

# Radial graphics to characterize PRSV-P symptoms in *Carica papaya*

## Gráficos radiales para caracterizar síntomas de PRSV-P en *Carica papaya*

David Sósol-Reyes, Juan A. Villanueva-Jiménez\*, Francisco Osorio-Acosta, Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, Programa de Posgrado en Agroecosistemas Tropicales, Km 88.5 Carretera Federal Xalapa-Veracruz, Manlio F. Altamirano, Veracruz, CP 91690, México; Juan C. Noa-Carrazana, Universidad Veracruzana, Instituto de Biotecnología y Ecología Aplicada, (INBIOTECA) Avenida de las Culturas Veracruzanas No. 101. Colonia Emiliano Zapata, C.P. 91090, Xalapa, Veracruz, México. \*Autor para correspondencia: javj@colpos.mx

Recibido: 13 de Diciembre, 2019.

Aceptado: 10 de Abril, 2020.

Sósol-Reyes D, Villanueva-Jiménez JA, Osorio-Acosta F and Noa-Carrazana JC. 2020. Radial graphics to characterize PRSV-P symptoms in *Carica papaya*. Mexican Journal of Phytopathology 38(2): 280-292.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1912-1

Primera publicación DOI: 17 de Abril, 2020.

First DOI publication: April 17, 2020.

**Resumen.** El *Papaya ringspot virus* (PRSV-P) produce diferentes síntomas, los que podrían variar con las condiciones ambientales y con la severidad. El objetivo fue caracterizar la diversidad de síntomas mediante gráficos radiales y analizar la evidencia patogénica como soporte de la variabilidad poblacional de PRSV-P presente en plantaciones comerciales de papayo var. Maradol roja en la zona Centro del estado de Veracruz. Se revisaron visualmente los síntomas prevalentes en  $\approx 200$  plantas por parcela. Se colectaron hojas que conformaron seis grupos diferenciales de síntomas. Por cada grupo se

**Abstract.** The *Papaya ringspot virus* (PRSV-P) produces different symptoms, which might vary, depending on the environmental conditions and severity. The aim was to characterize the diversity of symptoms using radial graphs and analyze the pathogenic evidence to support the population variability of PRSV-P present in commercial plantations of papaya var. Red Maradol in the Central area of the Veracruz state. Symptoms prevalent in  $\approx 200$  plants per orchard were visually revised. Collected leaves were classified into six groups differentiated by symptoms. For each group of symptoms, a representative leaf was taken to mechanically inoculate ten papaya plants in the greenhouse. The identity of the virus was confirmed by RT-PCR. It was recorded when the same symptoms appeared in the inoculated plants, and if the behavior and severity of each collect were observed during two seasons of the year. Thus, six collections were characterized by the group of symptoms observed inside the greenhouse, and then they were presented in radial diagrams to facilitate

tomó una hoja representativa para inocular mecánicamente diez plantas de papayo en invernadero. La identidad del virus se confirmó por RT-PCR. Se registró en tiempo en el que se presentaron los mismos síntomas en las plantas inoculadas, así como el comportamiento y la severidad de cada colecta en dos épocas del año. Por tanto, se caracterizaron seis colectas por grupo de síntomas mostrado a nivel invernadero, los cuales se presentan en diagramas radiales para facilitar su uso como guía de campo. La manifestación de síntomas del PRSV-P en huertas presentó variabilidad respecto a los síntomas mostrados en invernadero, e incluso se presentó menor severidad durante primavera-verano; esto podría ser un indicador de la variabilidad genética del virus y de su respuesta a la temperatura ambiente prevaleciente.

**Palabras clave:** diversidad de síntomas, papayo, severidad, variabilidad, virus.

Una de las principales limitantes de la producción de los agroecosistemas con papayo (*Carica papaya*) es la enfermedad ocasionada por el virus de la mancha anular del papayo (PRSV-P) (Rivas-Valencia *et al.*, 2008). Este virus pertenece al género *Potyvirus* y se transmite de manera no persistente por diferentes especies de áfidos, presentes en plantas arvenses en áreas cercanas o dentro de la parcela. La enfermedad se manifiesta con clorosis en las hojas jóvenes, moteado amarillo y verde, aclaramiento de las nervaduras, manchas aceitosas en los peciolos, tallo y frutos; más avanzada la enfermedad, se observa la deformación y reducción del área foliar (Chalak *et al.*, 2017). Estos síntomas acompañan una disminución en la calidad de la hoja y puede ocasionar pérdidas del 30 al 100% de la producción (Hernández-Castro *et al.*, 2015). El control químico dirigido a la eliminación de

their use as a field guide. PRSV-P symptoms from orchards presented variability in relation to those shown in the greenhouse, been also less severe during the spring-summer season; this might be an indicator of the genetic variability of the virus and its response to the prevailing environmental temperature.

**Key words:** diversity of symptoms, papaya, severity, variability, virus.

One of the major constraints to papaya (*Carica papaya*) production agroecosystems is the disease caused by the *Papaya ringspot virus* (PRSV-P) (Rivas-Valencia *et al.*, 2008). This virus belongs to the *Potyvirus* genus and is transmitted in a non-persistent manner transmitted by different aphid species present in weeds, in the plot or nearby areas. Symptoms of the disease are chlorosis on young leaves, yellow and green mottling, clearing along leaf veins, and oily spots on the petioles, stems, and fruit. In advanced stages, the disease causes deformation and reduction of the leaf area (Chalak *et al.*, 2017). These symptoms reduce the quality of leaves and cause production losses ranging from 30 to 100% (Hernández-Castro *et al.*, 2015). Chemical control to eliminate the vectors has proven to be ineffective. Cultural control seeks to identify and eliminate plants that have been recently infected acting as a source of inoculum. These measures are intended to delay viral incidence and partially reduce crop damage (Hernández-Castro *et al.*, 2010). In Mexico, the genetic variability of PRSV-P can be as wide as the diversity of ecological niches where papaya is grown (Ordáz-Pérez *et al.*, 2017). This variability can cause some strains to develop different symptoms (Spetz *et al.*, 2003). Cabrera-Mederos *et al.* (2008) state that the symptoms depend on the viral isolate. On their part, González

vectores, es ineficiente; el control cultural busca identificar y eliminar plantas recientemente infectadas, que actúan como fuente de inóculo; medidas que están dirigidas a retrasar la incidencia viral y disminuir parcialmente el daño al cultivo (Hernández-Castro *et al.*, 2010). En México, la variabilidad genética del PRSV-P puede ser tan amplia como la diversidad de los nichos ecológicos en donde se cultiva papayo (Ordáz-Pérez *et al.*, 2017). Esta variabilidad puede ocasionar que algunas cepas tengan distintos síntomas (Spetz *et al.*, 2003). Cabrera-Mederos *et al.* (2008) afirman que los síntomas dependen del aislado viral. Por su parte, González *et al.* (2003) lograron distinguir diferencias en la sintomatología producida por cepas atenuadas y severas de PRSV-P al inocularlas mecánicamente en distintas especies de hospederos. Noa-Carrazana *et al.* (2006) reportaron al menos tres aislados diferentes del virus, provenientes de los municipios de Tierra Blanca, Cotaxtla, La Antigua, Paso de Ovejas, todos de la zona central de Veracruz, que conforman la principal zona productora de esta fruta. Por lo tanto, se planteó como objetivo caracterizar la diversidad de síntomas mediante gráficos radiales y analizar la evidencia patogénica como soporte de la variabilidad poblacional de PRSV-P presente en plantaciones comerciales de papayo var. Maradol roja en la zona Centro del estado de Veracruz.

Se colectó tejido foliar de plantas de papayo var. Maradol roja de ocho a quince meses de edad en parcelas comerciales en los municipios de La Antigua, Cotaxtla, Tlalixcoyan y Tierra Blanca, Veracruz, México. Las plantas mostraban los siguientes síntomas característicos de PRSV-P: aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas, mosaico liso, parches verdes, islas verdes, estrías, clorosis general y sectorial, arropollamiento, epinastia y filiformidad. Se inspeccionaron cinco parcelas de cada municipio, donde se observaron  $\approx 200$  plantas enfermas por parcela, lo cual permitió distinguir

*et al.* (2003) were able to distinguish differences in the symptomatology produced by attenuated and severe strains of PRSV-P when they were mechanically inoculated in different host species. Noa-Carrazana *et al.* (2006) reported at least three different virus isolates collected in Tierra Blanca, Cotaxtla, La Antigua and Paso de Ovejas municipalities, all of them located in the central zone of the State of Veracruz, which include the main papaya producing area. Therefore, the objective of this study was to characterize the diversity of symptoms using radial graphics and analyze the pathogenic evidence to support the variability of PRSV-P populations found in commercial orchards of papaya Maradol Roja variety in the central zone of Veracruz.

For the experiment, foliar tissue of 8-15-month-old plants of papaya Maradol Roja variety was collected in the municipalities of La Antigua, Cotaxtla, Tlalixcoyan and Tierra Blanca, Veracruz, Mexico. The plants had the following symptoms characteristic to PRSV-P: clearing and ramification of the main leaf veins, smooth mosaic, green patches and isles, streaks, general and sectorial chlorosis, bunchy appearance, epinasty and filiformity. In the five plots that were inspected in each municipality,  $\approx 200$  infected plants were observed, which made it possible to distinguish the differences or similarities of the symptoms in the field. Two leaves per infected plant showing differential disease severity were collected. They were kept in hermetic plastic bags in a cooler with cooling gels until they were used later for mechanical transmission. In the laboratory, six groups of leaves with symptoms and differential severity were formed. From each group of similar symptoms, the most representative leaf was taken for mechanical transmission in 10 three-month-old healthy papaya plants. For this, papaya seeds of the Maradol Roja variety were sown (Semillas del Caribe®). Seedbed trays were washed and

las diferencias o similitudes en síntomas presentes en campo. Se colectaron dos hojas por planta enferma, que mostraban severidad diferencial de la enfermedad; se mantuvieron en bolsas herméticas en una hielera con geles refrigerantes, para su uso posterior en transmisión mecánica. En laboratorio, se conformaron seis grupos de hojas con síntomas y severidad diferencial. Por cada grupo de síntomas similares se tomó la hoja más representativa para la transmisión mecánica en 10 plantas de papayo sanas de tres meses de edad. Para ello, se sembraron semillas de papayo var. Maradol Roja (Semillas del Caribe®). Las charolas para almácigo se lavaron y desinfectaron (NaClO 5%), y se llenaron con el sustrato Cosmo Peat®. Las plántulas se trasplantaron a bolsa negra para vivero (40 x 40 cm, calibre 600), en una mezcla 1:1 de sustrato Cosmo Peat® y suelo rico en materia orgánica; se llevaron a un invernadero con malla antiáfidos del Campus Veracruz, Colegio de Postgraduados. Se aplicó imidacloprid en drench a las plantas para prevenir que cualquier áfido pudiera enfermar a las plantas, y abamectina para prevenir la presencia de ácaros; las aplicaciones se realizaron cada siete días.

Para la inoculación se maceraron 2 g de hoja infectada y se le agregaron 10 mL de una solución tampón fosfato de potasio 0.01 M pH 7. En las tres primeras hojas completamente expandidas del ápice de la planta sana, se causó una lesión con carborundum; inmediatamente se aplicó la solución tampón con las partículas virales, con la ayuda de un hisopo (Valderrama *et al.*, 2015). En total se inocularon 60 plantas, 10 plantas por grupo de síntomas, además, se separaron 10 plantas sanas como testigo. Se consideró como colecta al virus inoculado en 10 plantas, lo cual se corroboró mediante análisis molecular. En el Cuadro 1 se propone una nomenclatura que describe cada síntoma foliar producido por el PRSV-P en las plantas inoculadas. Para observar si los síntomas caracterizados al momento

desinfectado with 5% NaClO, and then filled with Cosmo Peat® substrate. Papaya seedlings were transplanted to black plastic bags (40 x 40 cm, 600 gauge) filled with a 1:1 mixture of Cosmo Peat® substrate and soil rich in organic matter. Later, they were taken to a greenhouse with anti-aphid mesh at Campus Veracruz of Colegio de Postgraduados. Imidacloprid was applied in drench to the plants to protect them against aphids, and abamectin was applied every seven days to protect them against mite attack.

For inoculation, 2 g of infected leaves were macerated, and 10 mL of a pH 7, 0.01 M potassium phosphate buffer solution were added. A lesion to the first three completely expanded leaves of healthy plants was made with carborundum, and a buffer solution containing viral particles was immediately applied using a cotton swab (Valderrama *et al.*, 2015). A total of 60 plants were inoculated, 10 plants per group of symptoms; 10 healthy plants were separated and used as the control. The virus inoculated in 10 plants was considered as a virus collection, which was corroborated by conducting a molecular analysis. In Table 1 we propose a nomenclature for each foliar symptom produced by PRSV-P in the plants that were inoculated. To observe if the symptoms characterized during the plant field-collection could be replicated in the greenhouse, they were ordered based on a scale for disease severity (Table 2) (Flores-Bautista *et al.*, 2018). Radial graphics were constructed using Sigma Plot® software to facilitate the characterization of the symptoms system and associate it with each collection. The graphics make it possible to observe and compare the relative values among collections with an initial central point that indicates a leaf with no-symptoms.

For molecular identification, a RT-PCR test was conducted using the plants inoculated in the

**Cuadro 1. Descripción de síntomas observados en invernadero.**  
**Table 1. Description of the symptoms observed in the greenhouse.**

Síntoma	Descripción
Aclaramiento nervaduras principales	Aclaramiento o amarillamiento de nervaduras primarias
Aclaramiento nervaduras ramificadas	Aclaramiento o amarillamiento de nervaduras secundarias
Mosaico liso	Zonas claras distribuidas en la superficie de la hoja
Parches verdes	Zonas verde intenso que alternan en la superficie de la hoja
Islas verdes	Zonas abultadas de color verde intenso hacia la parte superficial
Estrías	Tejidos de la lámina foliar atrofiados, formando líneas sinuosas blanquecinas
Clorosis general	Amarillamiento de la lámina foliar
Clorosis sectorial	Amarillamiento en zonas puntuales de la lámina foliar
Arrepollamiento	“Dedos” de las hojas no desplegados, de consistencia crespada, que en su conjunto dan una apariencia apretada
Epinastia	Concavidad en márgenes de la hoja que dirigen el foliolo al haz
Filiformidad	Reducción de la lámina foliar o “mano de chango”

de la colecta en campo se replicaban en el invernadero, éstos se ordenaron de acuerdo a una escala de severidad del daño (Cuadro 2) (Flores-Bautista *et al.*, 2018). Se elaboraron gráficos radiales con el programa Sigma Plot® para facilitar la caracterización del sistema de síntomas y relacionarlo con cada colecta. Con los gráficos se pueden observar y comparar los valores relativos entre colectas, respecto a un punto central inicial, el cual indica una hoja sin presencia de síntomas.

Para la identificación molecular, se realizó la prueba RT-PCR a las plantas inoculadas en invernadero para identificar la presencia de PRSV-P. Se utilizó un termociclador Multigene Labnet® con el producto de Promega RT-PCR System®. El ARN del virus se obtuvo con el kit de extracción Zymo Research®, según las indicaciones del fabricante. Para amplificar el gen de la proteína de la cápside (CP), se utilizaron los primers descritos por Noa-Carranza *et al.* (2006): 3F (5'GACCATGGTCCTAGAATGAAGCTGTGGATG 3') y 11R (3'TTTTTTTTCTCTCATTCTAAGAGGCTC 5'). Se utilizó un programa de un ciclo de 45 min a 45 °C, un ciclo de 2 min a 94 °C, 40 ciclos de 30 s a 94 °C, 1 min a 60 °C y 2 min a 68 °C; y un ciclo de

greenhouse to detect the presence of PRSV-P. For the test, a Multigene Labnet® thermocycler and the Promega RT-PCR System® product were used. The viral RNA was obtained using the Zymo Research® extraction kit, following the manufacturer's instructions. To amplify the capsid protein (CP) gene, the primers described by Noa-Carranza *et al.* (2006) were used: 3F(5' GACCATGGTCCTAGAATGAAGCTGTGGATG 3') and 11R (3'TTTTTTTTCTCTCATTCTAAGAGGCTC 5'). The amplification program

**Cuadro 2. Escala de severidad para evaluación de síntomas producidos por PRSV-P en plantas de papayo, propuesta por Flores-Bautista *et al.* (2018).**

**Table 2. Severity scale proposed by Flores-Bautista *et al.* (2018) to evaluate the symptoms produced by PRSV-P in papaya plants.**

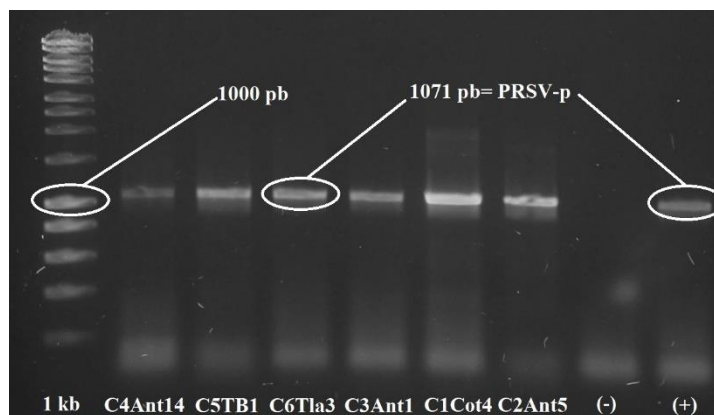
Severidad	Rango de severidad (%)	Promedio para calcular severidad (%)
0	0	0
1	1-9	5
2	10-24	17
3	25-50	38
4	51-75	63
5	76-100	88

extensión final de 7 min a 68 °C. Los productos obtenidos se visualizaron por electroforesis en un gel de agarosa 1%. Los fragmentos de interés se purificaron con el kit de Zymo Research®; se secuenciaron con el equipo AB 3130® mediante la técnica de Sanger y tecnología capilar en el Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., México. Las secuencias se compararon con otras de aislamientos mexicanos en el GenBank® (DQ008449.1, DQ008448.1 y DQ00847.1), con 92 a 98% de identidad, lo que corroboró la identidad del virus.

La presencia de PRSV-P se confirmó mediante la observación de amplicones positivos de 1071 pares de bases, correspondiente a la región de la cápside viral (CP) (Figura 1). Los primeros síntomas aparecieron a los 40 días posteriores a la inoculación (dpi) mecánica; se observaron cambios en la sintomatología, así como el incremento en la severidad de algunos síntomas hasta los 60 dpi. Chávez-Calvillo *et al.* (2016) también observaron el mayor daño de PRSV-P a los 60 dpi, con mayor deformación de la hoja, aclaramiento de nervaduras

consisted of one cycle at 45 ° for 45 min, one cycle at 94 °C for 2 min, 40 cycles at 94 °C for 30 s, 1 min at 60 °C and 2 min at 68 °C; and one final extension cycle at 68 °C for 7 min. The amplified products were visualized by electrophoresis in 1% agarose gel. The amplified fragments were purified using the Zymo Research® kit, sequenced with an AB 3130® equipment applying the Sanger technique and capillary technology at Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., Mexico. The sequences obtained were compared to other sequences of Mexican isolates stored in the GenBank® (DQ008449.1, DQ008448.1 and DQ00847.1), and 92-98% identity was found, corroborating the virus identity.

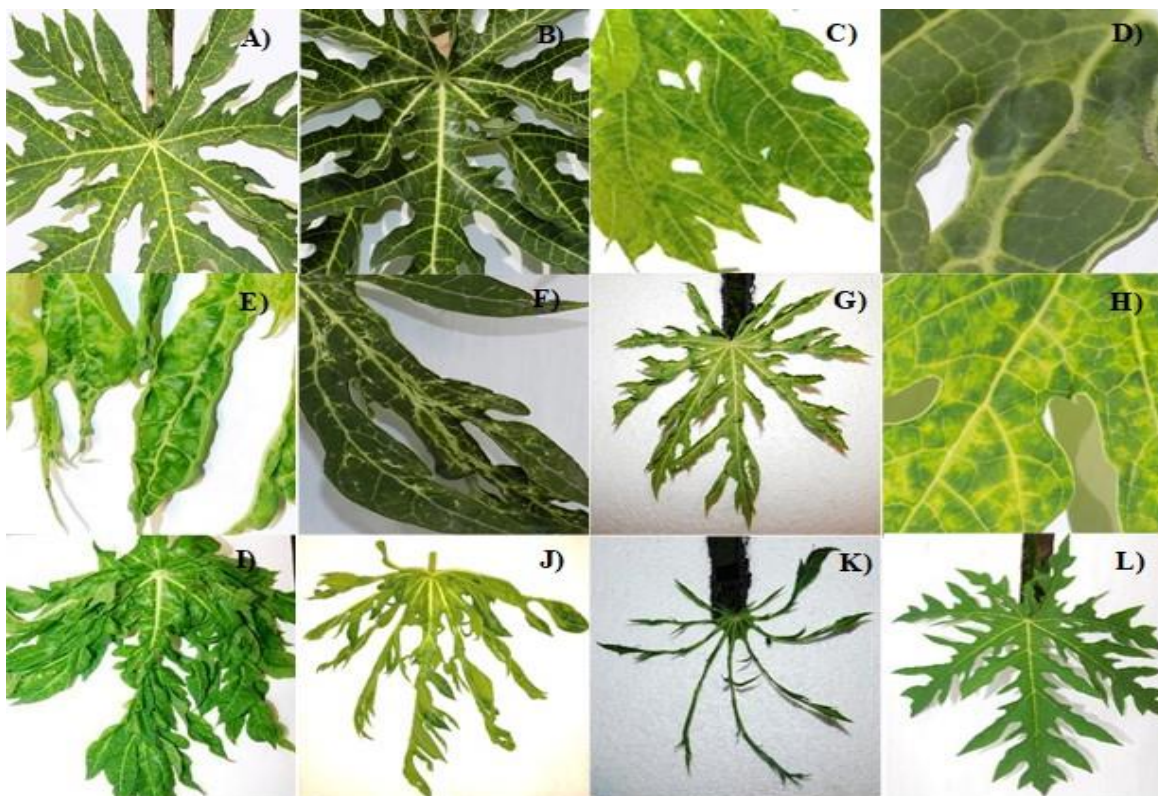
The presence of PRSV-P was confirmed by observing positive amplicons of 1071 base pairs that corresponded to the region of the viral capsid (CP) (Figure 1). The first symptoms appeared 40 days after mechanical inoculation (dai). Changes in symptomatology and a severity increase in some of the symptoms were not observed until 60 dai. Chávez-Calvillo *et al.* (2016) also observed the



**Figura 1.** Amplicones positivos a la proteína de la cápside de PRSV-P analizados por RT-PCR. Electroforesis en gel de agarosa al 1X en tampón TAE. (1 kb): marcador de peso molecular; (+): control positivo; (-): control negativo; (C4Ant14, C5TB1, C6Tla3, C1Cot4, C2Ant5): Colectas del virus con sistema de síntomas diferenciado (Cuadro 1).  
**Figure 1.** Positive amplicons to the capsid protein of PRSV-P, analyzed by RT-PCR. Electrophoresis in 1X agarose gel, run in TAE buffer. (1 kb): molecular weight marker; (+): positive control; (-): negative control; (C4Ant14, C5TB1, C6Tla3, C1Cot4, C2Ant5): Virus collections with a differentiated symptoms system (Table 1).

y mosaico severo. Singh *et al.* (2017) mencionan que el PRSV-P produjo síntomas sistémicos de mosaico y deformación de las hojas en *C. papaya* y otros hospederos. Las escalas de severidad de diversos autores catalogan a los síntomas de manera genérica, mientras que en este trabajo se presenta una caracterización detallada de cada síntoma foliar del PRSV-P observado (Figura 2). Algunos síntomas producidos por el PRSV-P coinciden con los registrados por Hernández-Castro *et al.* (2010),

highest level of damage caused by PRSV-P at 60 dai, associated with the highest level of leaf deformation, clearing along leaf veins and severe mosaic. Singh *et al.* (2017) mention that PRSV-P caused systemic mosaic and leaf deformation symptoms in papaya and other hosts. The severity scales of different authors catalog the symptoms in a generic way, while our study provide a detailed characterization of each foliar symptom caused by PRSV-P (Figure 2). Some of the symptoms produced by PRSV-P



**Figura 2.** Caracterización de síntomas foliares del PRSV-P inoculado mecánicamente en plantas de papayo var. Maradol Roja de tres meses de edad, en invernadero, de diciembre 2018 a mayo 2019. Campus Veracruz, Colegio de Postgraduados. A) Aclaramiento nervaduras principales; B) aclaramiento nervaduras ramificadas; C) mosaico liso; D) parches verdes; E) islas verdes; F) estrias; G) clorosis general; H) clorosis sectorial; I) arrepollamiento; J) epinastia; K) filiformidad; L) hoja sana.

**Figure 2.** Characterization of PRSV-P foliar symptoms mechanically-inoculated in three-month-old plants of papaya Maradol Roja variety under greenhouse conditions, from December 2018 to May 2019. Campus Veracruz, Colegio de Postgraduados. A) Clearing of the main veins; B) clearing of ramified leaf veins; C) smooth mosaic; D) green patches; E) green isles; F) streaks; G) general chlorosis; H) sectorial chlorosis; I) bunched appearance; J) epinasty; K) filiformity; L) healthy leaf.

como clorosis, mosaico y reducción de lámina foliar; en contraste, la caracterización propuesta en este trabajo presenta dos tipos de clorosis y cuatro síntomas asociados a mosaico.

Rodríguez *et al.* (2014) observaron síntomas de aclaramiento de nervaduras, mosaico, ampollas y deformación de la hoja a 45 dpi; adicionalmente, en el presente estudio se caracterizaron al mosaico liso, a las islas verdes, a tres tipos de deformación foliar y dos tipos de aclaramiento de nervaduras (Figura 2). Además, se observó una diferenciación en la sintomatología de cada una de las plantas inoculadas en invernadero respecto a campo (Cuadro 3). La representación de los síntomas en gráficos radiales (Figuras 3 y 4) permitió caracterizar las colectas de forma diferencial, y observar los distintos grados de severidad de cada uno de los síntomas. La Figura 3 muestra los síntomas presentados en otoño-invierno, diferenciándose las colectas C4Ant14 (36% de severidad en aclaramiento de nervaduras

are similar to those recorded by Hernández-Castro *et al.* (2010), including chlorosis, mosaic and leaf blade reduction. Conversely, the characterization proposed in this study shows two types of chlorosis and four symptoms associated with mosaics.

Rodríguez *et al.* (2014) observed clearing of leaf veins, mosaic, blisters, and foliar deformation symptoms at 45 dai. In the present study, smooth mosaic, green isles, three types of leaf deformation, and two types of clearing of leaf veins also were characterized (Figure 2). Additionally, a differentiation of symptomatology was made between each plant inoculated in the greenhouse and the plants collected in the field (Table 3). Representing the symptoms in radial graphics (Figures 3 and 4) made it possible to characterize each collection in a differential way and observe the different levels of severity of each symptom. Figure 3 shows the symptoms that appear in fall-winter; where collections C4Ant14 (36% severity

**Cuadro 3. Síntomas diferenciales de cada colecta de PRSV-P observados en campo e invernadero, en planta de papayo.**  
**Table 3. Differential symptoms of each PRSV-P collection under greenhouse conditions and in the field in papaya plants.**

Colecta	Síntomas característicos en campo	Síntomas característicos en invernadero	Municipio de origen
C1Cot4	Epinastia, clorosis general y aclaramiento de nervaduras principales	Epinastia, mosaico liso, clorosis general y sectorial, aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	Cotaxtla
C2Ant5	Filiformidad, aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	Filiformidad, epinastia, mosaico liso, parches verdes, islas verdes, clorosis general, aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	La Antigua
C3Ant1	Filiformidad y aclaramiento de nervaduras principales	Filiformidad, epinastia, clorosis general, parches verdes, islas verdes, aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	La Antigua
C4Ant14	Aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	Clorosis general, arrepollamiento, mosaico liso, aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	La Antigua
C5TB1	Clorosis sectorial, aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	Filiformidad, arrepollamiento, clorosis general y sectorial, mosaico liso, aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	Tierra Blanca
C6TLA3	Filiformidad, clorosis general, mosaico liso y aclaramiento de nervaduras principales	Filiformidad, clorosis general, islas verdes, parches verdes, mosaico liso, aclaramiento de nervaduras principales y ramificadas	Tlalixcoyan



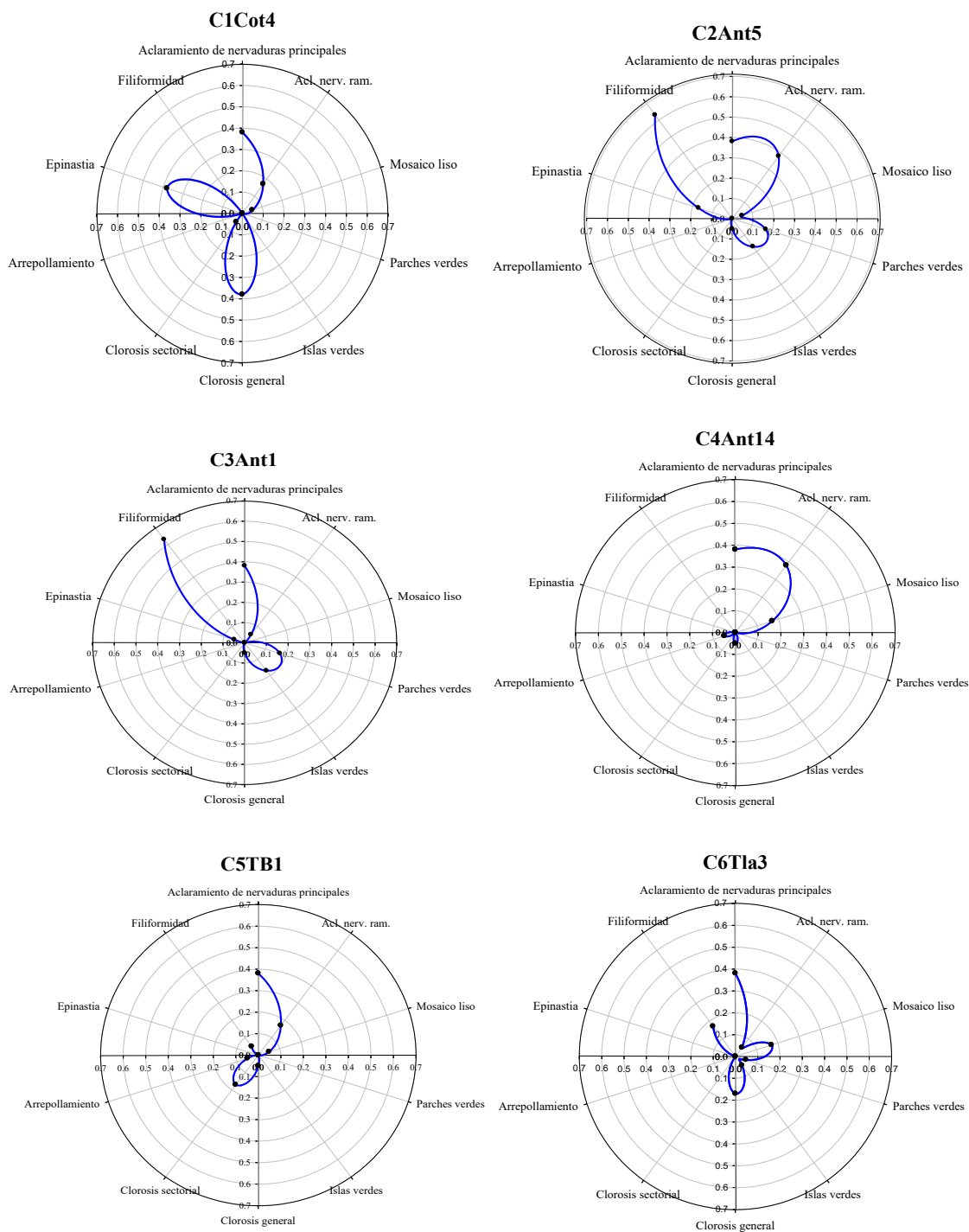


Figura 3. Diagramas radiales de severidad de síntomas foliares producidos por seis colectas del PRSV-P en *C. papaya* en el ciclo otoño-invierno 2018, 55 días posteriores a la inoculación mecánica.

Figure 3. Radial diagrams of foliar symptoms severity produced by six PRSV-P collections in *C. papaya* in the 2018 fall-winter cycle, 55 days after mechanical inoculation.

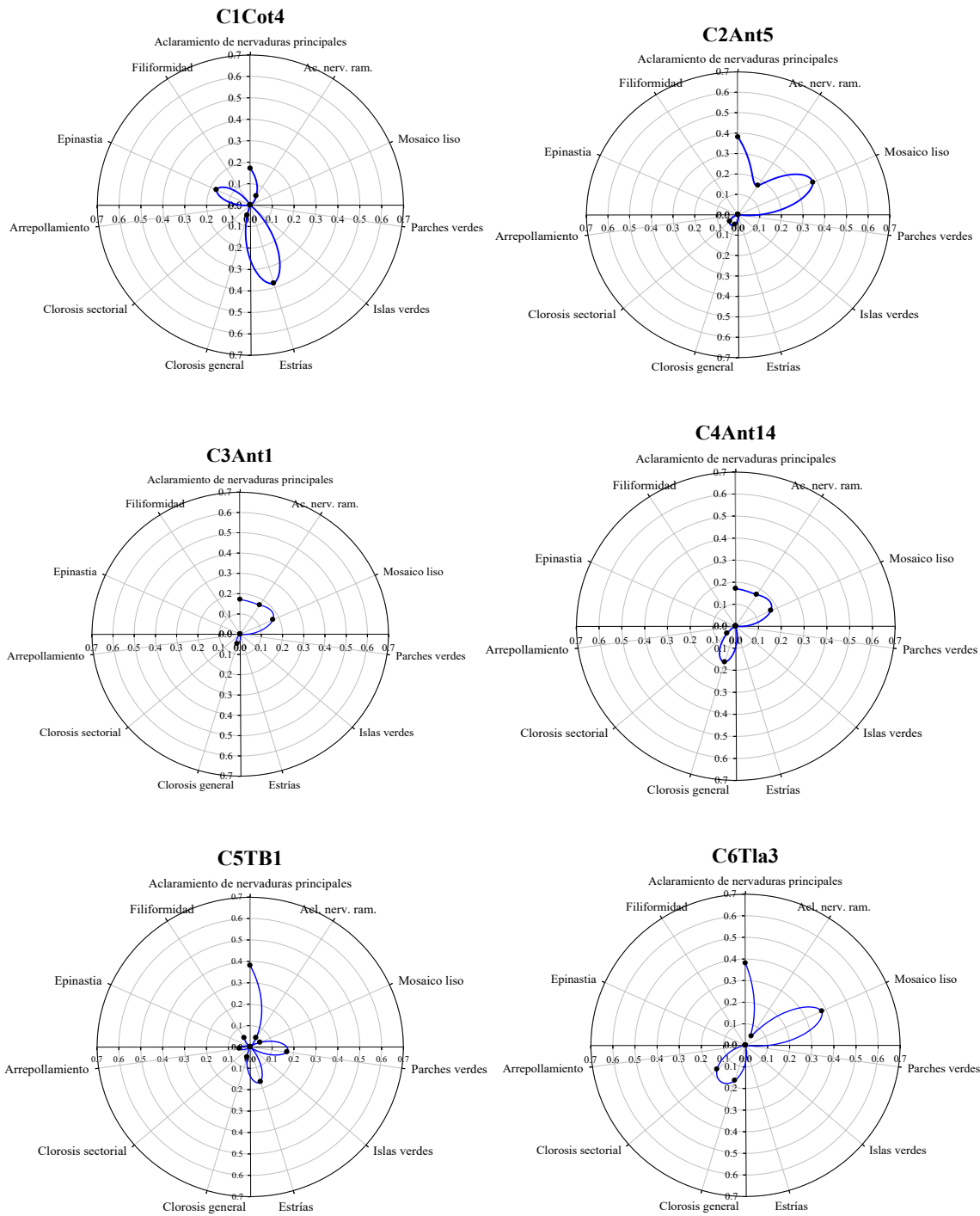


Figura 4. Diagramas radiales de severidad de síntomas foliares producidos por seis colectas del PRSV-P en *C. papaya* en el ciclo primavera-verano 2019, 195 días posteriores a la inoculación mecánica.

Figure 4. Radial diagrams of foliar symptoms severity produced by six PRSV-P collections in *C. papaya* in the 2019 spring-summer cycle, 195 days after mechanical inoculation.

principales y ramificadas) y C5TB1 (36% de severidad en aclaramiento de nervaduras principales), concentrándose la longitud de las curvas en la parte superior derecha, en donde se encuentran los síntomas moderados, que manifiestan menor daño a la planta.

Las colectas C1Cot4, C2Ant5, C3Ant1 y C6Tla3 muestran curvas con una tendencia hacia la parte superior izquierda del gráfico, zona donde se grafican los síntomas que tipifican la deformación del área foliar; además, en estas colectas también se observó la asociación de síntomas. Tal y como lo sugieren Rodríguez *et al.* (2014), se observó una relación entre la severidad de síntomas y la temperatura, los cuales fueron menos severos a temperaturas superiores a 35 °C. En la temporada primavera-verano 2019 (Figura 4) se lograron observar “estrías” en las colectas C1Cot4 y C5TB1, síntoma que no se presentó en la época de temperaturas frescas (23 °C, otoño-invierno).

Es posible que la disminución en la severidad y la atenuación de síntomas en las seis colectas estuvo asociada a temperaturas mayores de 35 °C, tal y como lo mencionan Ordáz-Pérez *et al.* (2017). La colecta C5TB1 presentó mayor severidad en los primeros 60 dpi de esta temporada, con síntomas de filiformidad y epinastia, los cuales causan mayor daño en la planta. Cabrera-Mederos *et al.* (2010) observaron algo similar, con un mosaico del PRSV-P más ligero y ausencia de filiformidad cuando se sometieron a las plantas infectadas a 38 °C en invernadero; posteriormente, al reducir la temperatura a 20 °C bajo condiciones controladas, los síntomas se tornaron nuevamente severos. Bau *et al.* (2004) observaron variación en la expresión de síntomas de PRSV-P, de acuerdo a la temporada del año, con un incremento en la época fría (19 °C) y de lluvias (26 °C). En general, el desarrollo de enfermedades virales está asociado a temperatura entre 16 y 30 °C (Cabrera-Mederos *et al.*, 2010);

in the clearing of the main and ramified nerves) and C5TB1 (36% severity in clearing of the main nerves) can be differentiated, even when the length of the curves is concentrated in the upper right-hand side, where moderate symptoms that cause less damage to the plant are found.

The collections C1Cot4, C2Ant5, C3Ant1 and C6Tla3 show curves that tend to concentrate in the upper left-hand side of the graphic, where the typical symptoms of foliar area deformation are plotted. Also, an association of symptoms was observed in these collections. As suggested by Rodríguez *et al.* (2014), there was also a relation between the severity of symptoms and the temperature, with less severe symptoms at temperatures higher than 35 °C. In the 2019 spring-summer cycle (Figure 4), “streaks” were observed in collections C1Cot4 and C5TB1, a symptom that was not observed during the cool temperature season (23 °C, fall-winter).

The reduction of severity and mitigation of symptoms could be associated with temperatures higher than 35 °C, as mentioned by Ordáz-Pérez *et al.* (2017). The C5TB1 collection showed the highest level of severity during the first 60 dai of this season with filiformity and epinasty symptoms, which caused the most damage to the plant. Cabrera-Mederos *et al.* (2010) observed similar PRSV-P symptoms, with slight mosaic and no filiformity when the infected plants were placed in a greenhouse at 38 °C. Later, when the temperature was reduced to 20 °C under controlled conditions, the symptoms became severe again. Bau *et al.* (2004) observed variation in the expression of PRSV-P symptoms, according to the year's season, with an increase in the cold (19 °C) and rainfall seasons (26 °C). Overall, the development of viral diseases is associated with temperatures between 16 and 30 °C (Cabrera-Mederos *et al.*, 2010); higher temperatures cause a low viral concentration, which mitigates the symptoms and the plant apparently

temperaturas superiores provocan una baja concentración viral, lo que resulta en atenuación de síntomas y la aparente recuperación de la planta a la enfermedad.

Las seis colectas de PRSV-P se pudieron separar por sintomatología foliar mediante la caracterización de síntomas propuesta en este trabajo y el uso de gráficos radiales. La mayor severidad de síntomas se presentó en la época de menor temperatura ambiental, respecto a la época de primavera-verano. Las diferencias encontradas entre las distintas colectas podría ser un indicador de la variabilidad genética del virus. Por ello, es necesario realizar estudios con plantas indicadoras para determinar si la sintomatología producida por colecta se replica en diferentes hospederos. Además, con estudios moleculares en regiones que participen en el desarrollo de sintomatología y severidad, como cápside viral (CP) y componente auxiliar (HC-Pro), se podría observar si existe diferencia en los nucleótidos, lo cual pueden producir diferencias en la expresión de síntomas y en la severidad del virus. En conjunto, ensayos biológicos y moleculares podrían determinar diferentes aislados virales, tales como aislados atenuados y severos.

recovers from the disease.

The six collections of PRSV-P could be separated by foliar symptomatology through the characterization of symptoms and the use of radial graphics proposed in this study. The highest level of severity was observed in the lowest environmental temperature of the season compared to the spring-summer season. The differences found among virus collections could be an indicator of the virus genetic variability. For this reason, further studies must be conducted using indicator plants to determine whether the symptomatology produced by the collections is replicated in different hosts. Besides, molecular studies in the regions involved in the development of symptomatology and severity, such as the viral capsid (CP) and the auxiliary component (HC-Pro), might show if there is a difference in nucleotides that makes a difference in the expression of symptoms and severity caused by the virus. Together, biological and molecular assays could determine different viral isolates, including attenuated and severe isolates.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

## LITERATURA CITADA

- Bau HJ, Cheng YH, Yu TA, Yang JS, Liou PC, Hsiao CH and Yeh SD. 2004. Field evaluation of transgenic papaya lines carrying the coat protein gene of *Papaya ringspot virus* in Taiwan. *Plant Disease* 88:594-599. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.6.594>
- Cabrera-Mederos D, Cruz M, González JE, Hernández R y Portal O. 2008. Diagnóstico y caracterización biológica de un aislado del virus de la mancha anular de la papaya (PRSV-P) procedente de Cienfuegos, Cuba. *Centro Agrícola* 35:91-93. [http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V35-Numero\\_2/cag172081614.pdf](http://cagricola.uclv.edu.cu/descargas/pdf/V35-Numero_2/cag172081614.pdf)
- Cabrera-Mederos D, García D y Portal O. 2010. Virus de la mancha anular de la papaya (PRSV-P): Biología, epifitología y diversidad genética como base para el manejo mediante técnicas biotecnológicas. *Biotecnología Vegetal* 10:67-77. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/273/html>
- Chalak, SU, Hasbnis SN and Supe VS. 2017. *Papaya ringspot disease management: A review*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6: 1911-1914. [https://www.researchgate.net/publication/320324510\\_Papaya\\_ring\\_spot\\_disease\\_management\\_A\\_review](https://www.researchgate.net/publication/320324510_Papaya_ring_spot_disease_management_A_review)
- Chávez-Calvillo G, Contreras-Paredes CA, Mora-Macias J, Noa-Carrazana JC, Serrano-Rubio AA, Dinkova TD, Carrillo-Tripp M and Silva-Rosales L. 2016. Antagonism or synergism between *Papaya ringspot virus* and *Papaya mosaic virus* in *Carica papaya* is determined by their order of infection. *Virology* 480:179-191. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2015.11.026>
- Flores-Bautista R, Ávila-Reséndiz C, Villanueva-Jiménez JA, Nava-Díaz C y Becerra LEN. 2018. Comportamiento de accesiones nativas de *Carica papaya* inoculadas con PRSV-P mediante *Aphis nerii*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37:147-158. <http://rmf.smf.org.mx/Vol3712019/RMF1808-5.pdf>
- González A, Trujillo G, y Vegas A. 2003. Uso de hospedantes diferenciales para la identificación de cepas del virus de la mancha anillada de la lechosa (PRSV). *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 67-70. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221110>

- Hernández-Castro E, Villanueva-Jiménez JA, Mora-Aguilera JA y Nava-Díaz C. 2010. Barreras de maíz en una estrategia de manejo integral para controlar epidemias del virus mancha anular del papayo (PRSV-P). *Agrociencia* 44:339-349. <http://www.redalyc.org/pdf/302/30215552008.pdf>
- Hernández-Castro E, Nava DA, Mora AJA, Villanueva-Jiménez JA, Vargas AD and Palemón FA 2015. Incidence of the *Papaya ringspot virus* (PRSV-P) and management in the state of Guerrero, Mexico. In: Dimitrov TS and Vitanova II. *Tropical Fruits*. Nova Science Publishers Inc. pp. 119-127. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.3437.5203>
- Noa-Carrizana JC, Gonzáles LD, Ruiz-Castro BS, Piñero D and Silva-Rosales L. 2006. Distribution of *Papaya ringspot virus* and *Papaya mosaic virus* in papaya plants (*Carica papaya*) in Mexico. *Plant Disease*. 90:1004-1 <https://doi.org/10.1094/PD-90-1004>
- Ordáz-Pérez D, Gámez-Vázquez J, Hernández-Ruiz J, Espinosa-Trujillo E, Rivas-Valencia P y I. Castro-Montes. 2017. Resistencia de *Vasconcellea cauliflora* al Virus de la mancha anular de la papaya-potyvirus (PRSV-P) y su introgresión en *Carica papaya*. *Revista Mexicana de Fito-patología* 35:571-590. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v35n3/2007-8080-rmfi-35-03-00571.pdf>
- Rivas-Valencia P, Mora-Aguilera G, Téliz-Ortíz D y Mora-Aguilera A. 2008. Evaluación de barreras vegetales en el manejo integrado de la mancha anular del papayo (PRSV-P) en Michoacán, México. *Summa Phytopathologica* 34:307-312. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052008000400001>.
- Rodríguez MD, Geraldino DP, González OJ and Figueira A. 2014. Molecular and biological studies of *Papaya ringspot virus* isolates Brazil and Cuba. *American Journal of Agriculture and Forestry* 2:205-218. <https://pdfs.semanticscholar.org/13a8/3c6ebfadc6db33d3ad247bb3cd409f374fa1.pdf>
- Singh S, Awasti LP, Kumar P and Jagre A. 2017. Diagnostic characteristics of *Papaya ringspot virus* isolates infecting papaya (*Carica papaya* L.) in India. *Juniper Online Journal of Immuno Virology* 1:1-9. <https://pdfs.semanticscholar.org/a47a/909a5f62137896cb07feab4e1f28fad7e979.pdf>
- Spetz C, Taboada AM, Darwich S, Ramsell J, Salazar LF and Valkonen JPT. 2003. Molecular resolution of a complex of potyviruses infecting solanaceous crops at the center of origin in Peru. *Journal of General Virology* 84:2565-2578. <https://doi.org/10.1099/vir.0.19208-0>
- Valderrama S, Cedano C, Tenorio J, Romero J y Carbajal S. 2015. Caracterización sintomatológica y molecular del virus de la mancha anillada del papayo (PRSV) que infecta *Carica papaya* L. en el norte de Perú. *Scientia Agropecuaria* 6:241-246. <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.04.01>