Venezuela (Fernández-Rodríguez *et al.*, 2008). Noa-Carrazana *et al.* (2006) señalaron una mayor diversidad de aislados en regiones de alto desarrollo del cultivo, asociado con el movimiento de material vegetal e intercambio de recursos genéticos.

Los complejos escenarios y elevados niveles de diversidad genética del PRSV en diferentes países constituyen un gran desafío para controlar este virus. El éxito de muchas estrategias para su control, con el empleo de la resistencia obtenida mediante ingeniería genética (Gonsalves, 1998), y protección cruzada con aislados atenuados (Chiang *et al.*, 2007); se basa en la baja variación de las secuencias dentro de países o regiones designadas (Tennant *et al.*, 1994) y la continua exclusión de aislados con mayor variabilidad (Bateson *et al.*, 2002). Esto puede lograrse en países como Australia, donde la variación de los aislados es baja y puede asegurarse la cuarentena y restricción en el movimiento del material infectado (Thomas y Dodman, 1993). Sin embargo, en otros países el éxito de métodos particulares de control pueden diferir dependiendo de los perfiles individuales del PRSV. Incluso, donde la divergencia del PRSV-p es baja, altas divergencias en poblaciones de cucurbitáceas pueden actuar como depósitos potenciales de nuevos aislados del biotipo p. La exclusión de aislados también puede ser más difícil donde los países están más próximos a otros (Bateson *et al.*, 2002). En general, la variación del PRSV está relacionada principalmente a la situación geográfica, más que al rango de las plantas hospedantes (Bateson *et al.*, 1994).

En Cuba solo habían sido analizados biológicamente e identificados dos aislados verdaderos PRSV-HA (González *et al.*, 1988) y PRSV-VC (Hernández, 1994) correspondientes a La Habana y Villa Clara. Investigaciones recientes han permitido realizar estudios de

patogenicidad y virulencia de aislados colectados en otras provincias, como Cienfuegos (Cabrera *et al.*, 2009a), Pinar del Río, La Habana, Matanzas, Villa Clara y Sancti Spiritus (datos no publicados). Además, se ha registrado la secuencia de la CP para aislados del PRSV colectados en cinco provincias del país (Portal *et al.*, 2006; Arocha y Jones, 2007). Es vital determinar la variación genética del PRSV en las principales áreas productoras de papaya en el país, con el fin de aplicar métodos eficientes de manejo de la enfermedad.

Función y aplicaciones de la proteína de la cápsida de los potyvirus

El gen que codifica para la CP es uno de los mejor caracterizados en los potyvirus, debido a su utilidad en la taxonomía, estudios evolutivos y de diagnóstico (Shukla y Ward, 1988; 1989a; b), así como en la obtención de plantas con resistencia a enfermedades (Fitch *et al.*, 1992; Fermín *et al.*, 2004). La CP se divide en tres dominios: el amino-terminal, región central y carboxilo-terminal. Las regiones carboxilo y amino-terminal son variables, expuestas hacia la superficie de la proteína en la partícula viral (Shukla y Ward, 1989b); esta última contiene epítopos de mayor especificidad del virus (Shukla *et al.*, 1988). Funciona en la encapsidación, amplificación, transmisión por áfidos y movimiento del virus de célula a célula y a larga distancia (Urcuqui-Inchima *et al.*, 2001). Se ha señalado la presencia de un bloque de tres aminoácidos DAG (Asp-Ala-Gly) altamente conservado en la región amino-terminal de esta proteína, relacionado con la transmisión por áfidos (Atreya *et al.*, 1995; López-Moya *et al.*, 1999). La inducción de mutaciones en este triplete de aminoácidos está asociada con la pérdida de la transmisión en los potyvirus (Atreya *et al.*, 1991).

La transformación de plantas mediante el empleo del gen de la CP ha sido el mejor método encontrado para la protección de las plantas frente a la destructiva enfermedad causada por el PRSV y se ha empleado en varios países productores de papaya (Jiang *et al.*, 2005; Souza *et al.*, 2005; Tennant *et al.*, 2005; Tecson-Mendoza *et al.*, 2008). En este sentido, Fitch *et al.* (1992) obtuvieron las primeras plantas de papaya transgénicas que expresaban el gen de la CP de un aislado atenuado del PRSV. Bau *et al.* (2003)

regeneraron plantas de papaya transgénicas que portaban el gen de la CP de un aislado severo procedente de Taiwán y obtuvieron dos líneas con amplio grado de resistencia a aislados de diferentes zonas geográficas, con gran potencial para el control del PRSV en Taiwán y países como Hawái, Tailandia, y México. Además, se ha comprobado que el uso de la CP para la obtención de plantas resistentes al PRSV se puede ver limitada por la homología entre el transgén y el aislado presente en determinada región (Gonsalves, 2002).

CONCLUSIONES

El PRSV provoca afectaciones severas en diferentes países productores de *C. papaya* y las dificultades que enfrenta el manejo de esta enfermedad en campo son diversas. El modo de transmisión de este virus dificulta la eficiencia de los plaguicidas, pues no actúan con la rapidez necesaria para evitar su transmisión. En muchos países se ha aplicado la transformación genética como vía de desarrollar producciones estables en zonas de alta incidencia de esta enfermedad viral, con resultados satisfactorios. En Cuba, en el Instituto de Biotecnología de las Plantas se ha trabajado en la obtención de líneas transgénicas de papaya con resistencia al PRSV (datos no publicados). El desarrollo de estas estrategias requieren de estudios epifitológicos y moleculares de aislados procedentes de diferentes zonas del país, como premisa para el control de esta enfermedad viral. Los resultados hasta el presente indican que es posible a partir del conocimiento del agente patógeno, diseñar mejores estrategias para su manejo con el empleo de técnicas biotecnológicas.

REFERENCIAS

- Acuña, J, Zayas F (1946) El mosaico y otras enfermedades de la fruta bomba (*Carica papaya* L.). Circular 85, Estación Experimental Agronómica de Santiago de las Vegas. La Habana
- Adams, MJ, Antoniw JF, Fauquet CM (2004) Molecular criteria for genus and species discrimination within the family *Potyviridae*. *Archives of Virology* 150: 459-479
- Agrios, GN (2005) *Plant pathology*. 5ta ed. Elsevier, San Diego, California
- Arocha, Y, Jones P (2007) Potyvirus identified in papaya in the 2007 survey in Cuba. [en línea] en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> [consulta: 8 diciembre 2008]
- Atreya, PL, Atreya CD, Pirone TP (1991) Amino acid substitutions in the coat protein result in loss of insect transmissibility of a plant virus. *Proceedings of the National Academic of Sciences USA* 88: 7887-7891
- Atreya, PL, Lopez-Moya JJ, Chu M, Atreya ChD, Pirone TP (1995) Mutational analysis of the coat protein N-terminal amino acids involved in potyvirus transmission by aphids. *Journal of General Virology* 76: 265-270
- Badillo, VM (2000) *Carica* L. vs *Vasconcellea* St. Hil. (*Caricaceae*) con la rehabilitación de este último. *Ernstia* 10: 74-99
- Barreto, PD, dos Santos AA, Dantas JLL (2002) Genótipos de mamão sob infecção natural pelo vírus da mancha-anelar. *Revista Ciência Agronômica* 33: 43-47
- Bateson, MF, Henderson J, Chaleeprom W, Gibbs AJ, Dale JL (1994) *Papaya ringspot potyvirus*: isolate variability and the origin of PRSV type P (Australia). *Journal of General Virology* 75: 3547-3553
- Bateson, MF, Lines RE, Revill P, Chaleeprom W, Ha CV, Gibbs AJ, Dale JL (2002) On the evolution and molecular epidemiology of the potyvirus *Papaya ringspot virus*. *Journal of General Virology* 83: 2575-2585
- Bayot, RG, Villegas VN, Magdalita PM, Jovel-Lana MD, Espino TM, Exconde SB (1990) Seed transmissibility of *Papaya ringspot virus*. *Philippine Journal of Crop Science* 15: 107-111
- Berger, PH, Wyatt SD, Shiel PJ, Silbernagel MJ, Druffel K, Mink GI (1997) Phylogenetic analysis of the Potyviridae with emphasis on legume-infecting potyviruses. *Archives of Virology* 142: 1979-1999
- Blackman, RL, Eastop V (2007) Taxonomic Issues. En: Van Emden, HF, Harrington R (Eds) *Aphids as crop pests*, pp. 1-30. CAB International, Wallingford
- Bousalem, M, Douzery EJP, Fargette D (2000) High genetic diversity, distant phylogenetic relationships and intraspecies recombination events among natural populations of Yam mosaic virus: a contribution to understanding potyvirus evolution. *Journal of General Virology* 81: 243-255
- Cabrera, D, Portal O, Cruz M, Hernández R (2009a) Diagnostic and biological characterization of a *Papaya ringspot virus* isolate (PRSV-p) from Cienfuegos, Cuba. *Phytopathology* 99: S189

- Cabrera, D, Sosa R, Portal O, Albuquerque Y, González JE, Hernández R (2009b) Alterations induced by *Papaya ringspot potyvirus* on chlorophyll content in papaya (*Carica papaya* L.) leaves. *Fitosanidad* 13: 125-126
- Cabrera, D, Cruz M, Portal O (2010) Efecto de la temperatura en la virulencia del *Virus de la mancha anular de la papaya* (PRSV-p). *Fitosanidad* 14: 123-125
- Chiang, CH, Lee CY, Wang CH, Jan FJ, Lin SS, Chen TC, Raja JAJ, Yeh SD (2007) Genetic analysis of an attenuated *Papaya ringspot virus* strain applied for cross-protection. *European Journal of Plant Pathology* 118: 333-348
- Chin, M, Ahmad MH (2007) *Momordica charantia* is a weed host reservoir for *Papaya ringspot virus* type p in Jamaica. *Plant Disease* 91: 1518
- Conover, RA (1964) Distortion ringspot, a severe virus disease of papaya in Florida. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 77: 440-444
- Dimmock, NJ, Easton AJ, Leppard KN (2007) *Introduction to modern virology*. 6^{ta} ed. Blackwell Publishing Ltd. Maldem, MA
- Drake, JW, Charlesworth B, Charlesworth D, Crow JF (1998) Rates of spontaneous mutation. *Genetic* 148: 1667-1686
- Drake, JW y Holland JJ (1999) Mutation rates among RNA viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 96: 13910-13913
- FAO (2009) FAOSTAT, FAO Statistics Division. Crops production quantity. [en línea] en: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx> [consulta: 8 de septiembre de 2009]
- Fariñas, ME, López E (1986) Enfermedades virales en diferentes localidades productoras de frutabomba en Cuba. *Simposio de Citricultura Tropical*. La Habana, Cuba
- Fauquet, CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselbelguer U, Ball LA (2005) *Virus Taxonomy: The Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier. Amsterdam
- Fermín, G, Inglessis V, Garboza C, Rangel S, Dagert M (2004) Engineered resistance against *Papaya ringspot virus* in Venezuelan transgenic papayas. *Plant Disease* 88: 516-522
- Fernández-Rodríguez, T, Rubio L, Carballo O, Marys E (2008) Genetic variation of *Papaya ringspot virus* in Venezuela. *Archives of Virology* 153: 343-349
- Fitch, MMM, Manshardt RM, Gonsalves D, Slightom JL, Sanford JC (1992) Virus resistance papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of *Papaya ringspot virus*. *Bio-Technology* 10: 1466-1472
- García-Arenal, F, Fraile A, Malpica JM (2001) Variability and genetic structure of plant virus populations. *Annual Review of Phytopathology* 39: 157-86
- Gonsalves, D, Ishii M (1980) Purification and serology of *Papaya ringspot virus*. *Phytopathology* 70: 1028-1032
- Gonsalves, D (1993) *Papaya ringspot virus* (P-strain). [en línea] en: <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/Crop/Type/papring.htm> [consulta: 8 diciembre 2009]
- Gonsalves, D (1998) Control of *Papaya ringspot virus* in papaya: a case study. *Annual Review of Phytopathology* 36: 415-437
- Gonsalves, D (2002) Coat protein transgenic papaya 'acquired' immunity for controlling *Papaya ringspot virus*. *Current Topics in Microbiology and Immunology* 266: 73-83
- Gonsalves, D, Ferreira S, Manshardt R, Fitch M, Slightom J (1998) Transgenic virus resistant papaya: New hope for control of *Papaya ringspot virus* in Hawaii. *APSnet Feature, American Phytopathological Society*. [en línea] en: <http://www.apsnet.org/education/feature/papaya> [consulta: 5 de marzo de 2009]
- González, G, Mejías Y, Rodríguez D (1988) Virus de la mancha anular de la fruta bomba (*Papaya ringspot virus*) en Cuba. *Ciencia y Técnica en la Agricultura, Serie Protección de Plantas* 11: 17-32
- González, L, Rodríguez D (2008) Dinámica poblacional de vectores del Virus de la mancha anular de la papaya intercalada con naranja valencia y diseminación de la enfermedad. *Centro Agrícola* 35: 55-60
- Hari, V, Siegel A, Rozek D, Timberlake WE (1979) The RNA of *Tobacco etch virus* contains poly(A). *Virology* 92: 568-571
- Hernández, R (1994) Estudio sobre el *Virus de la mancha anular de la fruta bomba* (*Carica papaya* L.). Señalización de vectores y control e integración con otras medidas fitosanitarias. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas. IBP, Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas, Santa Clara
- Inoue-Nagata, AK, Franco CD, Martin DP, Martin DP, Rezende JA, Ferreira GB, Dutra LS, Nagata T (2007) Genome analysis of a severe and a mild isolate of *Papaya ringspot virus*-type W found in Brazil. *Virus Genes* 35: 119-127

- Jain, RK, Pappu HR, Pappu SS, Varma A, Ram RD (1998) Molecular characterization of *Papaya ringspot potyvirus* isolates from India. *Annals of Applied Biology* 132: 413-425
- Jain, RK, Sharma J, Sivakumar AS, Sharma PK, Byadgi AS, Verma AK, Varma A (2004) Variability in the coat protein gene of *Papaya ringspot virus* isolates from multiple locations in India. *Archives of Virology* 149: 2435-2442
- Jensen, DD (1949) Papaya virus diseases with special reference to *papaya ringspot*. *Phytopathology* 39: 191-211
- Jiang, L, Maoka T, Komori S, Fukamachi H, Kato H, Ogawa K (2005) An efficient method for sonification assisted Agrobacterium-mediated transformation of coat protein (CP) coding genes into papaya (*Carica papaya* L.). *Plant Cell Reports* 24: 426-432
- Lima, RCA, Souza JMT, Pio-Ribeiro G, Lima JAA (2002) Sequences of the coat protein gene from Brazilian isolates of *Papaya ringspot virus*. *Fitopatologia Brasileira* 27: 174-180
- López-Moya, JJ, López-Abella D (1995) Transmisión de virus de plantas por insectos vectores. En: Llacer, G, López MM, Trapero A, Bello A (Eds) *Patología Vegetal*, pp. 275-300. Sociedad Española de Fitopatología, Madrid
- López-Moya, JJ, Wang RY, Pirone TP (1999) Context of the coat protein DAG motif affects potyvirus transmissibility by aphids. *Journal of General Virology* 80: 3281-3288
- MINAGRI (2008) Instructivo técnico del cultivo de la fruta bomba. INIVIT. Villa Clara
- Mishra, M, Chandra R, Saxena S (2007) Papaya. En: Kole, C (Ed) *Genome mapping and molecular breeding in plants*, pp. 343-351. Springer-Verlag, Heidelberg
- Morales, A, Medina D, Yaguachi B (2004) Diversidad genética, filogenética y distribución geográfica del género *Vasconcellea* en Sur de Ecuador. *Lyonia* 7: 15-27
- Ng, JCK, Perry KL (2004) Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular Plant Pathology* 5: 505-511
- Noa-Carrazana, JC, González-de-León D, Ruiz-Castro BS, Piñero D, Silva-Rosales L (2006) Distribution of *Papaya ringspot virus* and *Papaya mosaic virus* in papaya plants (*Carica papaya*) in Mexico. *Plant Disease* 90: 1004-1011
- Ohshima, K, Yamaguchi Y, Hirota R, Hamamoto T, Tomimura K, Tan Z, Sano T, Azuhata F, Walsh JA, Fletcher J, Chen J, Gera A, Gibbs A (2002) Molecular evolution of *Turnip mosaic virus*: evidence of host adaptation, genetic recombination and geographical spread. *Journal of General Virology* 83: 1511-1521
- Pérez, LF, González G (2007) Enfermedades del Papayo: descripción, epidemiología y manejo. Editorial Científico-Técnica, La Habana
- Persley, D (2005) Papaya Ringspot Disease. Department of Primary Industries and Fisheries. Queensland Government. [en línea] en: <http://www2.dpi.qld.gov.au/horticulture/5333.html> [consulta: 8 diciembre de 2009]
- Pirone, TP, Perry KL (2002) Aphids-nonpersistent transmission. *Advances in Botanical Research* 36: 1-19
- Portal, O, Cabrera D, Sánchez A, Darías AL, Gonzáles JE, Gómez R (2006) Molecular characterization of two Cuban isolates of the *Papaya ringspot virus* by means of coat protein analysis. *Communication of Agricultural Applied Biological Sciences* 71: 1203-1205
- Purcifull, DE, Edwardson JR, Hiebert E, Gonsalves D (1984) *Papaya ringspot virus*. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 292
- Quemada, H, Hostis BL, Gonsalves D, Reardon IM, Heinrikson R, Hiebert EL, Sieu LC, Slightom JL (1990) The nucleotide sequence of the 3' terminal regions of *Papaya ringspot virus* strains W and P. *Journal of General Virology* 71: 203-210
- Raccach, B, Huet H, Blanc S (2001) Potyviruses. En: Harris, KF, Smith OP y Duffus JE (Eds) *Virus-insect-plant interactions*, pp. 181-206. Academic Press, New York
- Riechmann, JL, Laín S, Garcia JA (1989) The genome-linked protein and 5' end RNA sequence of *Plum pox potyvirus*. *Journal of General Virology* 70: 2785-2789
- Riechmann, JL, Laín S, Garcia JA (1992) Highlights and prospects of potyvirus molecular biology *Journal of General Virology* 73: 1-16
- Rieger, M (2006) *Introduction to Fruit Crops*. The Haworth Press, New York
- Roig, JT (1965) *Diccionario Botánico de Nombres Vulgares Cubanos*. 3ª ed, Editora del Consejo Nacional de Universidades, La Habana
- Shukla, DD, Strike PM, Tracy SL, Gough KH, Ward CW (1988) N and C termini of the coat protein of potyviruses are surface-located: The N terminus contains the major virus-specific epitopes. *Journal of General Virology* 69: 1497-1508

- Shukla, DD, Ward CW (1988) Amino acid sequence homology of coat proteins as a basis for identification and classification of the potyvirus group. *Journal of General Virology* 69: 2703-2710
- Shukla, DD, Ward CW (1989a) Identification and classification of potyviruses on the basis of coat protein sequence data and serology. *Archives of Virology* 106: 171-200
- Shukla, DD, Ward CW (1989b) Structure of potyvirus coat proteins and its application in the taxonomy of the potyvirus group. *Advances in Virus Research* 36: 273-314
- Shukla, DD, Ward CW, Brunt AA, Berger PH (1998) Potyviridae family. AAB\DPV Descriptions of Plant Viruses No. 366
- Silva-Rosales, L, Becerra-Leor N, Ruíz-Castro S, Téliz-Ortiz D, Noa-Carrazana JC (2000) Coat protein sequence comparisons of three Mexican isolates of *Papaya ringspot virus* with other geographical isolates reveal a close relationship to American and Australian isolates. *Archives of Virology* 145: 835-843
- Souza, MT, Nickel O, Gonsalves D (2005) Development of virus resistant transgenic papayas expressing the coat protein gene from a Brazilian isolate of *Papaya ringspot virus*. *Fitopatologia Brasileira* 30: 357-365
- Spetz, C, Taboada AM, Darwich S, Ramsell J, Salazar LF, Valkonen JPT (2003) Molecular resolution of a complex of potyviruses infecting solanaceous crops at the centre of origin in Peru. *Journal of General Virology* 84: 2565-2578
- Tecson-Mendoza, EM, Laurena AC, Botella R (2008) Recent advances in the development of transgenic papaya technology. *Biotechnology Annual Review* 14: 423-462
- Tennant, P, Ahmad MH, Gonsalves D (2005) Field resistance of coat protein transgenic papaya to *Papaya ringspot virus* in Jamaica. *Plant Disease* 80: 841-847
- Tennant, PF, Gonsalves C, Ling KS, Fitch M, Manshardt R, Slightom JL, Gonsalves D (1994) Differential protection against *Papaya ringspot virus* isolates in coat protein gene transgenic papaya and classically cross-protected papaya. *Phytopathology* 84: 1359-1366
- Thomas, JE, Dodman RL (1993) The first record of *Papaya ringspot virus* type P in Australia. *Australasian Plant Pathology* 22: 2-7
- Tripathi, S, Suzuki JY, Ferreira SA, Gonsalves D (2008) *Papaya ringspot virus*-P: characteristics, pathogenicity, sequence variability and control. *Molecular Plant Pathology* 9: 269-280
- Urcuqui-Inchima, S, Haenni AL, Bernardi F (2001) Potyvirus proteins: a wealth of functions. *Virus Research* 74: 157-175
- Vegas, A, Gonzalez A, Trujillo G, Pino I (1998) Dificultad en el diagnóstico serológico de cepas atenuadas del *Virus de la mancha anillada distorsionante de la lechosa* (PRSV). *Fitopatología Venezolana* 11: 40-44
- Yeh, SD, Gonsalves D (1985) Translation of *Papaya ringspot virus* RNA *in vitro*: detection of a possible polyprotein that is processed for capsid protein, cylindrical inclusion protein and amorphous inclusion protein. *Virology* 143: 260-271
- Yeh, SD, Bau HJ, Kung YJ y Yu TA (2007) *Papaya*. En: Pua, EC, Davey MR (Eds) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, pp. 73-96. Springer-Verlag, Heidelberg
- Yeh, SD, Jan FJ, Chiang CH, Doong TJ, Chen MJ, Chung PH, Bau HJ (1992) Complete nucleotide sequence and genetic organization of *Papaya ringspot virus* RNA. *Journal of General Virology* 73: 2531-2541