

**Caracterización del cultivo de la papaya
como producto con potencial para
exportación, con énfasis en el diagnóstico
molecular y serológico de enfermedades.**

Gabriel Chiriboga Torres

ZAMORANO

Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria
Noviembre, 2000

Caracterización del cultivo de la papaya como producto con potencial para exportación, con énfasis en el diagnóstico molecular y serológico de enfermedades.

Tesis presentada como requisito parcial
para optar al título de Ingeniero Agrónomo
en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por:

Gabriel Chiriboga Torres

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2000

El autor concede a Zamorano permiso
para reproducir y distribuir copias de este
trabajo para fines educativos. Para otras personas
físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Gabriel Chiriboga Torres

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2000

Caracterización del cultivo de la papaya como producto con potencial para exportación, con énfasis en el diagnóstico molecular y serológico de enfermedades.

Presentado por

Gabriel Chiriboga Torres

Aprobada:

María Mercedes Doyle, Ph. D.
Asesor Principal

Alfredo Rueda, Ph. D.
Coordinador Area Temática
Protección Vegetal

Elsa Barrientos, M. Sc.
Asesor

Jorge Iván Restrepo, M.B.A.
Coordinador de la Carrera de
Ciencia y Producción Agropecuaria

Mario Bustamante, M. Sc.
Asesor

Antonio Flores, Ph. D.
Decano Académico

Rogelio Trabanino, M. Sc.
Coordinador PIA

Keith L. Andrews, Ph. D.
Director General

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico:

A mis padres, como ejemplo de uno de los tantos frutos que ha dado todo ese esfuerzo inmenso que han realizado por mí, durante mi vida.

A mi esposa Cecilia y a mi hija Mariana que han sido dos luceros en mi vida, les dedico todo el esfuerzo y tiempo que me han dado.

A todos aquellos agricultores, que estén interesados en cultivar o cultivan papaya, espero que este trabajo sea como una guía de ayuda para conocer más sobre las enfermedades y las distintas alternativas de prevención y control que existen.

A todos los responsables de una Honduras mejor, gobierno, ONG's, instituciones académicas, profesionales, agricultores, jornaleros, intermediarios, industriales, banqueros, etc y etc. Para que podamos ver la situación de la agricultura, en tan solo uno de los tantos productos que podrían ser la clave para el bienestar del país, si son tomados en cuenta e incentivados de la manera más objetiva y sin intereses particulares.

AGRADECIMIENTOS

Gracias Señor Jesucristo por haberme enseñado Tú palabra, que Tú eres el camino la verdad y la vida, y gracias por concederme el poder conocer a todos los hermanos que son mi verdadera familia.

A mis hermanos en Cristo, Felipe, Alvaro, Christian, David, Elías, René, Mauricio, José, Enrique y a toda la novia les agradezco por sus oraciones, paciencia y su amor *ágape*.

A mis padres Rafael y Miriam les doy las gracias por el esfuerzo que hicieron para que todo esto haya sido posible.

A mi esposa Cecilia y Mariana mi hija por apoyarme en todo este esfuerzo y por esperarme siempre con sus brazos abiertos.

AGRADECIMIENTO A PATROCINADORES

Agradezco a mis Padres que fueron los patrocinadores de mis estudios en el programa de Agrónomo (PA) y parte del programa de Ingeniería (PIA), gracias por haber puesto su confianza en mi y todo su esfuerzo en ayudarme para ver culminar otra etapa de mi vida con logros y superaciones. Estoy agradecido por siempre.

Agradezco al proyecto IPM-CRSP por darme esta oportunidad de poder ayudar a pequeños productores y de poder terminar mis estudios, creo que ha sido valiosa la información obtenida y la experiencia de poder trabajar con agricultores necesitados de tecnología, créditos, asesoría, etc. pero dispuestos a esforzarse y trabajar por su futuro.

RESUMEN

Chiriboga, Gabriel. 2000. Caracterización del cultivo de la papaya como producto con potencial para exportación, con énfasis en el diagnóstico molecular y serológico de enfermedades. Proyecto Especial del Programa de Ingeniero Agrónomo. El Zamorano, Honduras 75 p.

En los países en vías de desarrollo existe una necesidad creciente de investigación en cultivos no tradicionales con potencial para exportación ya que son una alternativa para mejorar la situación comercial y económica. Los objetivos del trabajo fueron determinar los factores que limiten el éxito del cultivo de la papaya como producto no tradicional con potencial de exportación, realizar un inventario de las enfermedades causadas por virus y rickettsias y elaborar un guía práctica sobre las principales plagas insectiles y enfermedades. La caracterización y recolección de muestras para diagnóstico se inició en abril de 1999 y terminó en abril del 2000, se trabajó en los departamentos de Francisco Morazán, Comayagua y La Paz, por ser zonas de alta producción de papaya en Honduras. Se realizó un diagnóstico inicial utilizando la metodología de un diagnóstico rural rápido participativo. Para el diagnóstico de las muestras de plantas recolectadas se utilizó el PCR como técnica molecular y ELISA como técnica serológica. Las enfermedades que se diagnosticaron fueron Papaya Bunchy Top (PBT), Papaya Ringspot Virus (PRSV), Papaya Mosaic Virus (PMV), Fitoplasmas, Geminivirus y una enfermedad de etiología desconocida encontrada en el Zamorano. Los resultados del diagnóstico molecular de geminivirus y fitoplasma dieron negativos, así como el diagnóstico del PRSV y el PMV con la técnica serológica ELISA, aunque las muestras recolectadas mostraban síntomas característicos y bien definidos de las enfermedades. En el caso de PBT se obtuvieron muestras de plantas sintomáticas que dieron resultados positivos utilizando PCR para su diagnóstico. Con el uso del microscopio electrónico se observó una partícula de tipo closterovirus en el diagnóstico de la enfermedad de etiología desconocida en El Zamorano. Se puede concluir que en Honduras la siembra de papaya no está dirigida hacia la exportación, mas bien es un cultivo que está en manos de pequeños productores, pero que a su vez tienen problemas en sus cultivos por las enfermedades como PBT y causadas por virus. Se recomienda que se haga un incentivo a la producción de esta fruta para la exportación o para el mercado local, pero se debe utilizar nuevas variedades de mayor demanda y resistentes a virus.

Palabras claves: Closterovirus, diagnóstico rural rápido, ELISA, PCR, *rickettsias*.

Abelino Pitty, PhD.

Nota de prensa

IDENTIFICAN ENFERMEDAD QUE PUEDE SER CRITICA EN LAS PLANTACIONES DE PAPAYA EN HONDURAS

La papaya es un cultivo que tiene un gran potencial para la exportación, que representa una oportunidad para la economía hondureña. Las zonas y climas óptimos para su producción en el país.

En Honduras han existido esfuerzos por cultivar papaya para exportar, pero con resultados negativos debido al ataque severo de enfermedades virales.

Zamorano y el proyecto IPM-CRSP del gobierno norteamericano, han unido esfuerzos técnicos y económicos con el objetivo de realizar un estudio/diagnóstico sobre las posibles enfermedades que están presentes en Honduras y que pudieran tener efectos negativos en los cultivos de papaya.

El estudio comenzó en abril de 1999 y concluyó en abril del 2000, cubrió los departamentos de Comayagua, La Paz y Cortés, departamentos donde están ubicadas las mayores plantaciones de papaya en Honduras. Como primera fase se recolectaron muestras de plantas que mostraban síntomas característicos de las enfermedades y se diagnosticaron por medio de técnicas moleculares (PCR) y serológicas (ELISA) en el laboratorio de diagnóstico molecular de la Carrera de Ciencia y Producción de Zamorano.

Entre las enfermedades que se diagnosticaron y que su resultado fue positivo, está: Papaya Bunchy Top (PBT), que es una enfermedad que ha sido reportada en Puerto Rico, Costa Rica y Cuba, pero no había sido reportada en Honduras. La se identificó en la comunidad de Flores, Comayagua. Esta enfermedad es causada por un tipo de bacteria "fastidiosa", y es transmitida por un chicharrita de nombre científico *Empoasca papayae*. Una vez que ataca el mal no tiene cura, por eso se debe realizar un manejo preventivo. Los síntomas más característicos de la enfermedad son:

1. Copa con forma de sombrilla resultado de la reducción en el largo normal de los pecíolos y entrenudos.
2. Hojas de tamaño reducido, en forma convexa, de color amarillento y textura más dura, las frutas se quedan pequeñas y no maduran bien, tejido infectado sin látex (hojas, tallos, frutas), como la infección ocurre solamente en el ápice de la planta, muchas veces se desarrollan brotes sanos en la parte inferior del tronco.

Una forma práctica de detectar esta enfermedad se hace una prueba mediante un corte en la punta de la planta y se verifica si fluye látex. Si los síntomas coinciden y no brota el látex lo más recomendable es cortar la planta y quemarla o enterrarla, para que la enfermedad no se disemine al resto de la plantación.

Lic. Sobeyda Alvarez

CONTENIDO

	Portadilla.....	i.
	Autoría.....	ii.
	Página de firmas.....	iii.
	Dedicatoria.....	iv.
	Agradecimientos.....	v.
	Agradecimientos patrocinadores.....	vi.
	Resumen.....	vii.
	Nota de prensa.....	viii.
	Contenido.....	ix.
	Indice de cuadros.....	xiii.
	Indice de figuras.....	xiv.
	Indice de anexos.....	xv.
1.	INTRODUCCION.....	1
1.1	INTRODUCCION AL ESTUDIO.....	1
1.2	OBJETIVOS.....	3
1.2.1	Objetivo general.....	3
1.2.2	Objetivos Específicos.....	3
2.	REVISION DE LITERATURA.....	4
2.1	CONTEXTO DEL COMERCIO GLOBAL ENFOCADO A LA PAPAYA COMO PRODUCTO NO TRADICIONAL.....	4
2.1.1	Tendencias de los mercados.....	5
2.2	DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO DE LA PAPAYA.....	6
2.2.1	Generalidades.....	6
2.2.2	Descripción.....	7
2.2.3	Origen y Distribución.....	8
2.2.4	Propagación.....	8
2.2.5	Factores importantes para la producción.....	8
2.2.5.1	Clima.....	8
2.2.5.2	Suelos.....	8
2.2.5.3	Riego.....	9
2.3	PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LA PAPAYA.....	9
2.4	PLAGAS MAS COMUNES EN HONDURAS.....	10
2.4.1	Mosca de la fruta (<i>Toxotrypana curvicauda</i>)	15
2.4.1.1	Daños.....	15
2.4.1.2	Biología y Ecología.....	15
2.4.1.3	Manejo y Control.....	15
2.4.2	Anthracosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>)	16
2.4.2.1	Síntomas y Daños.....	16
2.4.2.2	Agente Causal.....	16
2.4.2.3	Epidemiología.....	17
2.4.2.4	Manejo y Control.....	17
2.4.3	Alternaria (<i>Alternaria alternata</i>)	18
2.4.3.1	Síntomas y Daños.....	18
2.4.3.2	Agente Causal.....	18
2.4.3.3	Epidemiología.....	18

2.4.3.4	Manejo y Control.....	18
2.4.4	Pudrición de las raíces y tronco (<i>Phytophthora parasitica</i>)	19
2.4.4.1	Síntomas y Daños.....	19
2.4.4.2	Agente Causal.....	19
2.4.4.3	Epidemiología.....	19
2.4.4.4	Manejo y Control.....	19
2.4.5	Papaya Mosaic Virus (PMV)	19
2.4.5.1	Distribución geográfica.....	19
2.4.5.2	Taxonomía.....	19
2.4.5.3	Morfología y citopatología.....	20
2.4.5.4	Epidemiología.....	20
2.4.5.5	Sintomatología.....	20
2.4.5.6	Diagnóstico.....	20
2.4.5.7	Manejo de la enfermedad.....	20
2.4.6	Papaya Ringspot Virus (PRSV)	20
2.4.6.1	Distribución geográfica.....	21
2.4.6.2	Taxonomía.....	21
2.4.6.3	Morfología y citopatología.....	21
2.4.6.4	Epidemiología.....	22
2.4.6.5	Sintomatología.....	22
2.4.6.6	Diagnóstico.....	22
2.4.6.7	Manejo de la enfermedad.....	22
2.4.7	Papaya Droopy Necrosis Virus (PDNV)	22
2.4.7.1	Distribución geográfica.....	22
2.4.7.2	Taxonomía.....	23
2.4.7.3	Morfología y citopatología.....	23
2.4.7.4	Epidemiología.....	23
2.4.7.5	Sintomatología.....	23
2.4.7.6	Diagnóstico.....	23
2.4.7.7	Manejo de la enfermedad.....	23
2.4.8	Enfermedad de etiología desconocida en Honduras.....	23
2.4.8.1	Generalidades.....	24
2.4.9	Papaya Bunchy Top (PBT)	24
2.4.9.1	Distribución geográfica.....	24
2.4.9.2	Taxonomía.....	24
2.4.9.3	Morfología.....	24
2.4.9.4	Biología.....	24
2.4.9.5	Sintomatología.....	25
2.4.9.6	Diagnóstico.....	25
2.4.9.7	Vector.....	25
2.4.9.8	Manejo de la enfermedad.....	25
2.5	ASPECTOS DE DIAGNÓSTICO.....	26
3	MATERIALES Y METODOS.....	27
3.1	CONTEXTO GENERAL DE LA PAPAYA.....	27
3.2	EVALUACIÓN DE CAMPO.....	27
3.2.1	Reconocimiento de la zona y las plantaciones.....	27
3.2.2	Identificación de síntomas característicos en campos de producción y recolección de muestras.....	28
3.3	DIAGNÓSTICO RURAL RAPIDO.....	28

3.3.2	Elaboración de la encuesta.....	28
3.3.3	Contacto con los agricultores y realización del diagnóstico rural rápido.....	28
3.4	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS EN LABORATORIO.....	29
3.4.1	Conservación de muestras.....	29
3.4.2	Diagnóstico de Papaya Ringspot Virus (PRSV) y Papaya Mosaic Virus (PMV) utilizando el método ELISA ("Enzyme-linked immunosorbent assay").....	29
3.4.3	Diagnóstico molecular utilizando PCR de Papaya Bunchy Top (PBT) ..	30
3.4.4	Diagnóstico de la enfermedad de etiología desconocida.....	31
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
4.1	CONTEXTO DE LA PAPAYA.....	33
4.2	DIAGNÓSTICO RURAL RÁPIDO.....	34
4.3	DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y SEROLÓGICO.....	35
4.3.1	Papaya ringspot virus y papaya mosaic virus.....	35
4.3.2	Papaya Bunchy Top.....	36
4.3.3	Enfermedad de etiología desconocida.....	37
5.	CONCLUSIONES.....	38
6.	RECOMENDACIONES.....	39
6.1	INVESTIGACION.....	39
6.2	PRODUCTORES.....	39
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	40
8.	ANEXOS.....	45

Cuadro

1. Honduras. Valor de las exportaciones de hortalizas frescas y procesadas.....
2. Plagas principales del cultivo de la papaya.....
3. Diferentes alternativas de aplicación para el control químico de la mosca de la fruta.....
4. Formato para la información de muestras recolectadas y explicación del código...
5. Primers específicos para el PBT.....
6. Secuencia de nucleotidos para el par de primers universales para el diagnóstico de fitoplasmas.....

INDICE DE FIGURAS

Figuras

1.	Esquema ilustrativo del marco lógico.....	
2.	Visión general y efectos del crecimiento de las EXANT (Exportación Agrícola no Tradicional).....	
3.	Tendencias de las Exportaciones Agrícolas no tradicionales (EXANT) en América Latina y el caribe.....	
4.	Tendencia de las importaciones de Papaya como fruta fresca, en Estados Unidos y la Unión Europea.....	
5.	Mosca de la fruta.....	
6.	Anthracnosis en Fruto.....	
7.	Alternaria en Fruto.....	
8.	Pudrición de la raíz y tallo (<i>Phytophthora sp.</i>)	
9.	Papaya Mosaic Virus (PMV)	
10.	Papaya Ringspot Virus (PRSV) en hoja.....	
11.	Papaya Ringspot Virus (PRSV) en fruto.....	
12.	Papaya Droopy Necrosis Virus (PDNV).....	
13.	Enfermedad de etiología desconocida.....	100
14.	Papaya Bunchy Top.....	
15.	Mapas demarcados donde fueron tomadas las muestras	
16.	Resultados negativos de ELISA para PRSV.....	
17.	Resultados negativos de ELISA para PMV.....	
18.	Resultados de PCR para Papaya Bunchy Top en Papaya (primers:PBTF-PBTR)..	
19.	Resultados de PCR para PBT en Papaya utilizando dos métodos diferentes de extracción.....	

Anexo

1. Descripción de síntomas encontrados por Bryan Brunner.....
2. Encuesta para productores.....
3. Protocolo de la prueba de ELISA indirecta proporcionado por AGDIA ®..
4. Protocolo de Extracción de ADN total (Planta y Patógeno), modificación de Doyle and Doyle (1990), FOCUS 12 (1): 13 -15. Extracción Miniprep de ADN.....
5. Extracción de sabia para diagnóstico de PBT.....

1 INTRODUCCION

1.1 INTRODUCCIÓN AL ESTUDIO

Este estudio es parte de los trabajos de investigación del componente del programa de IPM-CRSP ("Integrated Pest Management-Collaborative Research Support Program") para la región de Centro América y el Caribe. El programa de IPM-CRSP es un esfuerzo Global para fomentar la investigación en temas relacionados con el Manejo Integrado de Plagas. En Centro América se ha enfocado recientemente en la investigación de plagas insectiles y enfermedades de cultivos no tradicionales con potencial para la exportación.

El enfoque de este estudio refleja por un lado una larga trayectoria en Zamorano en la investigación sobre MIP (Manejo Integrado de Plagas) en la región, y el enfoque actual de IPM-CRSP en Centro América. Desde 1997, el programa del IPM-CRSP ha apoyado estudios en cultivos de exportación no tradicionales en Zamorano, con énfasis en frutas tropicales como la piña y la papaya.

Se hicieron muestreos fitosanitarios en plantaciones y un diagnóstico rural rápido participativo a pequeños agricultores de los departamentos con mayor significancia en la siembra de papaya. El objetivo fue poder visualizar la situación del cultivo de la papaya y cuales son y podrían ser las limitantes fitosanitarias si se destinara este cultivo para la exportación.

Para el diagnóstico fitosanitario se utilizó la técnica molecular de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) y serológica la prueba de ELISA ("Enzyme-linked immunosorbent assay" por sus siglas en inglés).

Para ubicar el cultivo de la papaya y sus problemas, es necesario conocer el marco lógico y sus componentes para esto la parte introductoria ubica al estudio en un contexto más general, haciendo específico la lógica del estudio y sus componentes más importantes (Figura 1).

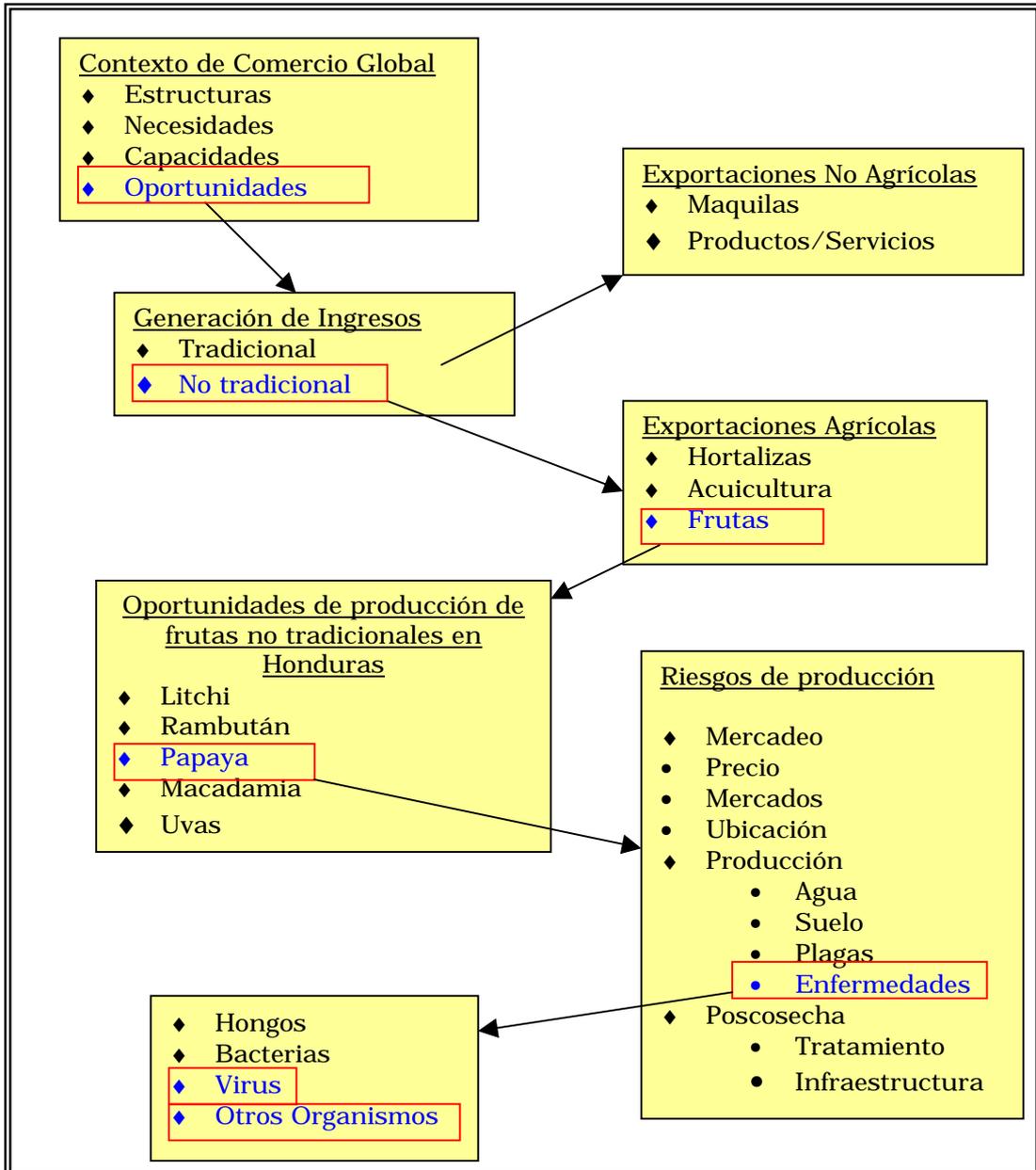


Figura 1. Esquema ilustrativo del marco lógico de la problemática: La realidad global encierra cambios de estructura, necesidades, capacidades y oportunidades. Los países en desarrollo tienen que velar por sus oportunidades de ingreso de divisas. Las últimas tendencias de generación de divisas han sido por exportaciones de productos no tradicionales, tanto industriales y de servicios como agrícolas. Dentro de las exportaciones no tradicionales del sector agrícola están las frutas como una alternativa en nuestros países tropicales. Existen riesgos de producción, entre los más críticos están las enfermedades específicamente las de tipo viral y de otra etiología muchas veces desconocidas.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

Estudiar el cultivo de la Papaya como producto no tradicional con potencial de exportación.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar los factores que pudieran limitar el éxito de la papaya como cultivo de exportación.
- Mediante un Diagnóstico Rural Rápido Participativo conocer las posibilidades de producir papaya como cultivo de exportación no tradicional.
- Realizar el primer inventario en el cultivo de la papaya, de las posibles infecciones causadas por virus y rickettsias en Honduras.
- Elaborar una guía práctica de plagas insectiles y enfermedades más comunes del cultivo de Papaya en Honduras

2 REVISION DE LITERATURA

2.1 CONTEXTO DEL COMERCIO GLOBAL ENFOCADO A LA PAPAYA COMO PRODUCTO NO TRADICIONAL

Debido a la tendencia de la economía mundial, que está directamente influida por la globalización y apertura de mercados, cada año aumenta la competencia entre los diferentes mercados mundiales. Esto pone en ventaja a los países que tienen economías de escala, estabilidad económica y mano de obra calificada, entre otros. También se traduce en desventaja para otros países los cuales tienen todo lo contrario; este es el caso de la mayor parte de Latinoamérica (Granadino, M. 2000)¹.

En el contexto mundial continuamente están ocurriendo cambios que van enfocados a una globalización. Entre los puntos que hay que tomar en cuenta de los cambios que están ocurriendo son: a) disminución en la protección de mercados internos, b) disminución en subsidios y amparo estatal, y c) aumento de la facilidad de movimiento de grandes capitales hacia mercados más competitivos (Doyle, 2000)².

La tendencia está dirigida hacia la búsqueda de nuevos mercados y la necesidad de responder a las distintas demandas que tienen los mercados modernos como ser: mejor calidad del producto, menor uso de pesticidas y preocupación por los aspectos sociales en la cadena de producción, entre otros.

Además, hay un cambio en la estructura de la producción internacional que está cada vez más estratificada hacia el desarrollo de servicios y productos más sofisticados en países desarrollados, y en países en desarrollo hacia la producción de productos primarios y maquilados (FAO, 1997).

En este contexto la agricultura puede presentar una oportunidad rentable para varios países en vías de desarrollo que por factores como el clima, suelo, ubicación geográfica y características de la mano de obra de bajo costo, dan una ventaja competitiva en el campo agrícola (Carassas, 2000)³. También existe una fuerte tendencia en la economía de los países en vías de desarrollo en cambiar de una producción agrícola tradicional (granos básicos, etc.), hacia productos con más posibilidad de entrada a mercados regionales o internacionales más rentables. Esta tendencia se debe a que a principio de los años ochenta la región experimentó una grave crisis económica, por la dependencia de un número reducido de exportaciones tradicionales haciendo vulnerable e inestable la economía de América Latina y el Caribe (Thrupp, 1994).

Entre los factores para que se diera este cambio están: la caída de los precios de los productos tradicionales en los mercados mundiales, recesión y el proteccionismo esto trajo menos ganancias económicas. Para responder a esta crisis, se formuló varias alternativas entre ellas están la diversificación de los cultivos tradicionales y el ingreso al mercado de productos no tradicionales de alto valor económico. El enfoque

¹ Granadino, M. 2000. Características de la globalización y apertura de mercados, Zamorano Honduras. Comunicación Personal

² Doyle, P. 2000. Contexto mundial de la agricultura. Zamorano, Honduras. Comunicación Personal.

³ Carassas, P. 2000 Ventajas competitivas de los países del trópico, Zamorano Honduras. Comunicación Personal

del fomento de las exportaciones agrícolas no tradicionales es netamente generar divisas, fuentes de empleo y revitalizar el crecimiento económico (Figura 2) (Thrupp, 1994).

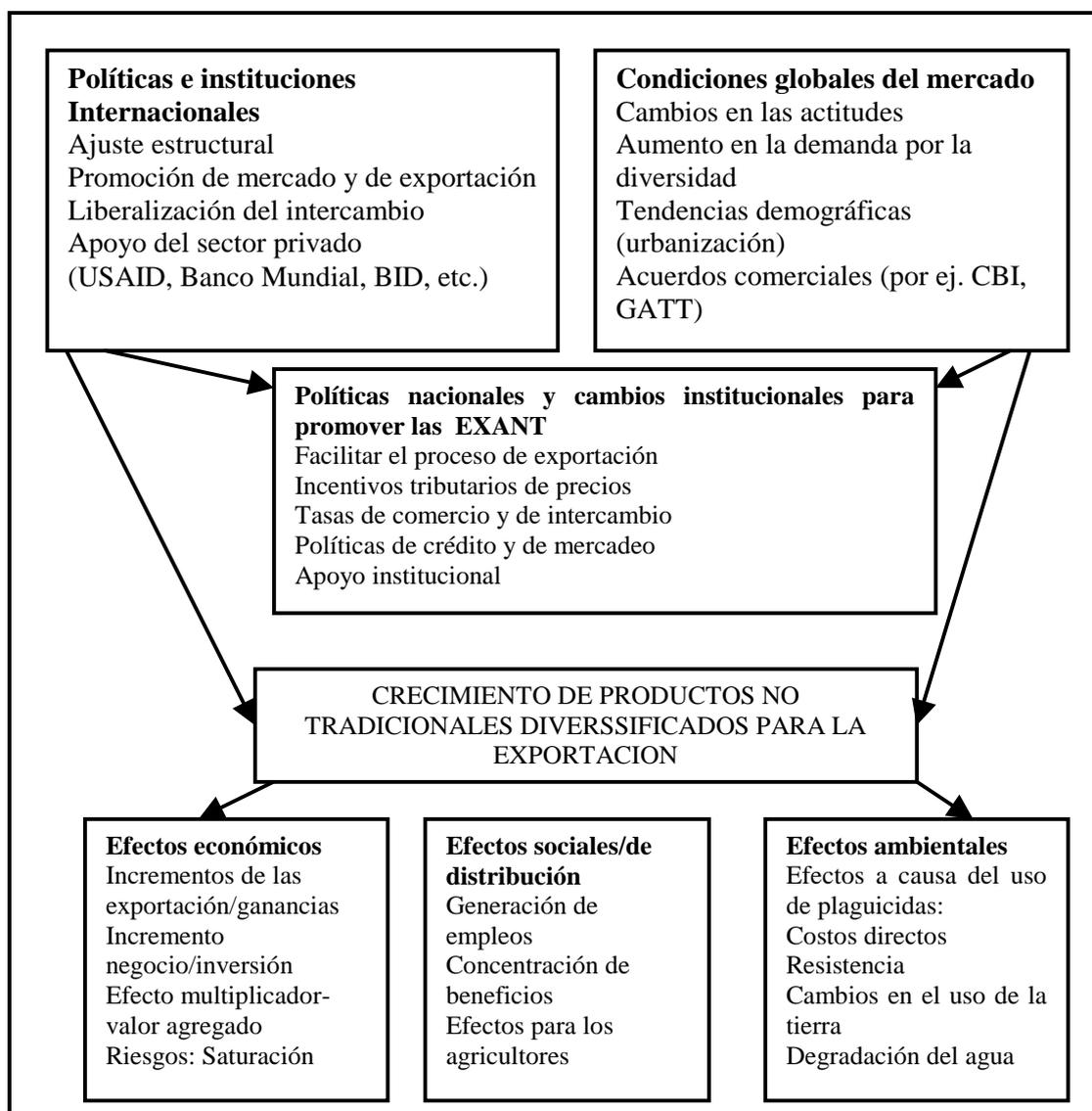


Figura 2. Visión general y efectos del crecimiento de las EXANT (Exportación Agrícola no Tradicional)

Fuente: Thrupp, 1994. Cultivos nuevos, dilemas viejos: oportunidades y retos en la agroexportación no tradicional en latinoamérica.

URL: <http://www.rimisp.cl/publicaciones/electronicas/encuentro/pub2/>

Adaptado por: Gabriel Chiriboga

Dentro de los productos para exportación con mayor futuro y ventaja competitiva están las frutas no tradicionales de alta calidad, que en algunos países como Honduras llegan a ser los principales rubros de exportación e ingreso de divisas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Honduras. Valor de las exportaciones de hortalizas frescas y procesadas (Miles de US\$)

Categoría	1994	1996	1998
Hortalizas Frescas	4,005.8	2,191.4	5,653.9
Productos del Tomate	695.9	1995.9	873.0
Melón y Sandía	20,615.1	16,609.4	23,693.1

Fuente: Rodríguez Estrada (¿1999?)

El nivel de éxito, en la incursión de nuevos mercados con productos mencionados en el cuadro 1, depende de un juego de factores tradicionales (clima, suelo y ubicación geográfica), pero cada vez más incluye factores de carácter ambiental o social como:

- Ingreso en mercados de exportación
- Tecnología amigable al ambiente
- Sistemas de producción sostenibles
- Programas de manejo de personal
- Impactos sociales (sueldos, seguridad industrial, educación, entre otros)

Por eso es importante considerar aspectos de manejo apropiado del cultivo y particularmente las enfermedades.

2.1.1 Tendencias de los mercados

En las últimas décadas, en el ámbito latinoamericano, ha existido la tendencia a incrementar el ingreso de divisas por medio de la promoción y el aumento de las exportaciones no tradicionales, (Figura 3). Esto se ha debido en parte al fuerte apoyo de las agencias crediticias internacionales como el Banco Mundial (BM), Fondo Monetario Internacional (FMI) y la Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo (USAID) (Thrupp, 1994).

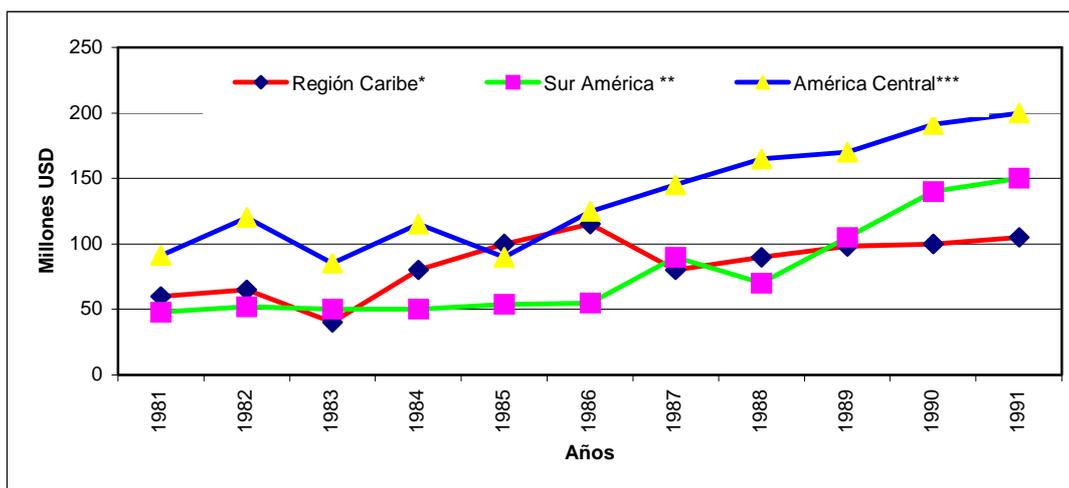


Figura 3. Tendencias de las Exportaciones Agrícolas no tradicionales (EXANT) en América Latina y el Caribe.

Fuente: Thrupp, 1994. Cultivos nuevos, dilemas viejos: oportunidades y retos en la agroexportación no tradicional en latinoamérica. URL: <http://www.rimisp.cl/publicaciones/electronicas/encuentro/pub2/>

La papaya es uno de los cultivos no tradicionales que tiene gran potencial de producción en los trópicos. En la última década ha existido un incremento en la importación de la fruta, aproximadamente un 40 %, en Europa y Estados Unidos (Figura 4).

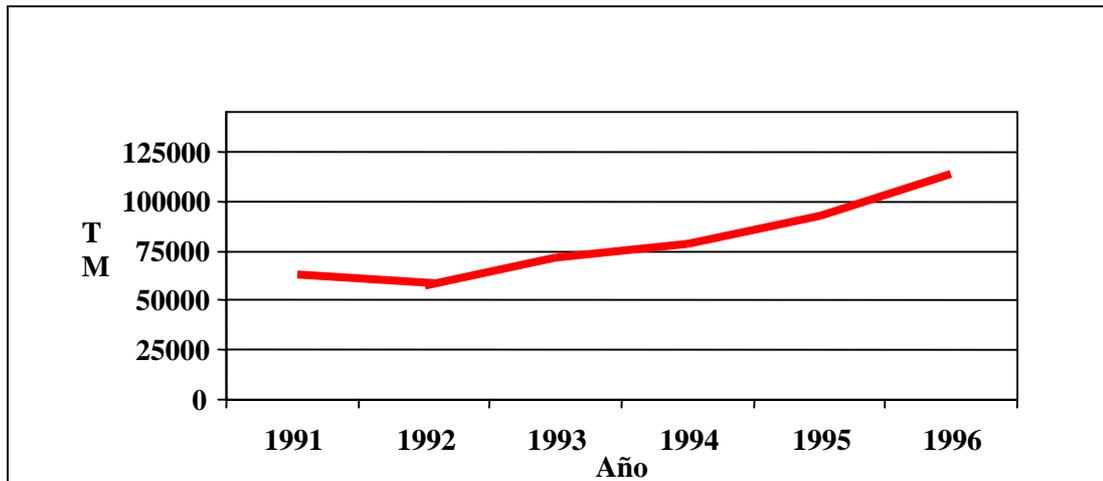


Figura 4. Tendencia de las importaciones de Papaya como fruta fresca, en Estados Unidos y la Unión Europea

Fuente: FAOSTAT 2000 <http://www.fao.org>

Adaptado por: Gabriel Chiriboga.

2.2 DESCRIPCIÓN DEL CULTIVO DE LA PAPAYA

2.2.1 Generalidades

El origen de la papaya no ha sido determinado, pero es muy probable que sea originaria del sur de México y Costa Rica. Luego fue esparcida al oeste de la India y a Filipinas en el siglo XVI, y luego al este Africano en el siglo XIX. Es una planta no leñosa esencialmente tropical, se siembra entre las latitudes 32°N y 32°S, las heladas son fulminantes y la altura máxima apta para su siembra es de 2000 m.s.n.m. (Hill y Waller, 1988).

El nombre papaya es bien conocido mundialmente, aunque se ha corrompido en el sur de Asia y en el este de la India, llamándose *kapaya*, *kepaya*, *lapaya* o *tapaya*. En francés es *papaye* la fruta y *papayer* la planta; los sudamericanos la llaman melón *zapote* o *papaya* a la fruta y *papayo* o *papayero* a la planta, en Cuba se la llama fruta bomba, en Venezuela lechosa, y en Brasil se la llama *mamao* (Morton, 1987).

La papaya además de ser una fruta fresca exquisita para comer en su estado maduro, también se la puede consumir tierna precocinándola y sirviéndola en la ensalada. (S.E.P, 1997). Entre los subproductos que se puede extraer del látex está una enzima llamada papaina; es capaz de ablandar carne, también es medicinal y tomarla diariamente influye positivamente en la digestión. Además, se usa en la industria cervecera para su clarificación (Arriola, et al. 1976). Según investigaciones en la Universidad de Nigeria, el extracto de la semilla y de las frutas tiernas tienen un poder bactericida (Morton, 1987).

El fruto es una baya, de un alto grado alimenticio que contiene vitaminas A, B₁, B₂ y C, y si se aprieta su corteza exuda un látex blanquecino, el cual está presente en todos los órganos de la planta, cuyo principio activo es la papaina, que constituye un fermento activo de propiedades análogas a la pepsina y muy usado en medicina. La presencia de este fermento en el fruto del papayo hace que éste, además de ser un excelente alimento, sea un coadyuvante de la digestión (Ibar, 1979).

2.2.2 Descripción

La papaya pertenece a la División Anthophyta, a la Clase Dicotiledonea, Subclase Cloripetala y al Orden Parientales. El género *Carica* comprende cinco especies, entre las más conocidas se encuentran *Carica pubescens* (*C. candamarcensis*), *Carica monoica* y el híbrido ecuatoriano *Carica xheilbornii* (Babaco), producto del cruce entre *C. pubescens* y *C. stipulata*; sin embargo, la especie más importante de todas es *Carica papaya* (Papaya) (Guzmán Díaz, 1998).

Según Morton (1987), comúnmente y erróneamente al papayo se le ha considerado como un árbol, aun cuando la planta propiamente dicho es una “hierba alta”, ya que es herbácea, pudiendo crecer en el primer año de 1.8 a 3m y puede llegar a medir de 6 a 9 m, el tallo mide aproximadamente 30 a 40 cm de diámetro.

La papaya es una planta considerada perenne, pero de corta vida. Las hojas parecidas a la palma emergen del tallo, sostenidas por largos pecíolos. Las flores se desarrollan en las axilas de las hojas, teniendo un olor agradable. Los pétalos miden de 2.5 a 5.1 cm. (Chia, et al., 1989)

Existen tres tipos de planta: las hermafroditas, hembras y machos. La planta hembra siempre producirá flores femeninas y si no hubieran plantas masculinas o hermafroditas, esta no cuajaría fruto (Pereira de Araujo 1987). Al contrario, en las plantas masculinas que usualmente no producen frutos, en raras ocasiones tienen flores con expresiones femeninas pudiendo producir algunos frutos. (Chia, et al., 1989)

Las plantas hermafroditas pueden tener flores masculinas, hermafroditas o ambas, y esto depende de las condiciones climáticas y el tiempo del año en algunas regiones. Una temporada de clima seco y cálido puede provocar una supresión en los ovarios produciéndose así flores hembras estériles (Chia, et al., 1989).

Hay tres tipos de flores hermafroditas: unas parecidas en su aspecto a las flores femeninas que son las llamadas *pentandrias*; otras parecidas a las masculinas, las *elognatas*, y finalmente unas de caracteres intermedios entre éstas, las *intermedias* o *irregulares*. Los frutos resultantes van a variar en forma y tamaño entre los tres tipos de flores (Ibar, 1979).

Las plantas hermafroditas producen frutos que contienen semillas autopolinizadas, las cuales dan una progenie relativamente uniforme. Como ejemplo están las plantas hermafroditas de la variedad “Solo” que producen una progenie que resulta en una tercera parte en plantas femeninas y dos tercios en plantas hermafroditas, pero no se produce ninguna planta masculina (Chia, et al., 1989; Pereira de Araujo, 1987).

La calidad de fruto en cuanto a sabor y textura son iguales en los tipos de plantas, aunque normalmente las plantas femeninas son menos productoras, y la fruta en países que exportan es destinada al mercado local, por esto en explotaciones para exportación, al momento de poder distinguir se eliminan las plantas femeninas (Chia, et al., 1989).

2.2.3 Origen y Distribución

Aunque el origen no ha sido determinado con exactitud, existen reportes del transporte de la semilla en el año 1550 de Panamá y República Dominicana a Norte América, Sur América y la India. En 1616 llegaron las primeras semillas a las Bahamas y Filipinas (Morton, 1987).

Siendo nativa de Centro y Norte América ahora se cultiva a escala mundial, especialmente en los trópicos (Galinsky y Laws 1998). Se conoce que hay plantaciones exitosas en Hawaii, África, Filipinas, Malasia, Australia y en menor escala en Latinoamérica (Morton, 1987).

2.2.4 Propagación

La forma más fácil y económica de propagar el papayo es por medio de semillas, a pesar de las dificultades que se presentan al obtenerse plantas de diferente sexo, y que a veces las plantas resultantes no reproducen exactamente las características de la planta originaria. Si se quiere tener la seguridad de obtener plantas exactamente iguales a las originaria, tanto en sus características como en su sexo, no hay otra solución que proceder a la multiplicación de la planta por medio de propagación "*in vitro*" (Vergara, 1999)⁴ o por medio de esquejes (Ibar, 1979).

El uso de cultivo de tejidos es una alternativa para propagar plantas de papaya que han sido modificadas genéticamente (Vergara, 1999).⁵

La semilla seca puede almacenarse por un año o más en recipientes herméticos y bajo refrigeración. Las semillas frescas tardan entre 10 a 14 días para germinar. Se puede mejorar la germinación removiendo la cubierta gelatinosa. Las semillas se siembran en bolsas o directamente en el terreno (Chia, et al., 1989).

2.2.5 Factores importantes para la producción

2.2.5.1 Clima Se prefiere un clima cálido que esté entre 22°C y 32°C, siendo la temperatura ideal los 25°C. Los cambios bruscos de temperatura resultan en frutos de mala calidad. Si la temperatura bajara a 0°C, se produce la caída de las hojas, y aunque la planta fructifique, los frutos quedan expuestos al sol, deteriorándose su calidad (Pereira de Araújo, 1987).

2.2.5.2 Suelos Necesita un tipo de suelo franco con un pH de 6 a 7.5 (neutro) y preferiblemente con un contenido de materia orgánica entre 2 y 3 %. Además, debe

⁴ Vergara, L. 1999. Pasos para el cultivo de la papaya transgénica *in vitro*. Universidad del Valle, Guatemala. Comunicación Personal

⁵ Vergara, L. 1999. Pasos para el cultivo de la papaya transgénica *in vitro*. Universidad del Valle, Guatemala. Comunicación Personal

tener una buena profundidad ya que la planta tiene raíces pivotantes que alcanzan los 2 metros y las raíces absorbentes están a unos 80 cm. (Pereira de Araújo, 1987).

Al tener sus tallos y raíces blandos y esponjosos, no debe cultivarse en terrenos demasiado húmedos y compactos con mal drenaje, ya que fácilmente se pudrirán las raíces (Ibar, 1979). Según Pereira de Araújo (1987), una acumulación de agua que haga contacto con el tronco en un tiempo de 48 horas, causaría la muerte a la planta.

2.2.5.3 Riego El agua debe contener menos de 400 ppm de sales, se utiliza aproximadamente 2000 m³ anuales, que se pueden distribuir cada 15 días. Hay que tener en cuenta que la papaya es muy susceptible a suelos excesivamente húmedos, y que resiste bien a la sequía (Ibar, 1979).

2.3 PRINCIPALES PLAGAS Y ENFERMEDADES DE LA PAPAYA

Existe un sinnúmero de enfermedades relacionadas directa en indirectamente con este cultivo. El siguiente cuadro resume las enfermedades más críticas y de mayor incidencia en el cultivo de la papaya (Cuadro 2).

Cuadro 2. Plagas principales del cultivo de la papaya.

Fuente: Plagas del cultivo de Papaya que ocurren en Honduras OIRSA-HONDURAS, Mayo de 1999 Adaptado por: Gabriel Chiriboga.

Nombre Común	Nombre Científico y/o Agente Causal
ENFERMEDADES FUNGOSAS	
Mancha Foliar	<i>Colletotrichum papayae</i>
Mildiu polvoriento; Oidio de la papaya.	<i>Oidium caricae</i> Noack
Pudrición de la raíz y del tallo.	<i>Phytophthora spp.</i>
Anthracosis de la fruta	<i>Colletotrichum gloesporioides</i>
Mal del talluelo (Damping-off)	<i>Pythium sp.</i> ; <i>Rhizoctonia sp.</i>
Pudrición del fruto e inflorescencia	<i>Alternaria alternata</i>
BACTERIAS	
Punteado de la hoja	<i>Pseudomonas caricapapayae</i>
Mancha Angular	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Carica-papayae</i> Rolfs.
Pudrición del fruto	<i>Erwinia carotovora</i>
VIRUS	
Papaya Ringspot Virus	PRSV
Papaya Mosaic Virus	PMV
Papaya Solo Lethal Yellowing Virus	PMYLV
Papaya Dropy Necrosis Virus	PDNV
OTROS ORGANISMOS	
Papaya Bunchy Top	PBT
Pawpaw Yellow Crinkle Phytoplasma	PaYCPh
NEMÁTODOS	
Nemátodo Aguja	<i>Longidorus sp.</i>
Nemátodo Nodulador	<i>Meloidogyne</i>
Nemátodo de Lesiones	<i>Pratylenchus sp.</i>

INSECTOS	
Mosca de la Fruta	<i>Toxotrypana cucicauda</i> Gerstaker; <i>Anastrepha serpentina</i> ; <i>Ceratitis capitata</i>
Picudo del Cocotero	<i>Rhynchosporus palmarum</i>
Gusano Cachudo	<i>Manduca sexta</i>
Mosca Blanca	<i>Bemisia tabaci</i>
Salta hojas del papayo	<i>Empoasca papayae</i> Oman; <i>Empoasca stevensi</i>
Tortuguilla	<i>Diabrotica balteata</i>
Áfidos	<i>Aphis spp.</i> ; <i>Myzus persicae</i>
ACAROS	
Deformador de la hoja	<i>Calacarus brionesae</i>
Acaro plano, rojo y blanco	<i>Brevipalpus phoenicis</i>
Arañita Roja	<i>Tetranychus sp.</i>

2.4 PLAGAS MÁS COMUNES EN HONDURAS

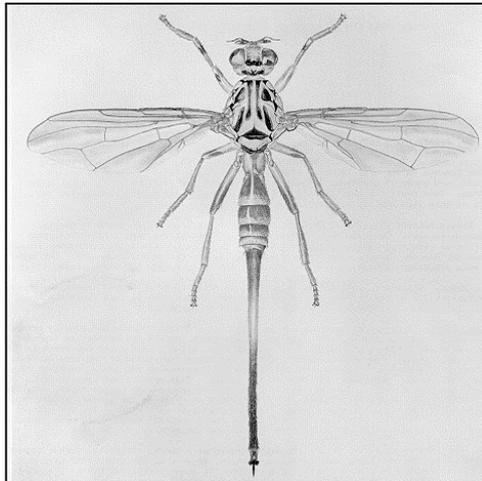


Figura 5. Mosca de la fruta
Fuente: Nation, 1998 UFL



Figura 6. Antracnosis en Fruto
Fuente: Ploetz, 1994



Figura 7. Alternaria en Fruto
Fuente: Davis, M 1994



Figura 8. Pudrición de la raíz y tallo (*Phytophota sp.*)

URL: <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/crops/papaya.htm>



Figura 9. Papaya Mosaic Virus (PMV)

URL: : <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/crops/papaya.htm>



Figura 10. Papaya Ringspot Virus (PRSV) en hoja.

URL: : <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/crops/papaya.htm>



Figura 11. Papaya Ringspot Virus (PRSV) en fruto.

Fuente: Davis, M 1994



Figura 12. Papaya Droopy Necrosis Virus (PDNV)
URL: <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/crops/papaya.htm>



Figura 13. Enfermedad de etiología desconocida en Zamorano
Foto: Gabriel Chiriboga

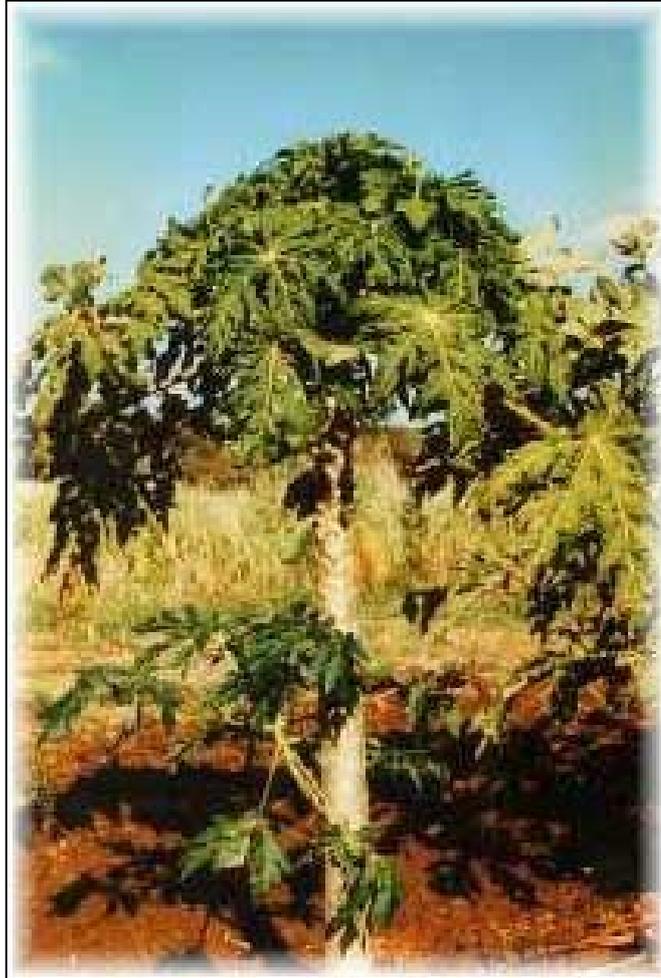


Figura 14. Papaya Bunchy Top
Foto: Cortesía de Bryan Brunner

2.4.1 Mosca de la fruta (*Toxotrypana curvicauda*)

Los principales factores que limitan la producción intensiva de la papaya en la Florida, son las enfermedades virales y la mosca de la fruta (*Toxotrypana curvicauda* L.) (Wan y Conover 1983; y Wolfengager y Walker, 1974).

Esta mosca, conocida como la avispa de la papaya (Figura 5), pertenece al orden Díptera y familia Tephritidae (Berry, 1959). Se distribuye a lo largo de Centro América y Sur América donde se cultive la papaya (Aluja Schuneman, 1993).

2.4.1.1 Daño El principal problema es la apariencia, ya que las frutas atacadas sufren de enfermedades fungosas secundarias, además de una mala maduración y una caída precoz de los frutos. Otro problema son las larvas que crecen internamente haciendo inservible el fruto para el consumo (Aluja Schuneman, 1993).

Una limitante para la exportación de productos frescos a los Estados Unidos, es la prohibición de ingreso de fruta fresca proveniente de países donde existe la mosca de la fruta (Duarte, 1999)⁶.

2.4.1.2 Biología y Ecología El adulto es una mosca grande (aprox. 25 mm) color castaño rojizo. A veces tiene bandas grises y amarillas sobre el tórax. Las alas son grandes de forma angular y con el ápice redondeado (Aluja Schuneman, 1993). El ovipositor es tan largo como el cuerpo del insecto que es introducido en el fruto donde se depositan los huevos en masas de 10 o más (Berry, 1959). Los huevos eclosionan a los 14 días y las larvas, apodas y de color amarillento, empiezan a crecer y a comer generalmente las semillas y el forro interno de la cavidad de la fruta (ICA, 1987).

Los frutos infestados parecen madurar antes de tiempo y las larvas continúan comiendo en la cavidad central, hasta que la pulpa se ablanda. Alcanzan su completo desarrollo al cabo de 15 a 20 días; luego abandonan el fruto y penetran en el suelo para empupar (Selman, 1998). Pasan otro periodo de 15 a 20 días en estado de ninfas hasta salir el adulto, el ciclo entero de vida es de 45 a 60 días (Aluja Schuneman, 1993).

Las hembras no vuelan muy lejos y su dispersión natural es muy poca. El vehículo principal de dispersión es el transporte de frutos infestados (Berry, 1959).

2.4.1.3 Manejo y Control La ovoposición es una operación peligrosa para esta mosca. Si el ovipositor queda insertado por mucho tiempo en el fruto, el jugo lechoso que exuda la papaya herida coagula prontamente y la atrapa (Berry, 1959). Por esto el mejor manejo es la selección de variedades carnosas de papaya para producción, de modo que las hembras no puedan insertar su ovipositor en la cavidad central del fruto. Además, se debe recoger los frutos infestados que caen al suelo y destruirlos, esto ayudara a reducir la población de moscas (ICA, 1987).

⁶ Duarte, O. 1999. El cultivo de la papaya en el Zamorano. EL Zamorano, Honduras. Comunicación Personal.

En el campo del control biológico han habido programas de introducción de parasitoides de las familias Eulophidae, Braconidae y Pteromalidae, de los siguientes generos: *Dirhinus*, *Tetrastichus*, *Aceratoneuromyia*, *Bracanastrepha*, *Doryctobracon toxotrypanae* Marsh (Hymenoptera: Braconidae) (Selman, 1998).

Los insecticidas sintéticos también son utilizados para el control de la mosca de la fruta, siendo el Malathión el más utilizado. Se pueden realizar las siguientes aplicaciones: (Cuadro 3).

Cuadro 3. Diferentes alternativas de aplicación para el control químico de la mosca de la fruta.

Tipo de Aplicación	Producto	Mezcla (Litros)
Terrestre	Malathión 57% CE	0.5
	Proteína Hidrolizada	1
	Agua	9
	Emulsificante	Según el producto
Terrestre	Malathión 50% CE	0.5
	Vinagre Natural de Piña	1
	Melaza	1
	Proteína hidrolizada	0.25
	Agua	9
	Emulsificante	Según el producto
Aérea	Malathión 95% ULV	1
	Proteína Hidrolizada	4

Fuente: Aluja Schuneman, 1993

2.4.2 Anthracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*)

La anthracnosis es una de las enfermedades poscosecha más importante en la región tropical y subtropical en el cultivo de la papaya y otros frutales (Figura 6) (Agrios, 1997; Dickman, 1994; Arriola, et al., 1976).

2.4.2.1 Síntomas y Daños Esta enfermedad se presenta principalmente en el fruto. Inicia con manchas pequeñas y redondas, tornándose acuosas y de color oscuro cuando está en estado avanzado. El daño aumenta directamente proporcional al grado de madurez. Además de provocar daño superficial, la lesión también penetra en el fruto. El hongo también ataca los pecíolos de las hojas inferiores (Fundación de Desarrollo Agropecuario, 1992).

Las lesiones comienzan con un tamaño de 5 cm de diámetro, la masa conidial, que es de color rosado anaranjado, cubre el centro de la lesión y alrededor se forman aros concéntricos (Dickman, 1994).

2.4.2.2 Agente Causal El agente causal de esta enfermedad es *Colletotrichum gloeosporioides* en su estado conidial (Castaño-Zapata y Del Río, 1994; Agrios, 1997). Este patógeno tiene un amplio rango de hospederos, entre ellos el mango, el aguacate y otros frutales tropicales (Ploetz, 1994).

2.4.2.3 Epidemiología La anthracnosis inicialmente se establece en el campo, infectando a frutas inmaduras. Después de la penetración en la fruta, el crecimiento del hongo es suprimido hasta que la fruta madura (Dickman y Alvarez 1983).

Se desconoce el factor que hace que el hongo entre en dormancia en la fruta verde, aunque hay evidencias de la presencia de compuestos fungistáticos tales como taninos y fenólicos, que son encontrados en altas cantidades en frutas inmaduras (Dickman y Alvarez, 1983).

2.4.2.4 Manejo y Control Según Couey, et al.(1984), tanto el método de aspersion de agua caliente como la inmersión son efectivos para controlar esta enfermedad en un tiempo de 15 días. Esto se debe complementar con el uso de un fungicida protectante como el Tiabendazole (Fundación de Desarrollo Agropecuario, 1992).

2.4.3 Alternaria (*Alternaria alternata*)

Es la enfermedad con mayor incidencia en lotes de papaya en zonas secas. El hongo causal se reportó por primera vez en la India. Hoy en día está distribuido por todo el mundo (Figura 7) (Nishijima, 1994).

2.4.3.1 Síntomas y Daños Los síntomas característicos son pequeñas lesiones circulares a ovaladas de color negro, como resultado de la esporulación del patógeno. Las lesiones se limitan a la superficie de la fruta y no causan daño significativo en la pulpa. Las lesiones dispersas en distintos sitios de la fruta pueden unirse y extenderse hasta cubrir la superficie total de la fruta (Nishijima, 1994).

2.4.3.2 Agente Causal El agente causal es *Alternaria alternata* (Fr.:Fr) Keissl., de la clase Deuteromycetes, orden Moniliales, familia Dematiaceae (Castaño-Zapata y Del Río, 1994; Nishijima, 1994).

2.4.3.3 Epidemiología Comúnmente coloniza material de plantas muertas o próximas a morir. Sus conidioforos son de color café y de tamaño mayor a 50 x 3-6 µm. Las conidias, que pueden ser diseminadas por el viento, agua e insectos, son de color café y se forman en largas cadenas (Agrios, 1997).

Generalmente ataca tejidos de plantas viejas, específicamente los pecíolos senescentes, produciendo una cantidad considerable de conidias sobre la superficie de la fruta. Necesita periodos de 3 a 4 días además de la presencia de alta humedad relativa y temperaturas moderadas para iniciar la infección.(Castaño-Zapata y Del Río, 1994; Nishijima,1994).

La enfermedad raramente se desarrolla en frutas cosechadas inmaduras, aunque las frutas que son almacenadas en cuartos fríos a 10 °C, por más de 14 días, podrían experimentar una alta incidencia de daños (>80%) (Nishijima, 1994).

2.4.3.4 Manejo v Control Se recomienda una rotación de cultivos y prácticas de poscosecha adecuadas. La aplicación de fungicidas no es económicamente recomendada en algunos casos (Castaño-Zapata y Del Río, 1994). Para un control químico se puede utilizar chlorotalonil o mancozeb asperjado, dependiendo de la infección, hasta dos veces por semana. Se debe tener en cuenta que el uso de control

químico como única alternativa no es muy recomendable (Nishijima 1994), por lo que se debe hacer un tratamiento poscosecha que consiste en sumergir el fruto en agua caliente a 49°C durante 20 min, seguido de un desaguado a temperatura ambiente (Arriola, et al., 1976).

2.4.4 Pudrición de las raíces y tronco (*Phytophthora parasitica*)

Han habido grandes pérdidas causadas por *Phytophthora sp.*, principalmente en época lluviosa o en suelos anegados por mal drenaje (Figura 8) (Ko, 1994).

2.4.4.1 Síntomas y Daños Este hongo no solo ataca a plantas durante el cultivo, si no desde el semillero, causando la pudrición del tronco de la planta (Pereira de Araujo, 1987).

Las plantas afectadas presentan en un inicio una pudrición seca de color marrón oscuro en el ápice de las raíces jóvenes. Al avanzar el daño hay muerte de raíces secundarias y empieza una pudrición ascendente en el pivote central hasta el cuello. Cuando la enfermedad está más avanzada, se destruye la médula y todo el tejido parenquimático externo, quedando expuesto solamente el tejido fibroso. Al cubrir la enfermedad la base del tronco, la planta se dobla y se cae (Barahona y Sancho, *s.f.*).

2.4.4.2 Agente Causal El agente causal de esta enfermedad es *Phytophthora parasitica* Dastur, es un hongo de la clase Oomycetes, orden Peronosporales. Este patógeno sobrevive en el suelo, lesiones del tallo y otros hospederos (Barahona y Sancho, *s.f.*)

2.4.4.3 Epidemiología Esta enfermedad se presenta mundialmente, en regiones que mantienen, temperaturas entre 15 y 32 °C, suelos mal drenados y humedad relativa alta (> 80%) (Agrios, 1997).

2.4.4.4 Manejo y Control Según Pereira de Araujo (1987), se puede prevenir en un 80% tomándose las siguientes medidas: suspender el riego en el área, encalar el lote antes de la siembra, drenar el exceso del agua encharcada y arrancar los árboles enfermos. Ibar (1979) comenta que ningún tratamiento posibilita la eliminación completa del hongo del suelo. Sin embargo, la infección puede reducirse y hacerse más lenta la dispersión evitando la humedad del suelo en lo posible por medio de drenajes y buenos métodos de riego.

2.4.5 Papaya Mosaic Virus (PMV)

La incidencia de cepas fuertes de PMV y su difícil control han limitado la producción comercial de papaya en países como la India, Puerto Rico, Brasil, Venezuela, y Estados Unidos (Florida y Hawaii) (Purcifull y Hiebert, 1971).

2.4.5.1 Distribución geográfica Esta enfermedad se reportó en Estados Unidos en 1962 y en Venezuela en 1970 (Purcifull y Hiebert, 1971). Ahora se conoce que está en la mayoría de las regiones productoras de papaya (Brunt, et al. 1996;).

2.4.5.2 Taxonomía Este virus pertenece al género *Potexvirus*, y es conocido como Papaya Mosaic Virus y su siglas son PapMV (Papaya Mosaic Viruses). Los

sinónimos más utilizados son: babaco yellow mosaic virus (BYMV), boussingaultia mosaic virus (BMV) y papaw mild mosaic virus (PMMV) (Purcifull y Hiebert, 1971).

2.4.5.3 Morfología y citopatología La partícula viral es larga, filamentosa y contiene ARN. No posee una envoltura cápsida y es flexible. Su dimensión es de aproximadamente 530 nm de largo y el tamaño del genoma total, que es unipartito, es de 6.656 kb (Breman, 1997; Brunt, et al., 1996; Purcifull y Hiebert, 1971).

Los viriones se encuentran en toda la planta hospedera y se presentan inclusiones en forma de bandas en células infectadas (Purcifull y Hiebert, 1971).

2.4.5.4 Epidemiología Según Purcifull y Hiebert, (1971) esta enfermedad ha sido encontrada solo en papaya, pero en estudios recientes, Breman (1997) encontró, que *Portulaca sp.*, maleza importante a nivel mundial, es hospedera de esta enfermedad.

No se conocen insectos vectores, transmisión por semilla ni por polen, pero es fácil transmitir el virus mecánicamente (Purcifull y Hiebert, 1971; Brunt, et al., 1996; Breman, 1997)

2.4.5.5 Sintomatología Los síntomas característicos son: mal desarrollo de la planta, márgenes foliares irregulares y moteado moderado en la hoja fácilmente visible en las hojas jóvenes (Figura 9). No ocurre ningún síntoma en los pecíolos, tallos o frutos. Este virus no tiene un efecto muy marcado en el tamaño del fruto (Breman, 1997; Conover, 1964).

2.4.5.6 Diagnóstico Para hacer un buen diagnóstico se debe conocer el historial del cultivo, observar los síntomas característicos en el campo, recolectar las muestras, procesarlas y almacenarlas a 4°C hasta utilizarlas (Palmieri, 1999)⁷.

Se puede utilizar microscopía electrónica para observar las partículas virales o alternativamente, un microscopio de luz para observar cuerpos de inclusión. También se utilizan análisis serológicos como "kits" de ELISA ("Enzyme-linked immunosorbent assay") comerciales (Breman, 1997)

2.4.5.7 Manejo de la enfermedad Se deben tener en cuenta prácticas culturales, limpieza de instrumentos de cosecha (en el caso que se utilicen) y eliminación de malezas (Brunt, et al., 1996).

2.4.6 Papaya Ringspot Virus (PRSV)

En Florida, Estados Unidos, los principales factores que limitan la producción intensiva son las enfermedades virales y la mosca de la fruta (*Toxotripa curvicauda* L.) (Wan y Conover 1983 y Wolfengarger y Walker, 1974).

La sanidad del cultivo es el principal problema, siendo la mayor limitante o el fracaso para muchos productores de papaya alrededor del mundo. Como ejemplo se puede citar lo dicho por la Universidad de Puerto Rico (1987): "La producción de papaya en

⁷ Palmieri, M. 1999. Capacitación en uso de técnicas de diagnóstico para enfermedades de la papaya. U. del Valle, Guatemala. Comunicación Personal.

Puerto Rico es insuficiente para cubrir la demanda local; datos del departamento de estadística refieren a importaciones realizadas de República Dominicana para cubrir la del mercado. Siendo el problema principal en la producción el control inadecuado de las enfermedades".

Honduras tampoco ha sido una excepción, ya que según Zuniga (2000)⁸, en el Valle de Comayagua hubo un programa de incentivo para iniciar la exportación de papaya, y el resultado fue una infestación casi total de los lotes por virus, perdiéndose toda la producción que bastó para que no se volviera a sembrar en el valle de Comayagua, papaya destinada a la exportación.

Esta enfermedad es una de las más destructivas en casi todas las regiones que se siembra papaya, con excepción de África. Es particularmente severa en áreas de Tailandia, Taiwán, Filipinas y la parte sur de China. (Gonsalves, 1994)

Según Galinsky y Laws (1998), en Asia, la producción se vio reducida en 5,400 TM desde 1989. Esto se debió en gran parte a la enfermedad causada por el Papaya Ringspot Virus.

2.4.6.1 Distribución geográfica Se sabe que ocurre en la mayoría de las áreas donde se siembra papaya y cucúrbitas. La cepa "p" incluye a Estados Unidos, Sur América, países caribeños, India, China, Medio Oriente Taiwán, África y Okinawa. La cepa "w", se encuentra en los mismos países, y en Francia, Alemania y Australia (CMI/AAB, 1984; Brunt, et al., 1996).

2.4.6.2 Taxonomía Este virus pertenece de la familia Potyviridae, del género *Potyvirus*, su nombre es Papaya Ringspot Virus, en español Virus Anular de la Papaya y las siglas más utilizadas son PRSV (siglas en inglés) (CMI/AAB, 1984).

Se han encontrado dos tipos de Papaya Ringspot Virus (PRSV): PRSV-p (Cepa p) y PRSV-w (Cepa w). El PRV-p puede infectar a Caricaceas y Cucúrbitaceas; mientras que el PRV-w solo infecta cucúrbitaceas (Gonsalves, 1994). A la cepa aislada PRV-w también se lo conoce como watermelon mosaic virus 1 (CMI/AAB, 1984).

Existen sinónimos del mismo nombre como son: papaya distortion mosaic virus, papaya leaf distortion virus, papaw distortion ringspot virus, papaw mosaic virus, watermelon mosaic virus 1 (Brunt, et al., 1996), papaya distortion ringspot virus y papaya mosaic virus. El último nombre aparece en la literatura vieja y no debe ser confundido con la enfermedad causada por el Papaya Mosaic Virus (PMV), que es un *potexvirus* (Gonsalves, 1994).

2.4.6.3 Morfología y citopatología Es una partícula larga filamentosa y flexible cuya longitud promedio es de 800nm con un diámetro de 12nm (Castaño-Zapata y Del Río, 1994.). Los viriones se encuentran en todas partes en planta; en el citoplasma y en vacuolas de la célula (Brunt, et al., 1996). El virus induce inclusiones celulares

⁸ Zuniga, A. 2000. Problemática de la papaya en la zona de Comayagua, Departamento de Sanidad vegetal del ministerio de Recursos Naturales, Tegucigalpa Honduras

cilíndricas e inclusiones amorfas en el citoplasma de la célula hospedera. Las inclusiones no contienen viriones (CMI/AAB, 1984; Brunt, et al., 1996).

El genoma consiste de ARN, unipartito. El tamaño total es de 12 kb y su replicación no depende de otro virus (Brunt, et al., 1996).

2.4.6.4 Epidemiología Según Brunt, et al. (1996), el rango de hospederos se limita a tres familias: Caricaceae, Cucurbitaceae y Chenopodiaceae. Esto coincide con investigaciones realizadas por Yeh, et al. (1984), que diagnosticaron muestras obtenidas de Taiwan, Hawaii, Florida y Ecuador, aislando 9 cepas diferentes de PRSV provenientes de estas tres familias.

Se puede transmitir por medios mecánicos, por insectos vectores de manera no persistente (CMI/AAB, 1984), por injerto (Castaño-Zapata y Del Río, 1994.) y estudios recientes hechos en Venezuela, han demostrado que ciertas especies de pájaros son transmisores de la enfermedad (Trujillo Pinto, et al. 1989). No se ha reportado transmisión por semilla (Gonsalves, 1994).

Este virus es rápidamente diseminado por una gran cantidad de especies de áfidos, en forma no persistente (Gonsalves, 1994). Entre los más importantes están: *Aphis spiraecola*, *A. gossypii*, *A. craccivora*, *A. ruimicis* y *Myzus persicae*. Se conoce que el periodo de adquisición del virus por el áfido *Myzus persicae* es de 10 seg. siendo el periodo de incubación igual (Castaño-Zapata y Del Río, 1994)

Eusebio, et al. (1994), encontraron por medio de uso de métodos inmunológicos (ELISA), que el virus se puede encontrar distribuido tanto en hojas, peciolas, tronco y en las raíces.

Gonsalves (1994) encontró que la cantidad de infección primaria aumenta en forma inversa con la distancia entre plantas, a menor distancia de plantas o de lotes infectados mayor y más rápido va a ser la infección al resto del lote.

2.4.6.5 Sintomatología Los síntomas van a variar en intensidad dependiendo del tipo de cepa que cause la infección, temperatura del ambiente, vigor y desarrollo fisiológico de las plantas (Gonsalves, 1994; CMI/AAB, 1984). El PRSV tipo P, en plantas infectadas exhibe inicialmente clorosis en las hojas más jóvenes en aproximadamente 2 a 3 semanas (CMI/AAB, 1984), aclaramiento de venas, rugosidad y moteado en la lamina foliar (Figura 10) (Castaño-Zapata y Del Río, 1994).

En estado avanzado de la enfermedad hay deformación y reducción en la lamina foliar, la cual se puede tornar extremadamente filiforme. Además, sobre los peciolas y el tallo se desarrollan unas rayas de color verde oscuro de aspecto aceitoso. Eventualmente las rayas pueden abarcar todo el tronco (Castaño-Zapata y Del Río, 1994).

Sobre los frutos se pueden formar anillos de color verde o café oscuro (Figura 11) (Castaño-Zapata y Del Río, 1994). El número de anillos en la fruta va a variar dependiendo de la madurez de la misma y se distingue menos cuando la fruta es más madura. Las frutas producidas por arboles ya infectados presentan abultamientos desuniformes en toda la fruta (Gonsalves, 1994).

El rendimiento del cultivo y los grados brix de la fruta en plantas infectadas son marcadamente menores que en plantas sanas. Los frutos y hojas presentan síntomas más severos en época de invierno o en temperaturas bajas. Las plantas infectadas en las primeras etapas no suelen morir pero no producen frutos. En Taiwán hay cepas que matan a plantas pequeñas infectadas (Gonsalves, 1994).

2.4.6.6 Diagnóstico Para hacer un buen diagnóstico se debe conocer el historial del cultivo, observar los síntomas característicos en el campo, recolectar las muestras, procesarlas y almacenarlas a 4°C hasta utilizarlas (Palmieri, 1999)⁹.

La partícula viral es un buen inmunógeno, y se puede utilizar el “Liquid immunoprecipitin test” con extracto de planta clarificado o con partículas virales purificadas. También es común el uso de métodos inmunológicos como el Ensayo de inmunoabsorbencia ligado a una enzima (“Enzyme-linked immunosorbent assay”, ELISA) para su diagnóstico (CMI/AAB, 1984).

2.4.6.7 Manejo de la enfermedad Los esfuerzos para el control del PRSV han incluido: el control químico del vector, el uso de aceite blanco para limpiar el estilete de insectos chupadores y disminuir su capacidad de transmisión (Trujillo Pinto, et al. 1989), la erradicación de plantas infectadas, aislamiento de plantaciones a zonas que estén libres de la enfermedad (Castaño-Zapata y Del Río, 1994), el uso de variedades tolerantes, prácticas culturales como deshierba de malezas y plantas hospederas, protección cruzada (Gonsalves, 1994; Vegas et al. 1999) y transformación genética (Fitch et al. 1992).

Según Gonsalves (1994), individualmente ningún método es eficaz y es necesaria la combinación varios para tener mejores resultados.

2.4.7 Papaya Droopy Necrosis Virus (PDNV)

En Venezuela el factor limitante en la producción de papaya es el PRSV. Sin embargo, en la región costera del Estado de Zulia en Venezuela la incidencia de la enfermedad es baja. Se ha sugerido que esto puede deberse a los vientos constantes que interfieren con la transmisión del virus por los áfidos. Este fenómeno la convirtió en una zona de gran potencial para la producción de papaya, pero al poco tiempo una enfermedad, cuyo agente causal es un rhabdovirus, llamada "Papaya Droopy Necrosis Virus", (PDNV por sus siglas en Inglés), acabó con la producción de papayas comerciales en toda la zona (Lastra y Quintero, 1981).

2.4.7.1 Distribución geográfica Esta enfermedad fue detectada por primera vez en Venezuela en el estado de Zulia en el año de 1979 y se distribuyó rápidamente eliminando la producción de papaya en las regiones cercanas a Zulia (Lastra y Quintero, 1981)

⁹ Palmieri, M. 1999. Capacitación en uso de técnicas de diagnóstico para enfermedades de la papaya. U. del Valle, Guatemala. Comunicación Personal

Más tarde fue diagnosticada por Wan y Conover (1981) en el condado de Dade, Florida, en el año de 1981, pero según Zettler y Wan (1994) los síntomas ya se habían observado en 1947.

2.4.7.2 Taxonomía El agente causal es un Rhabdovirus y su nombre es Papaya Apical Necrosis Virus, sus siglas son PANV (Zettler y Wan, 1994).

2.4.7.3 Morfología y citopatología La partícula viral mide 87-98 x 180-254 nm, tiene una forma parecida a una bala, se las puede encontrar en forma agregada en el núcleo de las células parenquimales de los tejidos vasculares en el floema. Ocasionalmente se puede hallar en el citoplasma de la célula (Zettler y Wan, 1994; Lastra y Quintero, 1981).

2.4.7.4 Epidemiología No se sabe si es transmisible mecánicamente (Zettler y Wan, 1994), pero Lastra y Quintero (1981) encontraron por medio de bioensayos, que *Empoasca papayae* es vector del rhabdovirus.

Según Zettler y Wan (1994), esta enfermedad es específica para papaya, no se ha reportado que tenga otros hospederos.

2.4.7.5 Sintomatología Los síntomas iniciales son: amarillamiento general de las hojas, seguido por un declinamiento de las hojas más jóvenes, la parte apical se vuelve necrótica, y posteriormente las hojas se mueren (Figura 12) (Lastra y Quintero, 1981). También se observa la caída de las hojas bajas, y en la parte apical las hojas toman una forma convexa, además hay aborto de flores, consecuentemente no hay producción de frutos (Zettler y Wan, 1994).

Los síntomas de la enfermedad son mucho más severos durante la época de frío que en la época de calor. El látex fluye libremente en comparación con plantas infectadas con Papaya Bunchy Top (Zettler y Wan, 1994).

2.4.7.6 Diagnóstico Para el diagnóstico se puede utilizar la técnica de cuerpos de inclusión y también microscopía electrónica (Wan y Conover, 1981; Lastra y Quintero, 1981).

2.4.7.7 Manejo de la enfermedad La única forma de manejar esta enfermedad hasta el momento es eliminar plantas enfermas del campo (Zettler y Wan, 1994).

2.4.8 Enfermedad de etiología desconocida en Honduras

Esta enfermedad ha llegado a ser el factor limitante en la producción de papayas en Zamorano (Duarte, 1999),¹⁰ siempre se ha pensado que es Papaya Bunchy Top, pero nunca se ha realizado ningún tipo de diagnóstico de la enfermedad. Este estudio constituye el primer reporte de la enfermedad.

¹⁰ Duarte, O. 1999. El cultivo de la papaya en el Zamorano. EL Zamorano, Honduras. Comunicación Personal.

2.4.8.1 Generalidades No se conoce su distribución geográfica pero se ha observado en el valle de Zamorano y Comayagua, se desconoce su agente causal, existencia de vectores y otros hospederos.

Se sabe que es agresiva y es de fácil propagación ya que en 2 o 3 meses todo el lote se infecta.

Los síntomas visibles son (Figura 13):

- ◆ Estancamiento del crecimiento
- ◆ Acortamiento de los entrenudos, pecíolos y hojas nuevas
- ◆ El tallo se debilita adquiriendo la apariencia de una "punta de lápiz"
- ◆ Defoliación desde la parte basal hacia la apical (puede llegar a ser total)
- ◆ Mala maduración de las frutas
- ◆ Debilitamiento y ataque de otras enfermedades
- ◆ Termina con la muerte de la planta

2.4.9 Papaya Bunchy Top (PBT)

Esta enfermedad es uno de los factores que limitan la producción de papaya, principalmente en el Trópico Americano (Davis, 1993), ya que constituye una enfermedad de gran importancia económica. (Davis, et al. 1997).

2.4.9.1 Distribución geográfica La enfermedad del Papaya Bunchy Top o cogollo arrellado en español, fue reportada por primera vez en Puerto Rico en 1931 y ahora está distribuida en la región del Caribe, Centro América y parte de Sur América. (Davis, et al. 1994)

2.4.9.2 Taxonomía Story y Halliwell (1969), asociaban esta enfermedad con un fitoplasma. Estudios recientes en la Universidad de Florida demostraron que el agente causal es una bacteria "fastidiosa" del género *Rickettsia*. Según Davis, et al. (1997), lo publicado acerca de cuerpos fitoplasmáticos observados mediante microscopía electrónica por Story y Halliwell (1969), pudo ser una mala interpretación de mitocondrias degeneradas.

Davis, et al. (1997), encontraron que el análisis poligenético basado en el uso de la secuencia del gen 16S rRNA demuestra que el organismo aislado de plantas con síntomas de Papaya Bunchy Top tiene una similitud casi del 99% al género de *rickettsias*, dando como respuesta que puede ser una reciente evolución del género *rickettsia*.

2.4.9.3 Morfología La *Rickettsia*, un tipo de bacteria "fastidiosa" gram-negativa, , tiene una forma de bacilo, mide aproximadamente 0.25 a 0.35 μm de ancho y 0.8 a 1.6 μm de largo. Tiene una pared celular muy delgada entre un rango de 25 a 50nm. Se presume que tiene ADN y ribosomas. Está asociada con la enfermedad del Papaya Bunchy Top. (Davis, et al. 1995)

2.4.9.4 Biología La *Rickettsia* es muy difícil de cultivar en medio sintéticos, los métodos que se podrían usar para su cultivo son muy similares a los que se usan para

los virus ya que son intracelulares obligados y generalmente están asociados con algún insecto como vector. (Adrian, et al. 1998)

En la papaya, el patógeno se localiza en los tejidos vasculares específicamente en los laticíferos (órganos celulares destinados a la producción de látex), deformándolos, colapsándolos y finalmente destruyéndolos (Davis, et al. 1997).

2.4.9.5 Sintomatología Los síntomas encontrados por Brunner (2000) (Anexo 1), en plantas infectadas con Papaya Bunchy Top, principalmente son (Figura 14):

- ◆ Al hacer una herida en tejido infectado no fluye látex (hoja, tallos, frutas)
- ◆ Desarrollo de brotes sanos laterales en el tallo.
- ◆ La copa toma una forma de sombrilla por el acortamiento de tamaño de los entrenudos y pecíolos.
- ◆ Las hojas nuevas se reducen en tamaño.
- ◆ Las hojas nuevas y viejas adquieren una textura firme (no son flexibles como una hoja sana) toman una forma convexa y presentan una clorosis desuniforme en toda la hoja.
- ◆ Las frutas se quedan pequeñas y no maduran bien.

2.4.9.6 Diagnóstico Para el diagnóstico se utilizan técnicas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (“Polymerase Chain Reaction”, PCR), con los primers PBTF1 y PBTR1. Se deben recolectar pecíolos de las hojas jóvenes y guardarlos en una solución de 5 % de Borato de Sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) a 4°C, hasta cuando sean utilizados. (Davis, et al. 1997).

2.4.9.7 Vector Se han detectado dos especies de saltahojas como vectores, *Empoasca papayae* Oman, y *Empoasca stevensi* Young. Este reporte constituye la primera evidencia de que estos saltahojas, transmitan una bacteria inhibitoria del látex (Davis, et al. 1997).

2.4.9.8 Manejo de la enfermedad El mejor control es la prevención, mediante la eliminación de las plantas enfermas (Guzmán Díaz, 1998). Otra alternativa según la Universidad de Puerto Rico (1987), es pinchar el tallo desde arriba hacia abajo con un instrumento punzante hasta llegar a un punto donde brote látex. La emisión de látex indica que la *rickettsia* no ha invadido los tejidos y que por consiguiente los rebrotes estarán libres de la enfermedad, se debe podar la parte afectada dejando que la planta tenga nuevos rebrotes.

Guzmán Díaz (1998), encontró que algunos agricultores de la zona atlántica en Costa Rica, utilizan abamectina (Vertimec®) para controlar al vector. Esto ha bajado en algo la incidencia pero no significativamente, además que la abamectina no esta registrada para usar en papaya. En Cuba, Jimenez y Delgado (*s.f.*), encontraron que el uso de químicos para controlar los vectores del Papaya Bunchy Top, no es efectivo para evitar la transmisión en las condiciones de su experimento.

Esta enfermedad se puede confundir con una deficiencia de Boro, pudiendo ocurrir por dos razones: la primera ocurre antes de floración, ya que las plantas tienen un rápido crecimiento y los requerimientos de calcio y boro son altos, si hay carencia de estos se provoca una deficiencia. Los síntomas principales son la formación de tejido

corchoso en el ápice de la planta y la disminución de la exudación de látex esto ocasiona el arrellamiento de las hojas jóvenes. La segunda forma se da cuando la planta es adulta y se encuentra en producción, la misma falta de boro y calcio provocan una senescencia prematura en hojas intermedias, las cuales se tornan amarillas y cuelgan dejando heridas en la inserción del pecíolo (Guzmán Díaz 1998).

Para controlar esta deficiencia se puede utilizar hasta 0.5 kg/ha/año de boro asperjados quincenal o mensualmente antes de iniciarse la floración; esto puede evitar que se manifieste la enfermedad (Guzmán Díaz 1998)

2.5 ASPECTOS DE DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de enfermedades en plantas, causadas por virus y otros patógenos como los fitoplasmas y rickettsias, históricamente ha sido difícil, ya que estos organismos no se pueden cultivar en el laboratorio ni se pueden ver directamente con un microscopio de luz (Hansen y Wick, 1993).

La necesidad de utilizar métodos prácticos para el diagnóstico de virus y otros organismos, impulsó el desarrollo de alternativas de técnicas sensibles a virus similares a las usadas en bacterias y hongos. Algunas de estas técnicas como ELISA ("Enzyme-linked immunosorbent assay"), PCR y electroforesis ahora se utilizan rutinariamente en la detección de los virus y otros organismos, considerándolas convencionales (Hansen y Wick, 1993).

3 MATERIALES Y METODOS

3.1 CONTEXTO GENERAL

Para la investigación y desarrollo de este tema, se contó con la ayuda de personas con experiencia en temas económicos, agrícolas y de mercado, mediante entrevistas personales. También se utilizaron herramientas como la Internet, biblioteca y otras fuentes para recopilar y procesar la información.

3.2 EVALUACIÓN DE CAMPO

El presente estudio se realizó en un periodo de un año, de abril de 1999 a abril del 2000. Se realizaron visitas a distintos productores para obtener información y recolectar muestras de plantas enfermas. Además se realizó una encuesta con el objetivo de hacer un diagnóstico rural rápido participativo.

Se trabajó en las zonas del centro y norte del país, en los departamentos de: Cortés, Francisco Morazán, Comayagua y La Paz, en las localidades de Cofradía, Zamorano, Flores, Villas San Antonio, Sifón, Los Castaños, Playitas y Camino Viejo respectivamente. Estas zonas se escogieron por ser las más representativas en Honduras en la siembra de papaya (Figura 15).

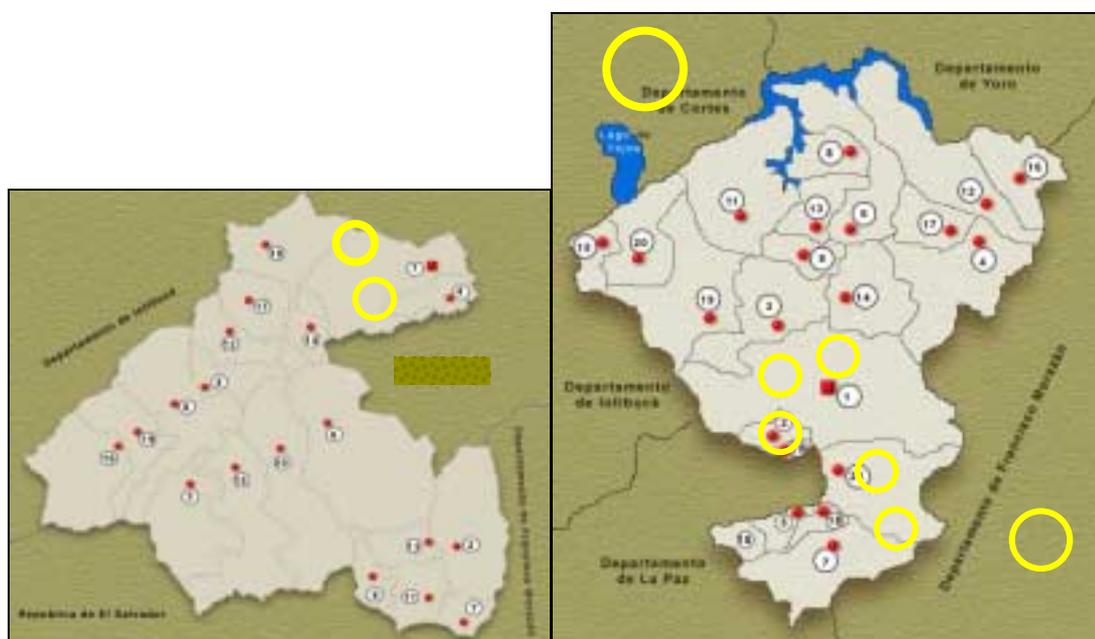


Figura 15. Mapas demarcados donde fueron tomadas las muestras (circulo amarillo). Fuente: URL: <http://www.hondudata.com>

3.2.1 Reconocimiento de la zona y las plantaciones

El reconocimiento duró tres meses y consistió en buscar en cada localidad productores o lotes de papaya. Se trabajó con el apoyo de intermediarios, vendedores, productores y técnicos que conocían las distintas zonas.

3.2.2 Identificación de síntomas característicos en campos de producción y recolección de muestras

Una vez detectados los lotes de papaya se procedió a inspeccionarlos. Luego se localizaron plantas con síntomas característicos del Papaya Ringspot Virus, Papaya Mosaic Virus y del Papaya Bunchy Top (descritos anteriormente en la revisión de literatura); se recolectaron muestras de tejidos sanos y jóvenes de las plantas sintomáticas.

Para la recolección se utilizaron bolsas de dos tamaños, pequeñas (10cm x 12cm) y grandes (15cm x 25cm), para pecíolos y hojas, respectivamente. También se utilizaron marcadores y cinta adhesiva para identificarlas y se guardaron en hieleras con hielo artificial para conservar las muestras hasta llegar al laboratorio.

3.3 DIAGNÓSTICO RURAL RAPIDO PARTICIPATIVO

3.3.1 Elaboración de la encuesta

Para iniciar y obtener información preliminar se utilizó la metodología de una encuesta exploratoria. Se inició con 5 productores en las localidades de Flores y Villas de San Antonio en el departamento de Comayagua, se eligieron estas localidades por su cercanía y por ser un sitio representativo, ya que según el censo nacional, Comayagua es el departamento donde se cultiva mayor cantidad de huertos de papaya.

Una vez concluida la encuesta exploratoria, donde se hicieron preguntas abiertas y generales, se procedió a elaborar los formularios de la encuesta.

La población de la encuesta fueron todos los productores de papaya que están localizados en los departamentos de Comayagua y La Paz. No se trabajó con una muestra, si no más bien se cubrió todo la población de productores.

La encuesta se dividió en 6 partes, factores socioeconómicos, percepción al cultivo de papaya, económico, técnico, fitosanitario y poscosecha. Además, se hicieron dos validaciones, una con los productores y la otra con la ayuda de dos técnicos con gran experiencia (Anexo 2).

3.3.2 Contacto con los agricultores y realización del Diagnóstico Rural Rápido Participativo.

Mientras se hacía la inspección en los lotes se llenaba la encuesta mediante una entrevista con los productores. La encuesta consistió en 45 preguntas cerradas, aunque se inclinó hacia una encuesta abierta, es decir, se tomó en cuenta además de las respuestas, el diálogo con los productores. Esto ayudó a realizar un diagnóstico rural rápido participativo con excelentes resultados.

Fueron en total quince productores encuestados, ubicados en los departamentos de La Paz y Comayagua. No se encuestó a los productores de los otros departamentos por cuestión de logística, ya que estaban muy distantes unos de otros.

3.4 ANALISIS DE LAS MUESTRAS EN LABORATORIO

El análisis se realizó en el laboratorio de diagnóstico molecular del Zamorano. Se utilizaron técnicas de análisis de ADN, mediante PCR y pruebas serológicas con "kits" comerciales de ELISA ("Enzyme-linked immunosorbent assay").

Para la identificación de las muestras se tomaron los siguientes datos: (Cuadro 4)

Cuadro 4. Formato para la información de muestras recolectadas y explicación del código

Fecha	Código de Muestra	Productor	Localidad	Edad del Cultivo (Meses)	Sintomatología
24/02/00	PBTfICo	Luis	Flores Comayagua	9	Hojas nuevas deformes (convexas), cloróticas
24/02/00	PBTlCCo	Donaldo	Los Castaños Comayagua	10	Clorosis en Hojas Nuevas
21/02/00	PBTlCCo	Segundo Lote	Los Castaños Comayagua	12	Defoliación completa. Frutos normales. Hojas pequeñas y deformes
14/02/00	PBTZ	Zamorano	Zamorano	6	Achaparramiento, clorosis en las hojas, acortamiento de pecíolos

3.4.1 Conservación de muestras

Para los dos métodos utilizados de PCR y ELISA se utilizó el mismo procedimiento de preparación y conservación de las muestras. Cada muestra foliar se cortó en tiras guardándose en papel toalla delicado (Kimwipes®), se envolvieron y se sellaron con cinta adhesiva. Cada muestra se identificó con marcadores de tinta indeleble y se colocó en bolsas plásticas tipo Zip Lock® que contenían sílica gel y se guardaron a 4°C en la refrigeradora, para mantener una baja temperatura y humedad, evitando así la proliferación de hongos y bacterias para disminuir la pérdida de muestras por pudriciones y deterioro.

Con los pecíolos se siguió el mismo procedimiento, con la excepción que no se cortaron, mas bien se dejaron intactos.

3.4.2 Diagnóstico de Papaya Ringspot Virus (PRSV) y Papaya Mosaic Virus (PMV) utilizando el método ELISA ("Enzyme-linked immunosorbent assay").

Las 55 muestras con síntomas característicos fueron recolectadas en los departamentos de Cortés, La Paz, Comayagua y Francisco Morazán.

Para el diagnóstico de las muestras de estas dos enfermedades se utilizaron "kits" de ELISA indirecto de la casa comercial Agdia® (Anexo 3), y se siguió el protocolo standard. Para la visualización de los microplatos se utilizó un lector electrónico, de la marca Bio-Tek instruments® EL 311, con un filtro de 405 nm.

Como complemento, se enviaron 7 muestras, previamente diagnosticadas en el laboratorio de la Carrera de Ciencia y Producción Agropecuaria del Zamorano, al profesor Denis Gonsalves de la Universidad de Cornell.

3.4.3 Diagnóstico molecular de Papaya Bunchy Top (PBT) utilizando PCR

Las 45 muestras que se recolectaron de plantas identificadas con síntomas característicos de la enfermedad, fueron de los departamentos de: Comayagua, La Paz y Francisco Morazán.

Por tratarse de una enfermedad recientemente estudiada, los métodos de extracción no están completamente optimizados. Por esta razón se hicieron algunas modificaciones y comparaciones para optimizar el mejor método para la extracción del ADN.

Se comparó la eficacia de dos protocolos: el protocolo Doyle & Doyle (Anexo 4) y el protocolo utilizado por el Dr. Mike Davis (Anexo 5). Además, se hicieron modificaciones en el protocolo Doyle & Doyle ya que se maceraron también los pecíolos.

Para la comparación se utilizaron tejidos que se conocían sus resultados de antemano, 2 positivos y 2 negativos, y el producto del PCR se corrió en una gel de Agarosa al 1.5%, 70 voltios por 2 horas en un tanque pequeño de tipo horizontal de electroforesis.

El ADN positivo (necesario para la comparación) se extrajo de pecíolos de plantas infectadas con la enfermedad, facilitados por Brian Brunner, de la Universidad de Puerto Rico.

Para el diagnóstico de esta enfermedad se utilizó la técnica de PCR. Se usaron primers específicos, recomendados por el Dr. Mike Davis de la U. de Florida, para el PBT (Genbank Accession U76909) (Davis, et al. 1997) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Primers específicos para el PBT, sintetizados en los laboratorios Life Sciences Inc, en los Estados Unidos.

Forward Primer	3-PBTF	Secuencia (5' a 3')	AAAGGTTCTGATTGGTTAGGTG
Reverse Primer	4-PBTR	Secuencia (3' a 5')	ATCTTTATGCTCTCCAACCTCCTC

Se utilizaron "PCR Beads Ready to Go"™ de la casa comercial Amersham Pharmacia Biotech, Inc. Piscataway, NJ, USA. Cada perla contiene aproximadamente 1.5 unidades de Taq Polimerasa, 1.5 mM de MgCl₂, 10 nM de Tris-HCl (pH 9.0), 50 nM de KCl, 200 μM de cada dideoxinucleótido trifosfato (dNTPs o bases nitrogenadas) y estabilizadores incluyendo albúmina de suero bovino (ASB). Cada perla se disolvió en 24 μl de agua doblemente esterilizada y desionizada, añadiéndoles 0.5 μl de cada primer, obteniendo un volumen final de 25μl. Para aprovechar dos reacciones por cada tubo (y así bajar costos de materiales), esta mezcla se dividió en dos partes iguales de 12.5μl y se añadió 1μl del ADN extraído a las muestras. Para amplificar el ADN, se utilizó un termociclador Perkin Elmer 480® (Norwalk, CT, USA). La amplificación del ADN se realizó bajo las siguientes condiciones:

En total son 40 ciclos de:

1. 94°C por 2 min. fase de desnaturalización
2. 58°C por 1.5 min. fase de ligamento
3. 72°C por 1 min. fase de extensión
4. Extensión final de 72°C por 10 min.

Para visualizar el ADN resultante se usó la técnica de electroforesis utilizando un tanque horizontal, una gel de Agarosa al 1.5 % y una concentración de Bromuro de Etidio al 0.5 µg/ml, con una corriente eléctrica a 70 voltios por 2 horas, proporcionada por una fuente de poder Bio-Rad 1000/500® (Richmond, CA, USA) y se visualizó en un transiluminador ultravioleta UVP® (Upland, CA, USA).

En cada pozuelo en la gel, se colocó 9 µl de marcador molecular, control positivo y un control negativo (mezcla de PCR sin ADN), con 2 µl de buffer de carga.

3.4.4 Diagnóstico de la enfermedad de etiología desconocida.

Debido a que esta es una enfermedad de etiología desconocida, no se sabe cual es el método más apropiado de diagnóstico. Sin embargo, como los síntomas sugieren una infección causada por un virus, un fitoplasma o una bacteria fastidiosa (Papaya Bunchy Top), se descartaron métodos de cultivos convencionales para bacterias y hongos. Se probaron varias técnicas moleculares, serológicas y microscopía electrónica para determinar la etiología del agente causal.

Se recolectaron 7 muestras las que fueron enviadas al laboratorio del Dr. Phil Jones en el "Rothamsted Experimental Station" en Inglaterra. Se diagnosticaron por medio de microscopía electrónica y se tomaron microfotos en blanco y negro.

Para descartar otros posibles patógenos causantes de la enfermedad, se diagnosticaron por medio de PCR (descrito en la sección 3.4.3), utilizando primers para detectar: Papaya Bunchy Top (Cuadro 5.), geminivirus (AV514 y AC1048) y fitoplasmas.

Se utilizó un par de primers universales para detectar fitoplasmas, estos son el P1 y P7 que están basados en una secuencia de ARN ribosomal (rRNA) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Secuencia de nucleotidos para el par de primers universales para el diagnóstico de fitoplasmas (Harrison, 2000).

P1	Secuencia (5' a 3')	AAG AGT TTG ATC CTG GCT AGG ATT
P7	Secuencia (3' a 5')	CGT CCT TCA TCG GCT CTT

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CONTEXTO DE LA PAPAYA

En Honduras la siembra de papaya ha sido dirigida para el consumo local. Se siembra en parcelas de una a dos manzanas, carente de una tecnología apropiada y sin ningún apoyo gubernamental (Turcios, 2000).¹¹ Sin embargo, según Calidoneo (1999)¹² en los últimos años ha existido un pequeño incremento en la siembra del cultivo de la papaya en forma orgánica en la zona de San Pedro Sula, destinando la fruta para procesamiento y obtención de puré, apto para la exportación. Sumando a esto según Miranda (2000),¹³ DICTA está iniciando programas de fomento para la diversificación agrícola y entre los cultivos más importantes está la papaya.

La mayor producción en el ámbito nacional se encuentra en Comayagua (SECPLAN, 1993). La comercialización de la fruta es el mayor obstáculo que tienen los productores y en segundo lugar están los problemas de enfermedades y plagas que han ido aumentando en complejidad y dificultad de manejo. Entre los más importantes están las enfermedades virales y la mosca de la fruta (*Toxotrypana curvicauda* Gerstaecker) Zuniga (2000)¹⁴.

No se tiene información reciente de programas o proyectos de exportación de la fruta fresca, mas bien se tiene información acerca de la importación de la fruta desde Guatemala para venta en supermercados. Esto demuestra la baja productividad y la problemática del mercado de la papaya al interior de Honduras.

4.2 DIAGNÓSTICO RURAL RAPIDO

Se pudo observar que del cultivo de la papaya dependen familias que están compuestas de 5 a 8 miembros. La mayoría de los agricultores (>90%) tienen una educación de 3^{er} a 6^{to} grado y se dedican también a la siembra de granos básicos.

La experiencia de cultivar papaya entre los productores va desde 1 año hasta 10 años. La semilla que utilizan es criolla, y no utilizan ningún tipo de ayuda económica (créditos para producción), ya sea del gobierno o privada.

La venta de la fruta la hacen por medio de intermediarios, convirtiéndose en uno de los problemas más importantes, los canales de comercialización.

En aspectos fitosanitarios los problemas son las enfermedades de tipo viral, seguido por podredumbre de las raíces (*Phytophthora sp.*) y el ataque severo en época seca (verano) de ácaros y mosca de la fruta.

¹¹ Turcios, M. 2000 Situación actual de los productores de papaya en Honduras, SECOP, La Paz Honduras. Comunicación Personal.

¹² Calidoneo, A. 1999 La siembra de papaya orgánica, San Pedro Sula. Comunicación Personal

¹³ Miranda, D. 2000. Proyectos del DICTA. Tegucigalpa, Honduras. Comunicación Personal

¹⁴ Zuniga, A. 2000 Problemática de la papaya en la zona de Comayagua, Departamento de Sanidad vegetal del ministerio de Recursos Naturales, Tegucigalpa Honduras. Comunicación Personal

El 86% de los productores no conocen otros beneficios de la papaya, ya sean medicinales, industrialización y alimenticios.

4.3 DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y SEROLÓGICO

4.3.1 Papaya Ringspot Virus y Papaya Mosaic Virus

Todas las muestras de papaya con síntomas característicos de PRSV y PMV, analizadas con un "Kit" de ELISA para estos virus, dieron resultados negativos, a pesar de que los controles positivos si reaccionaron (Figuras 16 y 17). Hay que tomar en cuenta que los "kits" de ELISA comerciales son muy específicos. Esto dificulta el diagnóstico específico ya que los virus son organismos que mutan fácilmente y hay mucha diferencia entre cepas de virus que provocan la misma enfermedad, pero que tienen diferentes reacciones serológicas.

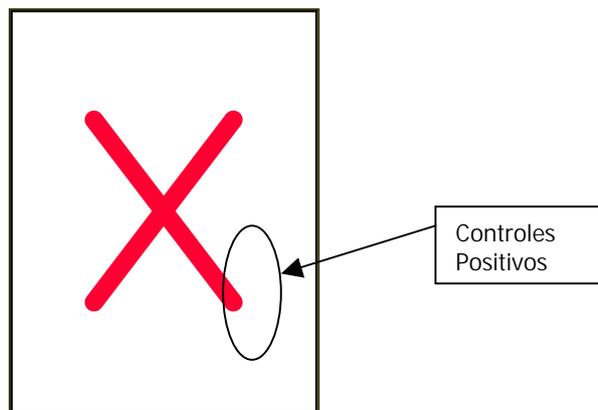


Figura 16. Resultados negativos de ELISA para PRSV.

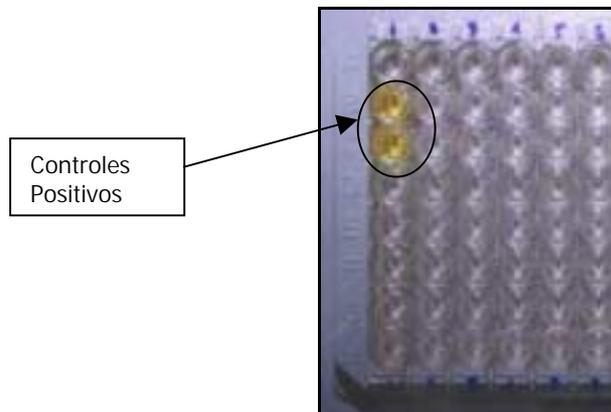


Figura 17. Resultados negativos de ELISA para PMV.

4.3.2 Papaya Bunchy Top

De las 45 muestras diagnosticadas, 7 muestras de la localidad de Flores Comayagua, resultaron positivas para esta enfermedad, con un producto de PCR de 826 kb (Figura 18). Esto sugiere que esta enfermedad se encuentra en Honduras, país donde no se había reportado hasta el momento la presencia de esta enfermedad.

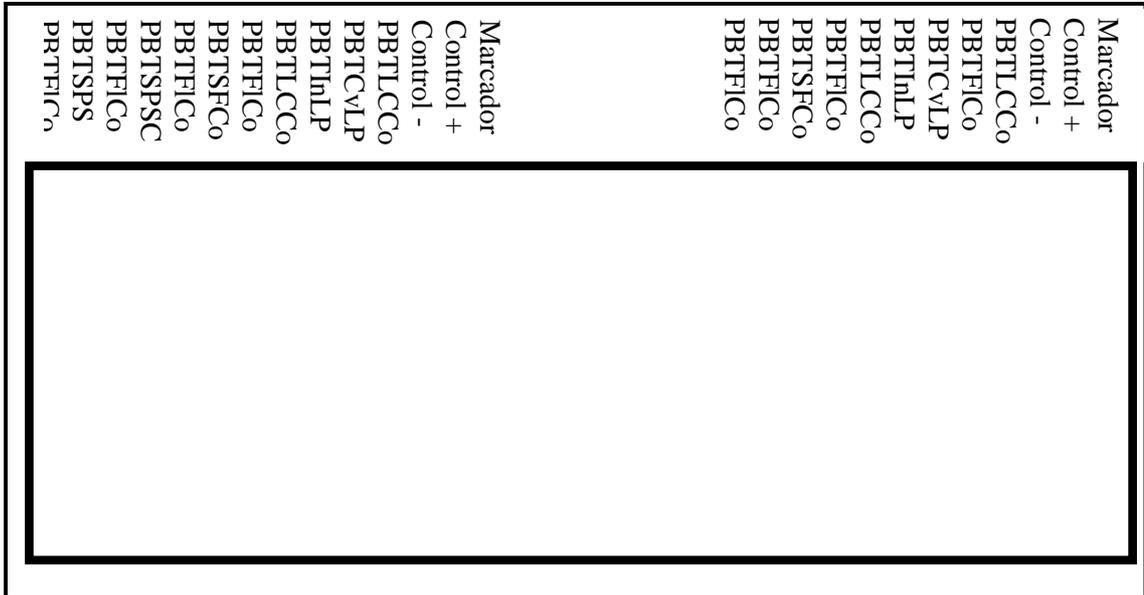


Figura 18. Resultados de PCR para Papaya Bunchy Top en Papaya (primers:PBTF-PBTR). Los códigos utilizados en cada muestra se explican en el cuadro anterior (Cuadro 4)

No existieron diferencias en los resultados utilizando los dos métodos de extracción; esto se puede observar en la gel que se corrió con cuatro muestras de cada método. Se utilizó el nombre de Extracto 1 para el producto obtenido del protocolo Doyle & Doyle y Extracto 2 para el recomendado por el Dr. Mike Davis (Figura 19).

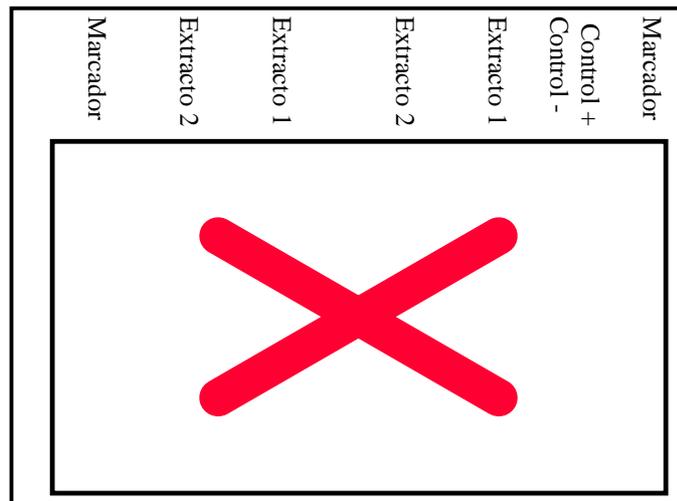


Figura 19. Resultados de PCR para PBT en Papaya utilizando dos métodos diferentes de extracción.

4.3.3 Enfermedad de etiología desconocida

Las pruebas de PCR para PBT, fitoplasma y geminivirus, salieron negativas, los resultados no son sorprendentes con las dos últimas ya que no se ha reportado ninguna enfermedad en la papaya causada por geminivirus ni por fitoplasmas en el continente americano. Solo se ha reportado en Australia donde han llegado a ser una limitante para la producción.

También se realizaron análisis para PBT porque en un principio se asumió que esta enfermedad era "Papaya Bunchy Top". El resultado fue negativo para esta enfermedad. Los síntomas no son similares a los descritos por Brunner (2000), y además si hay fluido de látex. Esta investigación clarifica entonces, la sintomatología del "Papaya Bunchy Top" y su presencia en Honduras, y la etiología, posiblemente viral, de esta nueva enfermedad.

Mediante Microscopía electrónica se identificaron partículas virales filamentosas de forma tubular y alargada del tipo Closterovirus (Figura 20).

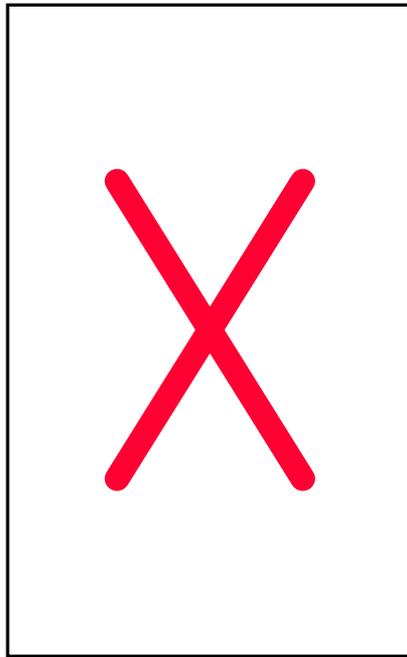


Figura 20. Tamaño 12.04 nm y 190.4 kb. (Foto de Microscopio electrónico)
Fuente: Dr. Phil Jones "Rothamsted Experimental Station"

5 CONCLUSIONES

1. Los principales factores que limitaría el éxito de cultivar papaya para exportación son: i) las enfermedades, entre las cuales se incluyen: el Papaya Ringspot Virus, el Papaya Bunchy Top y la nueva enfermedad mencionada, ii) la comercialización incipiente y sin ayuda estatal y iii) bajo conocimiento técnico de los productores sobre el cultivo y la metodología para exportar.
2. Aunque el nivel de conocimiento y experiencia de los productores acerca del cultivo, mercado y accesibilidad a créditos, para obtener una producción con calidad de exportación es limitado, ellos poseen los recursos agua, tierra y mano de obra necesarios para desarrollar programas de exportación.
3. Las enfermedades inventariadas concuerdan con las reportadas en el continente americano; entre ellas están el Papaya Ringspot Virus, Papaya Mosaic Virus y Papaya Bunchy Top, exceptuando la encontrada en el valle del Yeguaré (Zamorano) y Comayagua, ya que es el primer diagnóstico que se ha realizado.
4. Los resultados obtenidos con el uso de dos tipos de protocolos para extracción fueron interesantes ya que no se encontró diferencia entre el uso del protocolo Doyle & Doyle y el protocolo recomendado por el Dr. M. Davis, que es específico para Papaya Bunchy Top. Se puede concluir que el uso del protocolo Doyle & Doyle es preferible por su rapidez y simplicidad comparado con el protocolo del Dr. M. Davis, y los resultados son los mismos.
5. La guía que se elaboró incluye las plagas y enfermedades más importantes que se presentan en Honduras. Hay que tomar en cuenta que en Honduras no se produce papaya para exportación, y debido a esto, algunas de estas enfermedades pueden pasar desapercibidas y no ser consideradas como críticas. Pero si se considera en una producción para exportación, estas enfermedades podrían pasar a ser críticas y posiblemente sería difícil su control y manejo por no conocerlas.

6 RECOMENDACIONES

1. Para realizar un programa de fomento a la producción de papaya para exportación, ya sea en fruta fresca o procesada, se necesita proyectos de capacitación técnica sobre el manejo integrado del cultivo, de mercadeo y comercialización, uso racional de pesticidas y de poscosecha.

6.1 INVESTIGACIÓN

1. Para trabajos de investigación en la enfermedad de etiología desconocida se recomienda realizar bioensayos utilizando los postulados de Koch junto con vectores como el *Empoasca papayae* o *E. stvensi*. También a través pruebas de transmisión mecánica.
2. Implementar el uso de la prueba de diagnóstico de Cuerpos de Inclusión para enfermedades virales no conocidas, ya que es poco costosa y sencilla en comparación con el uso del microscopio electrónico.
3. Para disminuir costos en el diagnóstico serológico del Papaya Ringspot Virus se recomienda tratar de implementar y estandarizar pruebas serológicas menos costosas económicamente como DIBA ("Dot immunobindig assay").
4. Un seguimiento a la investigación de Papaya Bunchy Top (PBT), en otros departamentos del país en los cuales se cultive papaya.

6.2 PRODUCTORES

1. Se debe trabajar en una forma integrada entre productores y entidades estatales, capacitando a los productores en la identificación de plagas, que limitan la obtención de un producto con calidad de exportación, prevención y control de las mismas por medio de un manejo integrado de plagas.
2. Se recomiendan las siguientes prácticas para la prevención y control de enfermedades causadas por virus y rickettsias:
 - Localizar plantas infectadas (conociendo previamente los síntomas o por diagnóstico de laboratorio) cortarlas, quemarlas y enterrarlas.
 - Limpiar el campo de plantas hospederas de la enfermedad (Cucurbitas, Chenopodaceas y Caricaceas).
 - No sembrar cerca de parcelas que tengan cultivos hospederos de estas enfermedades.
 - Plantaciones en asocio (Plátano o Piña).

7 BIBLIOGRAFÍA

ADRIAN, N., BILLINGS, GLENN, J., TELTOW, SCOTT C., WAVER AND WALKER, D., 1998 Molecular Characterization of a Novel *Rickettsia* Species From *Ixodes scapularis* in Austin Texas.

URL: <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/billings.htm>

AGRIOS, G.N. 1997. Plant Pathology. 4^{da} ed. San Diego, CA. USA. Academic Press 635 p.

ALUJA SCHUNEMAN, M. 1993. Manejo integrado de la mosca de la fruta. Mexico D.F., Mexico. Editorial Trillas 251.

ARRIOLA, M.C. DE; MENCHU, J.F.; ROLZ, C. 1976 Caracterización, manejo y almacenamiento de papaya. Guatemala, Guatemala. P. 40

BARAHONA, M.C.; SANCHO, E.B. *s.f.* Fruticultura Especial. : Fascículo 3, Piña y Papaya. Editorial Universidad Estatal a Distancia.

BERRY, P.A. 1959. Entomología Económica de El Salvador. Boletín técnico No, 24 Ed. por Servicio Cooperativo Agrícola Salvadoreño Americano. Santa Tecla, El Salvador, Talleres de Tipografía La Unión, S.A. p. 255

BREMAN, L.L. 1997. Papaya Mosaic Potexvirus in *Portulaca spp.* Plant Pathology Circular No. 382.

BRUNNER, B. 2000. Descripción e información sobre "Papaya Bunchy Top" Dep. de Horticultura, Universidad de Puerto Rico, Mayagüez, Puerto Rico. (Correspondencia personal.)

BRUNT, A.A.; CRABTREE, K.; DALLWITZ, M.J.; GIBBS, A.J.; WATSON, L.; ZURCHER, E.J; 1996 Dallwitz (1980) and Dallwitz, Paine and Zurcher (1993) `Plant Viruses Online: Descriptions and Lists from the VIDE Database. Version: 16th January 1997.'

URL: <http://biology.anu.edu.au/Groups/MES/vide/>

CASTAÑO-ZAPATA, J; DEL RIO L.M. 1994. Guía para el diagnóstico y control de enfermedades en cultivos de importancia económica. Ed. por H. Barletta. 3era ed. Zamorano, Honduras. Zamorano Academic Press. 289 p.

CHIA, C. L.; NISHINA, M.S.; EVANS, D.O. 1989. Papaya. Commodity Fact Sheet PA-3(A) Fruit. Hawaii Cooperative Extension Service, CTAHR, University of Hawaii. URL: <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/crops/papaya.htm>

CMI/AAB, 1994. Descriptions of Plant Viruses: Papaya Ringspot Virus. No. 292 (No. 84 revisado) Surrey, England.

CONOVER, R.A. 1964. Mild Mosaic and Faint Mottle Ringspot, Two Papaya Virus Diseases of Minor Importance in Florida. Proc. Fla. State Hort Soc. 77:444-448

COUEY, H.M.; ALVARZ, A.M.; NELSON, M.G. 1984. Comparison of Hot-Water Spray and Immersion Treatments for Control of Postharvest Decay of Papaya. Plant disease 68:436-437

DAVIS, M.J., 1993. Papaya Bunchy Top, Mlo, Universidad de Hawaii, Dep. de Extensión Agrícola.

URL: <http://www.Extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/papbunc.htm>

DAVIS, M.J., 1994. Bunchy Top. Paginas 69-70 en: Compendium of Tropical Fruit Diseases. Ploetz, R.C., Zentmeyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrback, K.G. y Ohrs, H.D., Eds American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

DAVIS, M.J.; KRAMER, J.B.; FERWEDA, F.H.; BRUNNER, B.R. 1995 Association of a Bacterium and Not a Phytoplasma with Papaya Bunchy Top Disease. Phytopathology 86:102-109

DAVIS, M.J.; YING, Z.; BRUNNER, B.R.; PANTOJA A.; FERWEDA, F.H. 1997 Rickettsial Relative Associated with Papaya Bunchy Top Disease. Curr Microbiol 33:123-128

DICKMAN, M.B.; ALVAREZ, A.M. 1983. Latent Infection of Papaya Caused by *Colletotricum gloeosporoides*. Plant Disease 67:748-750

_____. M.B, 1994. Paginas 58-59 en: Compendium of Tropical Fruit Diseases. Ploetz, R.C., Zentmeyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrback, K.G. y Ohrs, H.D., Eds American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

EUSEBIO, A.A.; AROMIN, J.D.V.; NARCEO, B.B.; SHYI-DONG, Y. 1994. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Papaya Ringspot Virus in Luzon, Philippines. The Philippine Agriculturist Vol. 77 No. 3, 383-391

FAO, 1997. Agricultural Policy and Economic Development Series: Agricultural and rural development policy in Latin America. Roma, Italia. 57 p.

FAOSTAT, 2000. Estadísticas agrícolas de la FAO URL: <http://www.fao.org>

FITCH, M.M.M.; MANSHARDT, R.M.; GONSALVES, D.; SLIGHTOM, J.L.; SANFORD, J.C. 1992 Virus resistant papaya plants derived from tissues bombarded with the coat protein gene of Papaya Ringspot Virus. Biotechnology Vol. 10:1446

FUNDACION DE DESARROLLO AGROPECUARIO, INC. 1992. Cultivo de Lechosa, Boletín Técnico N°14.

GALINSKY, R; LAWS, N. 1998. World Market for Papaya Market Information Bulletin No. 12 This material provided courtesy of the Asia Regional Agribusiness

Project/Fintrac Inc. (RAP) through the Market Asia web site at www.marketasia.org.
URL: <http://www.marketasia.org/bulletins/market/papaya.html>

GONSALVES, D. 1994. Papaya Ringspot Paginas 67-68 en: Compendium of Tropical Fruit Diseases. Ploetz, R.C., Zentmeyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrbach, K.G. y Ohrs, H.D., Eds American Phytopathological Society, St. Paul, MN

GUZMÁN DÍAZ, G.A. 1998. Guía para el cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.) Sistema Unificado de Información Institucional, San José, Costa Rica: MAG

HANSEN, M.A.; WICK, R.L. 1993. Plant Disease Diagnosis: Present Status and Future Prospects. Ed. por Daniels, M.J., Hamilton, R.I., Ingram, D., Williams, P.H. San Diego, CA, Academic Press Inc. Advances in plant Pathology Vol 10, p. 66-126

HARRISON, B. 2000. Diagnóstico molecular y evaluación de la resistencia de los híbridos MAPAN al Amarillamiento Letal del Cocotero (ALC) en Honduras. Proyecto especial del programa Ingeniero Agrónomo. Zamorano, Honduras. 49 p.

HILL, D.S.; WALLER, J.M. 1988. Pests and Diseases of Tropical Crops Vol. 2 London UK, Editorial Longman Scientific & Technical 431p.

IBAR, L. 1979. Cultivo del Aguacate Chirimoyo Mango Papaya. Barcelona, España. Editorial AEDOS. p. 173.

ICA, 1987. Guía para el control de plagas. Manual de Asistencia Técnica No 1. Bogotá, Colombia.

JIMENEZ, S.J.; DELGADO, M.A. *s.f.* Evaluación de la efectividad del control químico en el combate de insectos vectores de enfermedades de la frutabomba (*Carica papaya* Linneo) La Habana, Cuba.

KO, W.-H. 1994. Phytophthora Fruit Rot an Root Rot. Paginas 61-62 en: Compendium of Tropical Fruit Diseases. Ploetz, R.C., Zentmeyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrbach, K.G. y Ohrs, H.D., Eds American Phytopathological Society, St. Paul, MN

LASTRA, R; QUINTERO, E. 1981. Papaya Apical Necrosis, A New Disease Associated with a Rhabdovirus. Plant disease 65:439-440

SECRETARIA DE EDUCACIÓN PÚBLICA, MEXICO, 1997. Elaboración de frutas y verduras 2^{da} ed. 1984, Sexta reimpresión 1997, Estados Unidos Mexicanos, Mexico D.F. Editorial Trillas. 115 p.

MORTON, J 1987 Papaya Fruits of Warm Climates p. 336-346. Miami Fl USA.
URL: http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/papaya_ars.html

NISHIJIMA, W.T. 1994. 58-58 en: Compendium of Tropical Fruit Diseases. Ploetz, R.C., Zentmeyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrbach, K.G. y Ohrs, H.D., Eds American Phytopathological Society, St. Paul, MN

- PEREIRA DE ARAÚJO, J. 1987. Reunión Técnica de la Red Latinoamericana de Agroindustria de Frutas Tropicales: Producción, Manejo y Exportación de Frutas Tropicales. Bogotá, Colombia, Editorial Presencia Ltda. P. 264
- PLOETZ, R.C. 1994. Anthracnose. Paginas 35 en: Compendium of Tropical Fruit Diseases. Ploetz, R.C., Zentmeyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrback, K.G. y Ohrs, H.D., Eds American Phytopathological Society, St. Paul, MN.
- PURCIFULL, D.E.; HIEBERT, E. 1971. Descriptions of plant viruses: Papaya mosaic virus. CMI/AAB, Gainsville, Fl. Estados Unidos. P. 6
- RODRIGUEZ ESTRADA, C. ¿1999? Diagnóstico de producción, consumo y comercialización de hortalizas en Honduras. Honduras. REDCAHOR/IICA. s.n.t. 74 p.
- SECPLAN, 1993. Censo Nacional Agropecuario: Cultivos permanentes Tomo IV Tegucigalpa Honduras p. 228.
- SELMAN, L.H. 1998. Tropical Fruit Fly. Universtiy of Florida http://www.ifas.ufl.edu/~insect/fruit/tropical/papaya_fruit_fly.htm
- STORY, G.E. y HALIWELL, R.S. 1969, Association of a Mycoplasma-Like Organism with the Bunchy Top Disease of Papaya *Phytopathology* 59:1336-1337
- TRUJILLO PINTO, G.; VEGAS, A.; TRUJILLO R.; RANGEL, B. 1989 Lechosero ajicero (*Saltator coerulecens*) relacionado con la transmisión del virus de la mancha anillada y distorsionante de la lechosa (DRSV) *Rev. Fac. Agron. (Maracay)*, 15: 85-92. 1989.
URL: http://www.redpav.fpolar.info.ve/agrotrop/v35_1-3/
- TRUJILLO PINTO G.; VEGAS, A.; MONTEVERDE, E. 1989. Control del virus de la mancha anillada y distorsionante de la lechosa (DRSV) mediante aspersiones con aceite blanco *Rev. Fac. Agron. (Maracay)*, 15: 141-156. 1989.
URL: <http://www.redpav.fpolar.info.ve/agrotrop/>
- THRUPP, L.A. 1994. Cultivos nuevos, dilemas viejos: oportunidades y retos en la agroexportación no tradicional en latinoamérica, *NACLA Report on the Americas*.
URL: <http://www.rimisp.cl/publicaciones/electronicas/encuentro/pub2/>
- UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO (UPR) 1987 Conjunto Tecnológico para la Producción de Papaya Río Piedras Mayagüez, Puerto Rico p 4-9
- VEGAS, A.; GONZALES, A.; TRUJILLO, G.; PINO, I.; TOVAR, R. 1999 Bioprotección como parte del Manejo Agronómico del Lechoso con Relación al Virus de la Mancha Anillada de la Lechosa (PRSV-P) en Venezuela. Centro Nacional de Investigación Agropecuaria. Maracay, Venezuela
URL: <http://zeus.ivic.ve/biotec/BTA49.htm>
- WAN, S.-H.; CONOVER, R. 1981. A Rhabdovirus Associated whit a New Disease of Florida Papayas. *Proc. Fla. State. Hort.Soc.* 94:318-321

WAN, S.-H.; CONOVER, R. 1983. Incidence and Distribution of Papaya Viruses in Southern Florida. *Plant Disease* 67:353-356

WOLFENBARGER, D.O.; WALKER, S.D. 1974. Two Major Pest Problems of Papayas. *Fla, State Hort. Soc.* --:384-385

YEH, S.-D.GONSALVES, D.; PROVVIDENTI, R. 1984. Comparative Studies on Host Range and Serology of Papaya Ringspot Virus and Watermelon Mosaic Virus. *Phytopathology* 74:1081-1085

ZETTLER, F.W.; WAN, S.-H. 1994. Papaya Necrosis Virus Paginas 66-67 en: *Compendium of Tropical Fruit Diseases*. Ploetz, R.C., Zentmeyer, G.A., Nishijima, W.T., Rohrback, K.G. y Ohrs, H.D., Eds American Phytopathological Society, St. Paul, MN.

8 ANEXOS

Anexo 1. Descripción de síntomas encontrados por Bryan Brunner:

Anexo 2. Encuesta para productores

**Caracterización del cultivo de la papaya y su valoración.
Encuesta a productores.**

Fecha: _____

Municipio: _____

Comunidad: _____

Departamento: _____

I) Factores Socioeconómicos:

Nombre del productor: _____

Nombre del Socio: _____

No. familiares: _____

No. familiares: _____

Educación: _____

Educación: _____

Cantidad de tierra para papaya: _____

Tiempo de sembrar papaya: _____

Cantidad de tierra total: _____

Tiempo de sembrar otros cultivos: _____

Que otros cultivos siembra o sembraba: _____

II) Percepción del cultivo de la papaya:

**1) ¿Qué beneficios conoce de la papaya?
papaya?**

Alimenticio

Medicinal

Industrial

Otros

2) ¿Razón que tiene para cultivar

Precio

Facilidad de siembra

Sugerencia de otra persona

Cree que es bueno

Mercado

Tiempo a cosecha

Experiencia

No tiene otra alternativa

3) ¿Como mira la plaza de la papaya?

Mejorar

Empeorar

Mantenerse

4) ¿Tiene ayuda económica?

Gobierno

Privada

Cooperativas

Prestamistas

¿Porqué? _____

¿Tasa de Interes?: _____

5) ¿Tuvo o tiene asistencia técnica?

SI

Gobierno

Privada

NO

III) Económico.-

Costos.-

Precio de la tierra

Costo Jornales

Costo insumos

Costo Semillero

Ingresos:

Precio Unidad papaya:

Otros:

IV) Técnico.-

Preparación del terreno

Maquinaria

Alquilada

Propia

Animal

Alquilado
 Propio
 Manual
 Solo
 Familiares
 Contrato
 ¿Cuántos días antes de la siembra?: _____
 Semilla
 Fuente de la semilla
 Propia
 Certificada
 Tratamiento a la semilla: Si__ No__
 (Si) ¿Cuál?: _____
 Variedad usada
 Criolla
 Hawaiiiana
 Maradol
 Otra: _____

Siembra:

Distanciamiento:
 .0 m x .0 m

Riego:

Frecuencia: _____
 Problemas de abastecimiento
 Si No

Tiempo que explota el cultivo:

Meses desde iniciar la primera cosecha:

Fertilización

Análisis de suelo: Si__ No__

Fertilizante(s) que usa

Urea

¿Cuánto?: ____qq

Otros: _____

V) Fitosanitario.-

Plagas presentes

Virus

Insectos

Hongos

Nemátodos

Otros: _____

¿Cuál considera Ud. más importante?

Virus

Insectos

Hongos

Nemátodos

Otros: _____

VI) Cosecha.-

Manual

Herramienta (Navaja)

Post-cosecha

Descripción de
 tratamiento: _____

¿Qué considera lo más importante? (Observaciones)

Anexo 3. Protocolo de la prueba de ELISA indirecta proporcionado por AGDIA ®

PATHOSCREEN KIT AGDIA

ELISA INDIRECTA

1. PREPARÁNDOSE PARA LA PRUEBA

- Diluya los buffer concentrados proveídos con el kit a su dilución de trabajo (1X) con agua destilada. Prepare buffer 1X para un día.
- Usando un marcador permanente, numere las franjas en caso de que una se separe del marco.
- Doble un papel toalla para acoplarse dentro de una caja plástica hermética. Ponga el papel toalla doblado en el fondo de la caja, luego agregue suficiente agua para mojar el papel toalla. Mantener el plato en esta caja húmeda durante los pasos de incubación ayudara a prevenir la evaporación de las muestras húmedas.

2. DIAGRAMA DE PROCESAMIENTO

Haga una copia del diagrama y registre la localización de sus muestras y controles. Es recomendable que se use una celda de buffer y una de control positivo en cada plato, cada vez que se procese muestras.

3. MUESTRAS MACERADAS Y DILUIDAS

- Cuando sea posible seleccione tejidos que muestren síntomas para la prueba. Remueva cualquier residuo de suelo del tejido a ser probado.
- NOTA: contaminación con suelo puede interferir con los resultados
- Puede usarse mortero y pistilo que permita macerar las muestras. Si está usando un mortero y un pistilo lávelo y enjuáguelo exhaustivamente entre muestras.
 - Cuando se haya extraído la savia de la planta dilúyalo en buffer de extracción de muestras indirecto con una proporción de 1:10 (volumen de savia:volumen de buffer).

POTYVIRUS:

Se puede macerar el tejido de la planta en buffer de extracción de muestras indirecta con una concentración 1:10 (peso del tejido:volumen de buffer). Si se está probando potyvirus transmitidos por áfidos usando el número de sistema 20200, macerar con una concentración de 1:100; si es Asparagus virus 2, usando número de sistema 71000, macere a una concentración 1:200.

Se necesitara cerca de 100ul de extracto de muestra diluida por celda, más una cantidad adicional para asegurar su fácil repartición. Una manera conveniente para preparara esta muestra diluida es medir 100 ul de savia no diluida en un pequeño tubo de prueba, luego añadir 1 ml de buffer de extracción de muestras indirecta.

4. REPARTICIÓN DE MUESTRAS

- Siguiendo el diagrama, se debe repartir 100 ul de la muestra preparada en las celdas. Coloque 100 ul de control positivo en su celda correspondiente y 100 ul de buffer de extracción en la suya.

5. INCUBAR PLATO

- Ponga el plato en la caja húmeda e incube por 1 hora.

6. PREPARAR EL ANTICUERPO

- Unos pocos minutos antes de que se complete la incubación, prepare el anticuerpo usando buffer ECI 1X y la ampolla de anticuerpo.
- Primero, coloque buffer ECI 1X, luego el anticuerpo de acuerdo a la dilución dada en la etiqueta.
- El volumen de buffer ECI 1X requerido depende del número de celdas a usar, con 100 ul requeridos por celda. Para estimar el volumen necesario prepare 1 ml por cada 8 celdas a usar o 10 ml por el plato de 96 celdas.
- Se debe calcular el volumen de anticuerpo requerido basado en el volumen del buffer ECI 1X usado y en las diluciones dadas en las botella. Use una nueva punta estéril de pipeta por cada botella para prevenir contaminación.
- Luego de añadir el anticuerpo, mezclar bien.
- Coloque el anticuerpo preparado a un lado. Se le necesitará luego de lavar el plato.

7. LAVAR EL PLATO

- Cuando la incubación de la muestra se ha completado, lave el plato. Mientras se sostienen los lados largos del marco para mantener las franjas en su lugar, usar un movimiento de sacudida rápida para arrojar las celdas en un fregadero o en un contenedor de residuos, sin mezclar los contenidos.
- Llene hasta el tope las celdas con PBST 1X, vacíelas nuevamente. Repetir de 4 a 8 veces.
- Luego de lavar, mantener el marco boca abajo y golpearlo firmemente contra un papel toalla doblado para secar las celdas.

8. AÑADIR ANTICUERPO

- Añada 100 ul de anticuerpo preparado por celda.

9. INCUBAR PLATO

- Poner el plato dentro de la caja húmeda por 2 horas a temperatura ambiente o toda la noche en refrigeración a 4°C

10. PREPARAR CONJUGADO DE ENZIMA

- Pocos minutos antes de que se complete la incubación, prepare conjugado de enzima usando buffer ECI 1X y la ampolla de enzima conjugada.
- Primero, coloque el buffer y luego añada el conjugado de la enzima de acuerdo a la dilución dada en la etiqueta.
- Prepare el mismo volumen de enzima conjugada como de anticuerpo.
- Calcular el volumen requerido de conjugado basado en el volumen de buffer ECI 1X y en las diluciones dadas en la botella. Use una nueva punta por cada botella para prevenir contaminación.
- Después de añadir el conjugado de la enzima, mezcle bien.
- Ponga el preparado de enzima a un lado, lo necesitará después de lavar el plato.

NOTA: Siempre prepare el conjugado de enzima entre los 10 minutos antes de su uso.

11. LAVAR PLATO

- Como antes, lave el plato 4 a 8 veces PBST 1X.

12. AÑADIR ENZIMA CONJUGADA

- Coloque 100 ul de preparado de conjugado de enzima por celda.

13. INCUBAR PLATO

- Incubar el plato por 1 hora a temperatura ambiente.

14. PREPARAR SOLUCIÓN PNP

- Cada tableta PNP hará una solución PNP, a una concentración de 1mg/ml, suficiente para 5 franjas de 8 celdas.
- Aproximadamente 15 min antes del final de la incubación, medir 5 ml de buffer PNP 1 X a temperatura ambiente por cada tableta que se use. Luego, sin tocar las tabletas, agregue las tabletas PNP al buffer.

NOTA: No tocar las tabletas PNP o exponer la solución PNP a luz fuerte. Luz o contaminación puede causar color de fondo en celdas negativas.

15. LAVAR PLATO

- Como antes, lavar plato 4 a 8 veces con PBST 1X

16. AÑADIR SOLUCION PNP

- Colocar 100 ul de solución PNP 1X por celda.

17. INCUBAR REACCION

- Incubar el plato por 30-60 minutos en una caja húmeda

18. PARAR REACCION

- Añada 50 ul de NaOH 3M a cada celda. Este paso es opcional. Al añadir NaOH detiene el desarrollo de color, pero el plato puede ser interpretado visualmente o con un lector de plato sin este paso.

19. EVALUAR RESULTADOS

- Examine las celdas al ojo o mida en un lector de plato a 405 nm.
- Celdas en las que hay desarrollo de color, indican resultado positivo.
- Los resultados de prueba son validos solo si en el control positivo da un resultado positivo y el buffer se mantiene claro.
- Los resultados deberán ser interpretados después de 60 min. de incubación mientras las celdas negativas se mantengan claras.

Anexo 4. Protocolo de Extracción de ADN total (Planta y Patógeno), modificación de Doyle and Doyle (1990), FOCUS 12 (1): 13 -15. Extracción Miniprep de ADN

1. Anotar la información de la muestra.
2. Pesar 0.01 g de tejido de la planta y anotar su peso en el libro. Seleccionar el crecimiento de nuevas hojas cuando sea posible. Las muestras en glicerol pueden remojarse en agua por 5 min. antes de macerar.
3. Macerar el tejido en un mortero con aproximadamente 5-10 mg de alumina. Moler el tejido completamente, pero con cuidado de no dejar que el tejido se derrita. Alternativamente, se puede moler adicionando 100µl de CTAB a 65°C con la arena (o una relación tejido:buffer de 1:3-5).
4. Mezclar bien y transferir con una micropipeta a un tubo microcentrífuga (1.5 ml)
5. Adicionar 1 volumen (300µl) de cloroformo:alcohol isoamílico (24:1), e invertir para mezclar.
6. Centrifugar a 12000 rpm por 10 min. para separar las fases.
7. Remover y transferir con micropipeta la fase superior acuosa a un nuevo tubo microcentrífuga. Descartar la capa orgánica de cloroformo en un recipiente.
8. Adicionar 2/3 partes de volumen de isopropanol frío (almacenado en el freezer), cubrir con parafilm e invertir suavemente para mezclar (precipita los ácidos nucleicos). Incubar a temperatura ambiente por toda la noche.
9. Centrifugar a 12000 rpm por 10 min. (4°C). Cuidadosamente decantar el sobrenadante (el sedimento puede estar disuelto). Pipetear cualquier líquido remanente con micropipeta.
10. Adicionar 100µl de buffer frío de lavado directamente al sedimento (sustituye la sal de CTAB con sal de amonio), mezclar e incubar por 20 min. a temperatura ambiente.
11. Centrifugar a 12000 rpm por 5 min. (4°C)
Nota: Si la muestra se observa sucia, se puede repetir el paso 10 al 11
12. Decantar el sobrenadante y colocar los tubos en un a incubadora a 37°C por 30-60 min., o dejar secar en una cámara de flujo laminar por 30 min.
13. Resuspender el sedimento en 50µl de agua destilada estéril. Almacenar a 4°C

Anexo 5. Extracción de sabia para diagnóstico de PBT

1. Extraer 2µl de sabia de la base del pecíolo (Prensar con alicate la base del pecíolo)
2. Mezclar con 22.7µl de TAE
3. Cubrir la mezcla con 10µl de aceite mineral (Hacerle un "Spin")
4. Incubar la mezcla a 94°C durante 10 min.
Dejar enfriar a temperatura ambiente
5. Agregar 25.3µl de reacción de PCR a 4°C (Realizar un "Spin")