

Vasconcellea cauliflora resistance to *Papaya ringspot potyvirus* (PRSV-P) and its introgression in *Carica papaya*

Resistencia de *Vasconcellea cauliflora* al *Virus de la mancha anular de la papaya-potyvirus* (PRSV-P) y su introgresión en *Carica papaya*

Daniela Ordaz-Pérez, Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas, Blvd. Príncipe Akishino s/n colonia Solidaridad 2000, Tapachula, Chiapas, C.P. 30798, México; **Josué Gámez-Vázquez**, Campo Experimental Bajío-INIFAP, Km 6.5 carretera Celaya a San Miguel de Allende, Celaya, Guanajuato, C.P. 38010, México; **Jesús Hernández-Ruiz**, **Edgar Espinosa-Trujillo***, Universidad de Guanajuato, División de Ciencias de la Vida, Km 9 carretera Irapuato-Silao, ExHda. El Copal, Irapuato, Guanajuato, C.P. 36500, México; **Patricia Rivas-Valencia**, Campo Experimental Valle de México-INIFAP, Km. 13.5 carretera Los Reyes-Texcoco, Coatlinchán, Texcoco Estado de México, C.P. 56250, México; **Ivonne Castro-Montes**, Investigador independiente. *Autor para correspondencia: e.espinosa@ugto.mx.

Recibido: 16 de Marzo, 2017.

Aceptado: 27 de Julio, 2017.

Ordaz-Pérez D, Gámez-Vázquez J, Hernández-Ruiz J, Espinosa-Trujillo E, Rivas-Valencia P, Castro-Montes I. 2017. *Vasconcellea cauliflora* resistance to *Papaya ringspot potyvirus* (PRSV-P) and its introgression in *Carica papaya*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(3): 571-590.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.1703-4

Primera publicación DOI: 30 de Agosto, 2017.

First DOI publication: August 30, 2017.

Resumen. El cultivo de papaya (*Carica papaya* L.) posee gran importancia económica, la cual es afectada por enfermedades causadas por virus, principalmente transmitidas por áfidos vectores. Aunque las prácticas convencionales de control de vectores parecen mantener al margen la propagación del virus, no es suficiente para evitar pérdidas en la producción. Existen desarrollos de la ingeniería genética que permiten obtener plantas resistentes

Abstract. Papaya is a crop of major economic importance, but it is threatened by the presence of viral diseases that are mainly transmitted by vector insects. Although conventional pest control practices seem to keep out the spread of the virus, it is not enough to avoid production losses. There are some molecular tools from genetic engineering to obtain disease resistant plants with potential to solve the problem. This review is an information compilation about the problem caused by virus with more impact on papaya production: *Papaya ringspot potyvirus* (PRSV-P) and *Papaya mosaic virus* (PapMV), their genetic variability and some strategies used to develop disease resistant hybrids resulting from the recombination between *Vasconcellea* genus and *Carica papaya* commercial varieties.

Key words: Intergeneric hybrids, viruses, genetic improvement.

a las enfermedades virales. En la presente revisión, se aborda la problemática asociada a los virus con mayor impacto para el cultivo de la papaya: *Papaya ringspot potyvirus* (PRSV-P) y el *Papaya mosaic virus* (PapMV), su variabilidad genética y las estrategias de mejoramiento genético que han permitido la generación de poblaciones resistentes a través de la recombinación de especies del género *Vasconcellea* con variedades comerciales de *Carica papaya*.

Palabras clave: Híbridos intergenéricos, virus, mejoramiento genético.

La familia Caricaceae se divide en seis grupos constituidos por 35 especies, distribuidos ampliamente en el mundo. En África tropical se encuentran dos especies del género *Cylicomorpha*, en América Central se encuentran los géneros endémicos *Horovitzia* y *Jarilla*, además de *Jacaratia* y *Vasconcellea* que se encuentran en América del Sur (Antunes y Renner, 2014). La especie *Carica papaya* silvestre se encuentra extendida en bosques tropicales que van de México hasta Costa Rica (Chávez-Pesqueira *et al.*, 2014). La versión hermafrodita de *C. papaya* cultivada es producto de la domesticación por grupos étnicos de México, presumiblemente los mayas (VanBuren *et al.*, 2015).

Por lo anterior, se considera a los países de América Central y del Sur como centros de diversidad genética y biológica de la papaya e idóneos para la producción comercial del cultivo. Sin embargo, en México la papaya enfrenta varios problemas fitopatológicos de relevancia. Las enfermedades virales, transmitidas por insectos vectores, ocasionan pérdidas hasta del 90% de la plantación; es decir, hay merma en la densidad de plantas (Mora *et al.*, 1992).

The family Caricaceae is classified in six groups formed by 35 species widely distributed worldwide. Two species of the *Cylicomorpha* genus are in tropical Africa, while the endemic *Horovitzia* and *Jarilla* genera prevail in Central America, and *Jacaratia* and *Vasconcellea*, in South America (Antunes and Renner, 2014). *Carica papaya* wild species are widely distributed in tropical forests from Mexico up to Costa Rica (Chávez-Pesqueira *et al.*, 2014). The hermaphrodite version of *C. papaya* currently sown is the result of domestication by Mexican ethnic groups, presumably the Mayas (VanBuren *et al.*, 2015).

For this reason, Central and South American countries are considered the centers of genetic and biological diversity and suitable for papaya commercial production. However, in Mexico, papaya production is affected by major relevant phytopathological problems such as viral diseases caused by vector insects resulting in losses of 90% in plantations, i.e., reductions in plant density (Mora *et al.*, 1992).

At least 12 viruses are reported worldwide that pose a threat to papaya production: *Papaya ringspot virus* (PRSV-P), *Papaya leaf distortion mosaic virus* (PLDMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Papaya mosaic virus* (PapMV), *Papaya leaf curl virus* (PaLCV), *Chilli leaf curl virus* (ChiLCuV), *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV), *Croton yellow vein mosaic virus* (CYVMV), *Papaya droopy necrosis virus* (PDNV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Papaya lethal yellowing virus* (PLYV) and *Papaya meleira virus* (PMeV) (Mishra *et al.*, 2015).

From these viruses, those of major importance in Mexico are PRSV-P, PapMV and PMeV, which are a problem because of the economic losses they cause (Silva-Rosales *et al.*, 2010; Rivas-Valencia *et al.*, 2008). Infections produced by those viruses

En el mundo se reportan, al menos, 12 virus que representan una amenaza para la producción de fruta de papaya: *Papaya ringspot virus* (PRSV-P), *Papaya leaf distortion mosaic virus* (PLDMV), *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV), *Papaya mosaic virus* (PapMV), *Papaya leaf curl virus* (PaLCV), *Chilli leaf curl virus* (ChiLCuV), *Tomato leaf curl New Delhi virus* (ToLCNDV), *Croton yellow vein mosaic virus* (CYVMV), *Papaya droopy necrosis virus* (PDNV), *Tomato spotted wilt virus* (TSWV), *Papaya lethal yellowing virus* (PLYV) y *Papaya meleira virus* (PMeV) (Mishra *et al.*, 2015).

De ellos, los de mayor importancia en México son el PRSV-P, PapMV y PMeV, los cuales representan un problema por las pérdidas económicas causadas (Silva-Rosales *et al.*, 2010; Rivas-Valencia *et al.*, 2008). Esto por efecto de reducción del rendimiento de fruta por hectárea, lo cual reduce el ingreso neto por hectárea hasta 275% (Yorobe, 2009). El mayor impacto en la producción de papaya se debe, principalmente, a que ninguna de las variedades comerciales presenta resistencia genética al PRSV-P y al PMeV (Abreu *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2005); sin embargo, se ha reportado que algunas variedades no comerciales presentan bajos niveles de susceptibilidad (Rodríguez *et al.*, 2013).

El PRSV-P es uno de los virus que provoca mayor daño en la productividad de papaya, que alcanza valores superiores al 70% (Tennant *et al.*, 2007); en contraste, los efectos del PapMV no son tan agresivos. De forma natural la papaya hospeda ambos virus al mismo tiempo (Noa-Carranza *et al.*, 2006), por lo cual pueden presentarse dos eventos: 1) Sinergismo, infección primaria por el PRSV-P y posteriormente la infección del virus PapMV, 2) Antagonismo, que se desarrolla con la primera infección de PapMV y posteriormente por PRSV-P, lo que sugiere que PapMV activa la respuesta de defensa en cascada en la planta infectada (Chávez-Calvillo *et al.*, 2016).

reduce fruit yield per hectare that in turn reduces up to 275% the net income per hectare (Yorobe, 2009). The highest impact on papaya production is mainly due to the fact that none of the commercial varieties has genetic resistance to PRSV-P or PMeV (Abreu *et al.*, 2014; Singh *et al.*, 2005). However, some non-commercial varieties have been reported to have low levels of susceptibility (Rodríguez *et al.*, 2013).

PRSV-P is one of the viruses causing the greatest damage to papaya productivity with values higher than 70% (Tennant *et al.*, 2007); in contrast, the effects of PapMV are not so aggressive. Papaya naturally hosts both virus at the same time (Noa-Carranza *et al.*, 2006), and for this reason two events may take place: 1) Synergism, which is the primary PRSV-P infection followed by PapMV infection; 2) Antagonism, that results from the first PapMV infection followed by PRSV-P infection, which suggests that PapMV activates a cascade pathway in defense response in the infected plant (Chávez-Calvillo *et al.*, 2016).

An alternative for developing genetic resistance to PRSV-P is to genetically transform somatic embryos obtained *in vitro* (or any other explant) using *Agrobacterium* (strain C58-Z707) or particle pumping. The gene transferred to papaya is the one encoding the capsid protein of a specific virus isolate. However, if the transgene is built with the sequence of a local virus, there is a relatively high probability that the transgenic plants do not develop resistance to viruses from other geographical origin (Mishra *et al.*, 2015). Two transgenic varieties of papaya of the Solo morphotype are currently available in the international market (Rainbow and SunUp) (Mishra *et al.*, 2015) that are characterized by being small fruits weighing from 300 to 600 g; they were modified using the PRSV-P HA 5-1 strain originally from Hawaii (Gonsalves, 2006).

As an additional alternative, 31 varieties of *C. papaya* (primary genetic pool) were evaluated to

Una de las alternativas para generar resistencia genética al virus PRSV-P es la transformación genética de embriones somáticos obtenidos *in vitro*, o de algún otro explante, por medio de *Agrobacterium* (cepa C58-Z707) o con el bombeo de partículas. El gen transferido a la papaya es el que codifica la proteína de la cápside de un aislamiento viral determinado; sin embargo, si el transgen es construido con la secuencia de un virus local, entonces se genera una probabilidad relativamente alta de que las plantas transgénicas no sean resistentes a los virus de otro origen geográfico (Mishra *et al.*, 2015). Actualmente están disponibles en el mercado internacional dos variedades transgénicas (Rainbow y SunUp) de frutos del morfotipo Solo (Mishra *et al.*, 2015), las cuales se caracterizan por ser de fruto pequeño con peso de 300 a 600 g, y fueron modificadas utilizando el gen del PRSV-P cepa HA 5-1 originaria de Hawaii (Gonsalves, 2006).

Como otra alternativa, se han evaluado 31 variedades de *C. papaya* (acervo genético primario) en búsqueda de resistencia genética, pero solo se ha identificado tolerancia en la variedad Califlora (Roff, 2007). Por tal razón se ha identificado la resistencia genética al PRSV-P, en la especie *Vasconcellea cauliflora* (acervo genético secundario) para posteriormente introducirla (introgresión) a los materiales del *C. papaya*, mediante técnicas de mejoramiento convencionales (Yanthan *et al.*, 2017).

Toda vez que en México está prohibido el establecimiento de papaya transgénica (NOM-056-FITO-1995), la presente revisión aborda el avance del conocimiento en la introgresión de la resistencia genética a virus PRSV-P, a partir de algunas especies del género *Vasconcellea*, mediante su recombinación con *C. papaya*, como alternativa para generar resistencia genética.

Diversidad genética viral

El PRSV pertenece al género *Potyvirus*, familia Potyviridae. Estos virus son transmitidos por semilla,

find genetic resistance, but only tolerance was found in the Califlora variety (Roff, 2007). For this reason, genetic resistance to PRSV-P was identified in *Vasconcellea cauliflora* species (secondary genetic pool) that was later introduced (introgression) in *C. papaya* materials using conventional improvement techniques (Yanthan *et al.*, 2017).

Given that in Mexico the establishment of transgenic papaya is banned (NOM-056-FITO-1995), this review is intended to update progress on introgression of resistance to the PRSV-P, virus from some species of the *Vasconcellea* genus by recombining them with *C. papaya*, as an alternative for developing genetic resistance.

Viral genetic diversity

PRSV belongs to the genus *Potyvirus*, family Potyviridae. These viruses are transmitted by seed, mechanical means and over 25 aphid species in a non-persistent way, a distinctive feature of the group. There are two biotypes: “P” that infects papaya and “W” that damages some members of the cucurbit family, such as watermelon (*Citrullus lanatus*) and melon varieties (*Cucumis melon*) (Tripathi *et al.*, 2008).

The genetic variability of PRSV-P is as wide as the diversity of ecological niches where papaya is grown. According to Bateson *et al.* (2002), there is 12% of variability in the nucleotidic sequence among geographic regions such as Asia, Australia and North America. It has also been suggested that it first appeared in Asia from where it spread to the rest of the world.

In Mexico, PRSV-P was first reported in the state of Veracruz in 1964. So far, five genetic groups have been reported to be distributed across the Pacific coast, the Gulf coast, Cotaxtla regions (Veracruz), the Yucatán peninsula and the western Pacific coast (Noa-Carranza *et al.*, 2006). Within this diversity, two isolates from Veracruz and one from Chiapas are highly correlated with isolates from North

de forma mecánica y por más de 25 especies de áfidos de forma no persistente, lo que constituye una característica distintiva del grupo. Existen dos biotipos: el “P” que infecta a la papaya y el “W” que ataca a cucurbitáceas como la sandía (*Citrus lanatus*) y a las variedades del Melón (*Cucumis melon*) (Tripathi *et al.*, 2008).

La variabilidad genética del PRSV-P es tan amplia como la diversidad de los nichos ecológicos en donde se cultiva la papaya. De acuerdo con Bateson *et al.* (2002), existe variabilidad en la secuencia nucleotídica del 12% entre regiones geográficas, tales como Asia, Australia y América del Norte. Además, se ha propuesto que Asia es su centro de origen y de ahí se propagó al resto del mundo.

En México, el primer informe de la presencia del PRSV-P fue registrado en Veracruz en 1964. Actualmente se reportan cinco grupos genéticos que se distribuyen en la costa del Pacífico, la costa del Golfo, regiones de Cotaxtla (Veracruz), la península de Yucatán y la costa occidental del Pacífico (Noa-Carranza *et al.*, 2006). Dentro de esa diversidad, dos aislamientos de Veracruz y una de Chiapas están fuertemente correlacionadas con aislamientos de América del Norte y Australia; a la vez, todos estos aislamientos son genéticamente diferentes a los de China, Taiwán, Vietnam e India (Silva-Rosales *et al.*, 2000).

Se han secuenciado 22 genomas completos del PRSV-P procedentes de varios países, y los análisis filogenéticos revelan que los aislamientos se agrupan en función de su país de origen; de esta forma Taiwán, China, Tailandia e India integran un grupo, y un segundo grupo se conforma por los aislamientos del continente americano (Brasil, México, Estados Unidos) (Mishra *et al.*, 2015). En contraposición, los análisis de nucleótidos de los genes de proteína de la cápside de muestras virales colectadas en Cuba (7 muestras) y Brasil (21 muestras), indicaron que la distancia genética entre ellas varió de 0% a 9.2%. Los análisis dentro de cada país

America and Australia, they are also genetically different from those from China, Taiwan, Vietnam and India (Silva-Rosales *et al.*, 2000).

Twenty-two complete PRSV-P genomes from several countries have been sequenced, and the phylogenetic analyses show that the isolates are grouped according to their country of origin. Therefore, Taiwan, China, Thailand and India form one group, and a second group includes isolates from the Americas (Brazil, Mexico, United States) (Mishra *et al.*, 2015). In contrast, nucleotide analyzes of the capsid protein genes from virus samples collected in Cuba (7 samples) and Brazil (21 samples) show that the genetic distance among them ranged from 0% to 9.2%. Analyses performed in each country showed formation of genetic subgroups according to the geographic regions where the samples were taken, i.e., there is higher similarity among isolates from neighboring regions. However, when genetic information from the virus GenBank was included, two groups with 86% maximum genetic similarity were identified. The first group included viruses from India, Hawaii, Mexico, Venezuela, Cuba and Brazil, and the second, viruses from China, Taiwan, Thailand, South Korea and Malaysia (Rodríguez *et al.*, 2014).

The Papaya Mosaic virus (PapMV) is a member of the Potexvirus genus and the family Alfaflexiviridae (Mishra *et al.*, 2016). It was first reported in Mexico in 2001 (Noa-Carranza *et al.*, 2006). Comparisons of protein coat of strains from Canada with strains from China showed 98% similarity (Sit *et al.*, 1989). However, comparisons between strains from China and strains from Mexico showed 73% similarity (Tennant *et al.*, 2007), whereas in Mexico strains of that virus showed similarity higher than 91% (Noa-Carranza *et al.*, 2006).

In general, it seems that the genetic variability of viruses PRSV-P and PapMV makes it necessary to use isolates from each region for genetic

indicaron la formación de subgrupos genéticos en función de la región geográfica de colecta; es decir, la similitud genética es mayor entre aislamientos procedentes de regiones vecinas. No obstante, al incluir información genética del GenBank de virus de otros países se determinaron dos grupos, con una similitud genética máxima de 86%; el primero lo conformaron virus de India, Hawaii, México, Venezuela, Cuba y Brasil. El segundo grupo incluyó a los virus de China, Taiwán, Tailandia, Corea del sur y Malasia (Rodríguez *et al.*, 2014).

El virus del mosaico de la papaya (PapMV) es miembro del género Potexvirus y de la familia Alfaflexiviridae (Mishra *et al.*, 2016). El primer reporte de su presencia en México fue en 2001 (Noa-Carranza *et al.*, 2006). Al comparar la proteína de la cubierta de las cepas de Canadá con las cepas de China la similitud es del 98% (Sit *et al.*, 1989); sin embargo, al comparar cepas provenientes de China con las de México la similitud ha sido del 73% (Tennant *et al.*, 2007), mientras que en México las cepas de ese virus presentan similitud mayor al 91% (Noa-Carranza *et al.*, 2006).

En forma general, se percibe que la variabilidad genética de los virus PRSV-P y PapMV, dan lugar a la necesidad de usar los aislamientos de cada región para eventos de transformación genética, generación de virus atenuados o desarrollo de esquemas de selección convencional de materiales genéticos de papaya por tolerancia a la virosis. Ambos están presentes en las diversas regiones ecológicas de México (Figura 1).

Síntomas ocasionados por PRSV-P Y PapMV

Las plantas infectadas de PRSV-P se caracterizan por presentar mosaico, deformación foliar, amarillamiento o clorosis (Figura 2), achaparramiento, manchas anilladas en las frutas, manchas de mosaico; además de bandas oleosas y acuosas en el

transformation events, to create attenuated viruses or develop conventional schemes for selecting papaya genetic materials for virus tolerance. Both are present in diverse ecological regions of Mexico (Figure 1).

Symptoms caused by PRSV-P AND PapMV

Characteristic symptoms of PRSV-P virus-infected plants include mosaic, leaf deformation, yellowing or chlorosis (Figure 2), stunting, ring spots on fruit, mosaic spots, and oil and water-soaked bands on petioles and the upper part of the stem. Infected plants develop abnormally, are smaller and have low vigor and less production and commercial quality (Kumar *et al.*, 2014). Changes observed in mass accumulation in PRSV-P virus infected plants are associated with a decrease in the photosynthesis rate and an increase in the respiration rate (Marler *et al.*, 1993).

Symptoms of PapMV infected plants include mottling of young leaves, chlorosis of veins and leaf lamina curved towards the underside (Figure 2); also, infected plants are shorter and have small leaves (Taylor, 2001). However, a co-infection by both viruses produces apical leaf necrosis, twisting, mottling and mosaic (Noa-Carranza *et al.*, 2006).

The presence and severity of symptoms produced by both viruses depend on diverse environmental factors that, when present, can increase or mitigate the severity of the infection. The susceptibility of plantlets inoculated with PRSV-P increases when they are subjected to short periods of darkness because the carbohydrate content in leaves decreases, which may interfere with the establishment of the virus in the cells. Temperature is also crucial for disease development. According to Cabrera *et al.* (2010), when temperatures are higher than 40 °C, the viral accumulation decreases; the same occurs when

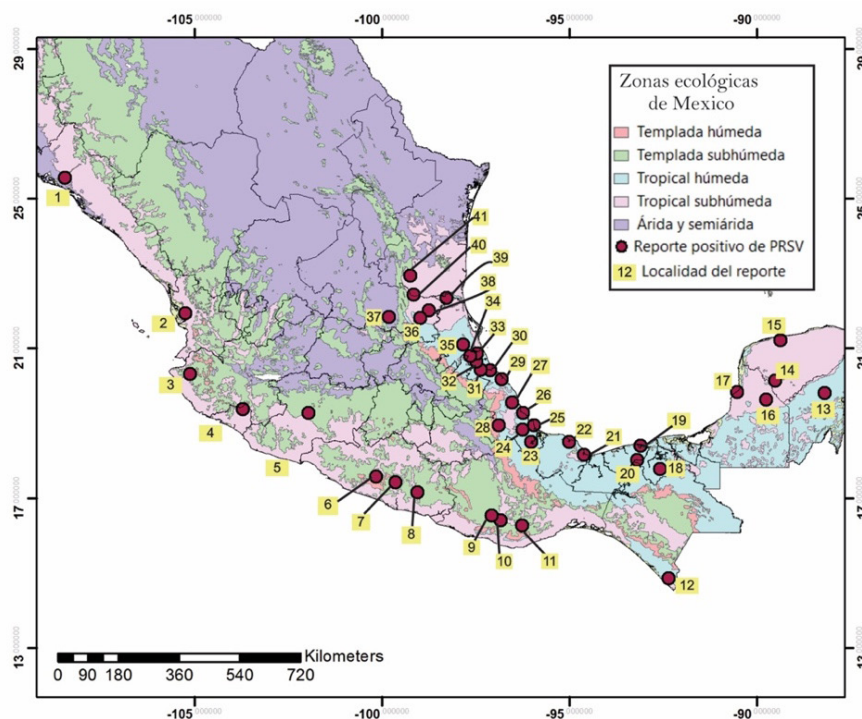


Figura 1. Distribución de los virus PRSV y PapMV en México. Elaboración propia de acuerdo al estudio de plantas con virosis, en 41 localidades, realizado por Noa-Carranza *et al.* (2006).

Figure 1. Distribution of PRSV and PapMV in Mexico. Developed by the authors based on a study on virus-infected plants conducted by Noa-Carranza *et al.* (2006) in 41 locations.

peciolo y en la parte superior del tallo. Las plantas infectadas presentan desarrollo anormal, menor tamaño, poco vigor y menor producción y calidad comercial (Kumar *et al.*, 2014). Los cambios observados en la acumulación de biomasa en las plantas infectadas con PRSV-P se asocian a la reducción de la tasa de fotosíntesis y al incremento de tasa de respiración (Marler *et al.*, 1993).

Los síntomas en las plantas infectadas por PapMV expresan un moteado en hojas jóvenes, aclaramiento de venas y curvatura de la lámina foliar hacia el envés (Figura 2); además, las plantas infectadas poseen porte bajo y hojas pequeñas (Taylor, 2001). Sin embargo, con la co-infección de ambos virus se observan síntomas foliares de

temperatures are lower than 20 °C. However, when room temperature ranges between 26 °C and 31 °C, the viral accumulation and expression of symptoms reaches its maximum level. This could be because the defense mechanism of silencing regulated by ARN can be easily suppressed by the environmental temperature (Mangrauthia *et al.*, 2009).

Strategies for managing viral infections

Management strategies for diseases associated with virus infections include using virus-free propagules, removing plants with early infections, establishment of planting dates, control and study of vector aphid populations, transmission

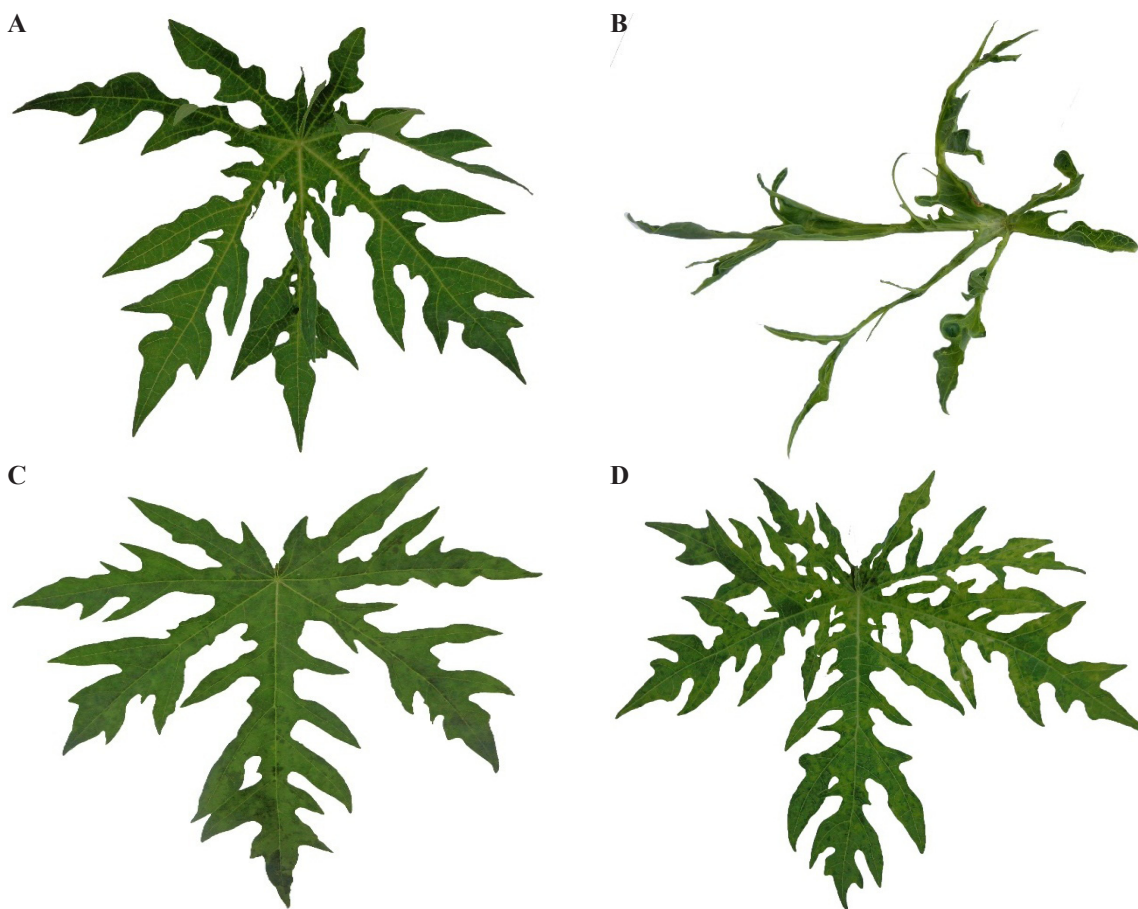


Figura 2. Síntomas ocasionados por PRSV-P y PapMV en una hoja de *Carica papaya* L. variedad Maradol. A) Hoja con síntomas de PRSV-P en fase intermedia. B) Hoja con síntomas de PRSV en fase avanzada. C) Hoja con síntomas de PapMV en fase intermedia. D) Hoja con síntomas de PapMV en fase avanzada. Tapachula, Chiapas, México, 2016.
Figure 2. Symptoms produced by PRSV-P and PapMV in a leaf of *Carica papaya* L. Maradol variety. A) Leaf showing symptoms of PRSV-P at intermediate phase. B) Leaf showing PRSV symptoms at advanced phase. C) Leaf showing symptoms of PapMV at intermediate phase. D) Leaf showing symptoms of PapMV at advanced phase. Tapachula, Chiapas, Mexico, 2016.

necrosis apical, torsión, moteado y mosaico (Noa-Carranza *et al.*, 2006).

La presencia y severidad de los síntomas debido a ambos virus depende de diversos factores ambientales que, en caso de presentarse, pueden aumentar o atenuar la severidad. Según Kassanis (2008), la susceptibilidad de plántulas inoculadas con PRSV-P aumenta si se someten a periodos cortos de oscuridad, debido al decremento del contenido de carbohidratos en la hoja, los cuales pueden interferir con el establecimiento del virus en

interferencia by aphids (plant barriers), mineral oil application, cross protection, genetic improvement for resistance, development of transgenic plants and quarantine practices (Villegas, 2001; Rivas-Valencia *et al.*, 2003; 2008; Subramanya and Zitter, 2014).

The most common strategy for controlling vector aphids is insecticide spraying. However, it seems possible to develop variants resistant to specific molecules such as neonicotinoids (Koo *et al.*, 2014). For this reason, the populations

las células. Así mismo, la temperatura se considera determinante para el desarrollo de la enfermedad. De acuerdo con Cabrera *et al.* (2010), con temperaturas superiores a 40 °C la acumulación viral disminuye, lo mismo ocurre en temperaturas inferiores a 20 °C; pero con la oscilación de la temperatura del ambiente entre 26 °C y 31 °C la acumulación viral y expresión de los síntomas alcanza un nivel máximo. Esto podría deberse a que el mecanismo de defensa de silenciamiento regulado por ARN puede suprimirse fácilmente por la temperatura ambiental (Mangrauthia *et al.*, 2009).

Estrategias de manejo de la virosis

Entre las estrategias de manejo de enfermedades relacionadas con virus están: uso de propagulos libres de virus, eliminación de plantas con infecciones tempranas, determinación de fechas de siembra, control y estudio de poblaciones de áfidos vectores, interferencia de la transmisión por áfidos (barreras vegetales), aplicación de aceites minerales, protección cruzada, mejoramiento genético por resistencia, desarrollo de plantas transgénicas y prácticas cuarentenarias (Villegas, 2001; Rivas-Valencia *et al.*, 2003; 2008; Subramanya y Zitter, 2014).

La estrategia más común de control de áfidos vectores es la aspersión de insecticidas; sin embargo, es latente la posibilidad de desarrollar variantes resistentes a determinadas moléculas como los neonicotinoides (Koo *et al.*, 2014); por tanto, la dinámica de las poblaciones se considera importante en los análisis de incidencia de la enfermedad en plantaciones de papaya. Como ejemplo, Mora-Aguilera *et al.* (1996) indican que la localidad y fecha de trasplante (en febrero, abril o junio) son factores agronómicos importantes para coincidir con la menor incidencia de plantas infectadas, en la región central del estado de Veracruz, México.

dynamics is important in disease incidence analyses in papaya plantations. For example, Mora-Aguilera *et al.* (1996) state that the transplanting location and date (in February, April or June) are important agronomic factors to make them coincide with a lower incidence of infected plants in the central region of the state of Veracruz, Mexico.

Cross protection involves the use of attenuated virus to infect the plant and activate its genic silencing mechanism before it becomes infected by virulent strains (Fermin *et al.*, 2010). In Taiwan, Thailand and Hawaii, two attenuated isolates have been used in papaya production: PRSV-P HA 5-1 and PRSV-P HA 6-1. Although, these isolates do not provide total protection, papaya growers obtain acceptable yields consistently and predictably (Subramanya and Zitter, 2014).

Development of transgenic papaya

There are three strategies to produce papaya resistant to PRSV-P (Villegas, 2001): 1) interspecific crosses aimed at developing a moderate-tolerant variety to be used as a genetic source; 2) interspecific crosses between *C. papaya* and its resistant wild relatives (such as *Vasconcellea cauliflora*, *V. quercifolia* and *V. pubescens*) to develop resistant hybrids; and 3) using genetic engineering to obtain resistance by transferring the gene of the virus capsid to papaya grown and develop transgenic papaya.

In 1981, Hawaii's papaya improvement program implemented the use of biotechnological tools such as: *in vitro* tissue culture for micropropagation of lines, rescue of embryos of interspecific crosses and genetic engineering (Villegas, 2001). Papaya was conceived to be transgenic by inserting the gene that encodes the protein coat of the PRSV virus HA 5-1 strain in the papaya genome. Later, tests were

La protección cruzada involucra la infección de la planta con virus atenuados para activar mecanismos de silenciamiento génico en la planta, antes de que sea infectada por cepas virulentas (Fermin *et al.*, 2010). En el cultivo de papaya en Taiwán, Tailandia y Hawaii se han usado dos aislamientos atenuados: PRSV-P HA 5-1 y PRSV-P HA 6-1. Estos no generan una protección absoluta pero los productores obtienen un rendimiento aceptable, de forma consistente y más predecible (Subramanya y Zitter, 2014).

Desarrollo de papaya transgénica

Se han desarrollado tres estrategias para generar papayas resistentes al PRSV-P (Villegas, 2001): 1) cruza intraespecíficas para desarrollar una variedad con tolerancia moderada y utilizarla como fuente de genes; 2) cruza inter-específicas de *C. papaya* con los parientes silvestres resistentes (como *Vasconcellea cauliflora*, *V. quercifolia* y *V. pubescens*) y así desarrollar híbridos resistentes; y 3) obtener resistencia transfiriendo el gen de la cápside viral, mediante técnicas de ingeniería genética, a la papaya cultivada y así obtener una papaya transgénica.

El programa de mejoramiento de papaya de Hawaii, en 1981, se suplementó con herramientas biotecnológicas tales como: el cultivo de tejidos *in vitro* para la micropropagación de líneas, el rescate de embriones de cruza interespecíficas y la ingeniería genética (Villegas, 2001). Se concibió la papaya transgénica insertando el gen que codifica la cubierta proteínica del virus PRSV-P cepa HA 5-1 en el genoma de la papaya. Luego se probaron en campo, inoculándolas mecánicamente y se indujo la infección con el pulgón *Aphis* spp. El 95% de los individuos evaluados presentaron resistencia. No obstante, el transgen solo fue efectivo para proteger la papaya contra el virus local, pero no contra el

conducted in the field using mechanical inoculation to induce infection with aphids, finally 95% of the evaluated individuals showed resistance. However, the transgene was only efficient in protecting papaya against the local virus but not against PRSV from Taiwan, Thailand and Mexico (Gonsalves, 2006). These results confirmed that transgenesis requires a compatibility level higher than 98% between the virus and the transgene, and that the diversity of PRSV-P strains in the world's ecological niches limits their use (Gonsalves, 1998).

On the other hand, Davis and Ying (2004) transformed papaya lines using genes of the protein coat of PRSV-P H1K isolate from Florida. It should be noted that, after transformation, the percentage of susceptible plants was associated with the molecular architecture of the transgene used for transformation, the number of copies of the transgene present in the tissue and the effect of the genetic background on the varieties crossed with transgenic lines.

Currently, in Hawaii, over 70% of the area devoted to papaya cultivation corresponds to the transgenic hybrids SunUp and Rainbow (Azad *et al.*, 2014). Due to this tendency, countries like Jamaica, Venezuela and Thailand created their own technology to develop genetic materials resistant to PRSV-P endemic strains. In recent years, transgenic papaya has been established in Australia, Jamaica, Venezuela, Vietnam, Thailand, Taiwan and the Philippines (Fermin *et al.*, 2010).

In Mexico, there are legal restrictions for the establishment of commercial transgenic papaya plantations, as stated in the Norma Oficial Mexicana NOM-056-FITO-1995. Between 1995 and 2015, COFEPRIS evaluated food safety and authorized 146 events of genetically modified products but did not include papaya (COFEPRIS, 2015). This is a measure to protect plant centers of origin and domestication, as is the case of papaya in Mexico.

PRSV-P procedente de Taiwán, Tailandia y México (Gonsalves, 2006). Esto corroboró que la transgénesis requiere que la compatibilidad entre el virus y el transgen sea mayor a 98%, y a la vez que la diversidad de cepas de PRSV-P en los nichos ecológicos del mundo limita su uso (Gonsalves, 1998).

Por otra parte, Davis y Ying (2004) transformaron líneas de papaya con genes de la proteína de la cápside del PRSV-P, aislamiento H1K, de Florida. Se destaca que el porcentaje de plantas susceptibles, después de la transformación genética, estuvo relacionado con la arquitectura molecular del transgen usado en la transformación, el número de copias del transgen presente en el tejido, y el efecto del fondo genético de las variedades cruzadas con las líneas transgénicas.

En Hawaii, actualmente, más del 70% de la superficie dedicada al cultivo de la papaya corresponde a híbridos transgénicos SunUp y Rainbow (Azad *et al.*, 2014). Por esta tendencia, algunos países como Jamaica, Venezuela y Tailandia desarrollaron tecnología propia, con el fin de generar materiales genéticos resistentes a las cepas endémicas de PRSV-P. En los últimos años la papaya transgénica se ha establecido en Australia, Jamaica, Venezuela, Vietnam, Tailandia, Taiwán y Filipinas (Fermin *et al.*, 2010).

En el caso de México, existen limitantes legales para el establecimiento de plantaciones comerciales con papayas transgénicas, lo cual está establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-056-FITO-1995. La COFEPRIS, entre 1995-2015, ha evaluado la inocuidad alimentaria y autorizado 146 eventos de productos genéticamente modificados, dentro de los cuales no se incluye al cultivo de papaya (COFEPRIS, 2015). Esto es debido a la protección de los centros de origen y domesticación de plantas, como es el caso de la papaya en México.

Introgression of resistance genes in virus

Gene introgression among species occurs naturally and has enhanced genetic diversity through cross-pollination (Droogenbroeck *et al.*, 2006). This also allows the development of new varieties because disease resistance genes from wild species can be introgressed into important commercial varieties (Dinesh *et al.*, 2013).

Interspecific hybridization is the result of a long-term genetic strategy for controlling viral infections that consists in making artificial crosses between domesticated papaya (*C. papaya* L.) and other species of the *Vasconcellea* genus that is a member of the family *Caricaceae* (Drew, 2014).

There are 21 *Vasconcellea* species (Coppens d'Eeckenbrugge *et al.*, 2014) in Central and South America, and this will allow us to evaluate genetic material with potential resistance to native viruses that could be used to develop resistant populations. However, in this process, it is important to consider both the presence of prezygotic and postzygotic barriers to produce useful hybrid seeds (poor pollen germination and sterile seed development, due to embryo and ovule abortion) (Veena and Dinesh, 2013), and the genetic distances among species in crossing schemes (Sharma and Tripathi, 2016). For this reason, introgression requires identifying species and varieties that are resistant to PRSV-P and also compatible in artificial crosses, to serve as parents.

In Mexico, the importance of evaluating wild relatives of *C. papaya* as sources of genetic resistance to PRSV-P and PapMV was recognized since 1978. At that time, *Vasconcellea cauliflora* (Vc), *V. pubescens*, *V. stipulata* and *V. candicans* were reported as being resistant to papaya ringspot virus (PRSV) and Vc is the only one found in Mexico. However, crosses between *C. papaya* and

Introgresión de genes de resistencia a virus

La introgresión de genes entre especies ocurre de manera natural y ha enriquecido la diversidad genética a través de la polinización cruzada (Drogenbroeck *et al.*, 2006). Inclusive, esto facilita el desarrollo de nuevas variedades porque es factible la introgresión de genes de resistencia a enfermedades, a variedades importantes comercialmente, a partir de las especies silvestres (Dinesh *et al.*, 2013).

La hibridación interespecífica ha resultado una estrategia de control genético de la virosis de largo plazo, la cual consiste en cruzar artificialmente la papaya domesticada (*C. papaya* L.) con otras especies del género *Vasconcellea* que forma parte de la familia *Caricaceae* (Drew, 2014).

En América Central y Sur existen 21 especies silvestres de *Vasconcellea* (Coppens d'Eeckenbrugge *et al.*, 2014). Esto permitiría escudriñar este material genético, potencialmente resistente a virus nativos, para usarse en la generación de poblaciones resistentes. No obstante, en ese proceso es importante considerar la presencia de barreras precigóticas y postcigóticas para la producción de semillas híbridas funcionales: fallas en la germinación del polen y el desarrollo de semillas estériles debido al aborto de embriones y óvulos (Veena y Dinesh, 2013); pero también es importante considerar las distancias genéticas entre las especies en el esquema de cruzamiento (Sharma y Tripathi, 2016). Por lo anterior, la introgresión requiere la identificación de especies y variedades que presenten resistencia a virus PRSV-P y que sean compatibles en sus cruas artificiales para usarse como progenitores.

En México, desde 1978 se manifestó la relevancia de evaluar los parientes silvestres de la *C. papaya* como fuentes resistencia genética a los virus PRSV-P y PapMV. En aquel tiempo, se reportó que *Vasconcellea cauliflora* (*Vc*), *V. pubescens*, *V.*

Vasconcellea spp. exhibited compatibility barriers, such as development of F₁ seed without embryo and F₁ seed without endosperm (Mosqueda, 1978). When parents show low compatibility, a protocol is needed to rescue immature hybrid embryos using *in vitro* tissue culture techniques (Azad *et al.*, 2014).

Some *Vasconcellea* species are resistant to certain PRSV-P strains; for example, *V. quercifolia* is resistant to virus strains from Florida, Hawaii and Australia but susceptible to isolates from Venezuela; *V. cauliflora* is considered to be resistant to strains from Maracay (Venezuela), Mexico, Australia and India but susceptible to isolates from Florida and some from Venezuela; other species are resistant: *V. pubescens*, *V. stipulata*, *V. heilbornii* and *V. candicans* (Horovitz and Jimenez, 1967; Sharma and Tripathi, 2016). Results from these experiments showed resistance variability in terms of the geographic origin of PRSV-P.

Horovitz and Jimenez (1967) made interspecific crosses and found some hybrids resistant to PRSV-P. The authors also stated that a dominant gene is responsible for resistance to virus infections. In crosses between papaya and *V. quercifolia* several fertile hybrids have been obtained (Villegas, 2001). In 2011, segregant populations were obtained from four backcrosses (Backcross: BC₁ to BC₄) between *V. quercifolia* and *C. papaya* lines. After mechanical inoculation with PRSV-P isolated in the Philippines, plantlets without symptoms (72.3% to 96.1%) under greenhouse conditions were recorded. After 18 months in the field, plants from the BC₄ backcross were analyzed using the ELISA technique but only 66% of them were resistant (Siar *et al.*, 2011). In BC₃ plants, the ratio of resistant: susceptible segregants was 3:1, whereas in BC₄ plants two types of ratio were observed: 2:1 and 4:1. These results indicated that the resistance to virus infection is polygenic (Alamery and Drew, 2014). Although in combinations of *C. papaya* x

stipulata y *V. candicans* son especies resistentes al virus de la mancha anular, siendo *Vc* la única que se puede localizar en México. No obstante, las cruizas entre *C. papaya* y *Vasconcellea* spp. presentaron barreras de la compatibilidad, como el desarrollo de semillas F_1 sin embrión y semillas F_1 sin endospermo (Mosqueda, 1978). En el caso de que los parentales tengan baja compatibilidad, es necesario contar con un protocolo de rescate de embriones híbridos inmaduros, mediante técnicas de cultivo de tejidos *in vitro* (Azad *et al.*, 2014).

Algunas especies de *Vasconcellea* son resistentes a ciertas cepas de PRSV-P, e. g. *V. quercifolia* es resistente a cepas del virus originarias de Florida, Hawaii y Australia, pero presenta susceptibilidad a los aislamientos de Venezuela; *V. cauliflora* se considera resistente a cepas originarias de Maracay (Venezuela), México, Australia e India, no obstante, es susceptible a los aislamientos de Florida y también a algunos de Venezuela; otras especies resistentes son *V. pubescens*, *V. stipulata*, *V. heilbornii* y *V. candicans* (Horovitz y Jimenez, 1967; Sharma y Tripathi, 2016). Estos resultados experimentales muestran la variabilidad de la resistencia en función del origen geográfico del virus PRSV-P.

Horovitz y Jimenez (1967) realizaron cruizamientos interespecíficos y algunos de los híbridos resultaron resistentes al PRSV-P; además postularon que es un gen dominante el responsable de la resistencia a la virosis. También en las cruizas de papaya con *V. quercifolia* se han obtenido varios híbridos fértiles (Villegas, 2001). Adicionalmente, en 2011 se obtuvieron poblaciones segregantes mediante cuatro retrocruzas (Backcross: BC_1 a BC_4) entre *V. quercifolia* y líneas de *C. papaya*. Después de inocularlas mecánicamente con PRSV-P, aislado en Filipinas, se registraron de 72.3% a 96.1% de plántulas sin síntomas en condiciones de invernadero. Después de 18 meses de desarrollo en campo, las plantas de la BC_4 se analizaron con la técnica de

V. pubescens resistance to PRSV-P was also found, their progeny was sterile to continue a conventional improvement scheme. For this reason, a bridge has been proposed to transfer resistance genes through *V. pubescens* x *V. parviflora* crosses, and then make crosses with *C. papaya* (Drew, 2014). On the other hand, Kumar and Tripathi (2016) proposed another transference bridge by intercrossing *V. cundinamarcensis* x *V. parviflora*, and then pollinate F_1 individuals with *C. papaya* to obtain hybrids resistant to virus infections.

Genetic studies using an F_2 generation from *V. pubescens* (resistant) x *V. parviflora* (susceptible) crosses showed a STK (serine threonine protein kinase marker gene) associated with resistance to PRSV-P. Based on this result, Haireen and Drew (2014) cloned the STK gene and observed that its genomic sequence is similar to that of *Carica papaya* (known as: CP_STK). They also found an equivalent gene in *V. pubescens* (VP_STK2). When they compared their genomic sequences, they noted structural differences and, for this reason, the protein products may show a differentiated role, a fact that may influence the species susceptibility or resistance to the virus.

Intergeneric hybrids with *Vasconcellea cauliflora*

Magdalita *et al.* (1997) made *C. papaya* x *Vc* crosses and rescued *in vitro* F_1 embryos to develop hybrid individuals. The hybrid plants were artificially inoculated with two PRSV-P isolates from Australia. From 114 plants inoculated in the greenhouse, 22 survived and 100% did not develop virus infection symptoms. In another lot of 20 hybrid plants established in the open field, 12 survived and none of them developed virus infection, a fact that was confirmed using the ELISA technique.

There are currently protocols for *in vitro* tissue culture to rescue embryos resulting from manual

ELISA y solo el 66% de ellas se consideraron resistentes (Siar *et al.*, 2011). En la BC₃ la proporción de segregantes resistentes: susceptibles fue de 3:1; por el contrario, en la BC₄ se detectaron dos tipos de proporciones: 2:1 y 4:1, información que indicó que la resistencia a la virosis es de tipo poligénica (Alamery y Drew, 2014).

En la combinación de *C. papaya* x *V. pubescens* también se ha encontrado resistencia al PRSV-P, pero la descendencia ha resultado estéril para continuar un esquema de mejoramiento convencional. Por ello, se ha planteado un puente para la transferencia de genes de resistencia al cruzar *V. pubescens* x *V. parviflora* y luego con *C. papaya* (Drew, 2014). Por otro lado, Kumar y Tripathi (2016) plantean otro puente de transferencia al entrecruzar *V. cundinamarcensis* x *V. parviflora*, luego los individuos F₁ se polinizan con *C. papaya* y así obtener híbridos resistentes a la virosis.

En estudios genéticos de la generación F₂, a partir de la cruce de *V. pubescens* (resistente) x *V. parviflora* (susceptible) encontraron un gene marcador, STK (serine threonine protein kinase, por sus siglas en inglés), relacionado a la resistencia al PRSV-P. Con base en eso, Haireen y Drew (2014) clonaron el gene STK y descifraron que su secuencia genómica es equivalente al de *Carica papaya* (denominado: CP_STK). También determinaron un gen equivalente en *V. pubescens* (VP_STK2). Al compararse las secuencias genómicas evidenciaron diferencias estructurales y por lo tanto los productos proteicos presentarían una función diferenciada, lo cual estaría influyendo en la susceptibilidad o resistencia de las especies al virus.

Híbridos intergenéricos con *Vasconcellea cauliflora*

Magdalita *et al.* (1997) realizaron cruzamientos de *C. papaya* x *Vc* y los embriones F₁ se rescataron

pollination of papaya with *Vc* pollen. It has been stated that the optimum date to extract embryos from immature seeds is 90 days after pollination (Azad *et al.*, 2014; Vegas *et al.*, 2003).

Another alternative for obtaining intergeneric embryos would be to break the compatibility barriers present in artificial crosses between papaya and *Vc*. For this purpose, Dinesh *et al.* (2007) applied a 5% sucrose solution to flower stigmas before manual pollination and obtained hybrid seeds in crosses between Surya and Pusa Dwarf papaya varieties x *Vc*. 71.1% of pollinated flowers bore fruit and produced 13.7 F₁ seeds in average. Using ISSR molecular markers, the authors confirmed that the seeds were interspecific hybrids. Later, Dinesh *et al.* (2013) created a selection scheme making crosses between *C. papaya* var. Arka Surya x *Vc* (Figure 3) and achieved encouraging results (Yanthan *et al.*, 2017).

Jayavalli *et al.* (2011, 2012) made crosses between *Vc* and 9 papaya varieties from India to which they also applied 5% sucrose solutions combined with calcium chloride and boron. From the total of pollinated flowers (n=1197), 25.7% bore fruits. Each fruit had 2.3 hybrid seeds in average, and from the total number of seeds, 58.1% germinated. F₁ plants performed well and were inoculated with PRSV-P; 23.6% did not develop viral symptoms, but the remaining percentage exhibited mosaic and deformation of merismatic leaves, so it was determined that Pusa Nanha x *Vc* was the best intergeneric hybrid.

Sudha *et al.* (2013) evaluated an F₂ generation of crosses between *Vc* and Pusa Nanha, CP50 and CO7 varieties. From 700 F₂ plants inoculated with PRSV-P, 46% of them did not show virus infection symptoms. Considering the number of days from the inoculation date to the appearance of symptoms, as well as their severity, the best F₂ family resulted from the cross between Pusa Nanha x *Vc*. Using an F₃ generation, Sudha *et al.* (2015)

in vitro para regenerar los individuos híbridos. Las plantas híbridas se inocularon artificialmente con dos aislamientos de PRSV-P de Australia. De 114 plantas inoculadas en invernadero, 22 sobrevivieron y el 100% no presentó síntomas de virosis. En otro lote de 20 plantas híbridas establecidas en campo abierto sobrevivieron 12 y todas estuvieron libres de virosis, lo cual se confirmó con la técnica de ELISA.

Actualmente existen protocolos de cultivo de tejidos *in vitro*, para rescatar los embriones resultantes de la polinización manual de la papaya con polen de *Vc*; se ha determinado que la fecha óptima para extraer los embriones de las semillas inmaduras deberá ser a los 90 días posteriores a la polinización (Azad *et al.*, 2014; Vegas *et al.*, 2003).

Otra alternativa de obtención de híbridos intergenéricos es romper las barreras de compatibilidad presentes en las cruza artificiales de papaya con *Vc*. Con tal fin, Dinesh *et al.* (2007) aplicaron una solución de sacarosa al 5% en los estigmas florales antes de la polinización manual; con ello, lograron obtener semillas híbridas al cruzar variedades de papaya Surya y Pusa Dwarf con *Vc*; el 71.1% de las flores polinizadas produjeron frutos y desarrollaron 13.7 semillas F_1 en promedio. La confirmación de que las semillas eran híbridos interespecíficos se realizó a través del uso de marcadores moleculares tipo ISSR. Posteriormente, Dinesh *et al.* (2013), generaron un esquema de selección a partir de la cruza *C. papaya* var. Arka Surya x *Vc* (Figura 3), con avances alentadores (Yanthan *et al.*, 2017).

Por su parte, Jayavalli *et al.* (2011, 2012) realizaron cruza de *Vc* con nueve variedades de papaya de la India; también aplicaron soluciones de sacarosa al 5% y en combinación con cloruro de Calcio y Boro. Del total de flores polinizadas ($n=1197$), el 25.7% desarrollaron frutas. Cada fruta tuvo 2.3 semillas híbridas en promedio y del total de semillas germinaron el 58.1%. Estas plantas F_1 desarrollaron

evaluado 1,778 F_3 plantas inoculadas con PRSV-P y encontró que 30.7% no mostraron síntomas de infección viral después de 27 días; por lo tanto, de acuerdo con la escala de severidad, fueron considerados resistentes; el porcentaje restante de plantas fue clasificado como susceptible y altamente susceptible. Cuando las plantas resistentes fueron llevadas al invernadero y evaluadas hasta 270 días después de la inoculación, las plantas de la cruza entre Pusa Nanha x *Vc* fueron encontradas como resistentes e intermedias.

Jayavalli *et al.* (2015) también estudió una F_2 generación de cruza entre CO7 x *Vc*, Pusa Nanha x *Vc* y CP50 x *Vc*. Para este propósito, inocularon 683 plantitas de las tres cruza con PRSV-P, y encontró que 12.8% no mostraron síntomas de infección, pero en un ensayo de detección de virus usando DAS-ELISA obtuvieron valores de absorbancia bajos (< 0.24). En una cruza entre CO7 x *Vc*, obtuvieron plantas resistentes en una proporción de 15:1 (susceptible:resistente), mientras que en las otras dos cruza (Pusa Nanha x *Vc* y CP50 x *Vc*), las plantas resistentes segregaron en una proporción de 13:3.

La estructura genética propuesta por Jayavalli *et al.* (2015), donde sugirieron que la presencia de dos genes dominantes puede explicar tal proporción de individuos susceptibles, se muestra en la Tabla 1. Señalaron que no hubo segregación en una proporción de 3:1 como en la herencia mendeliana. Además, las proporciones observadas indican que existen múltiples alelos en ambas especies que cuando interactúan producen combinaciones genéticas asociadas con el virus PRSV-P.

CONCLUSIONES

Los estudios sobre resistencia a virus se han centrado principalmente en PRSV-P debido a su capacidad de reducir los rendimientos comerciales de la papaya. El PapMV no ha sido completamente abordado debido a su bajo impacto económico en los cultivos de papaya, pero basándose en la evidencia de coinfección y sus efectos sobre la gravedad de los síntomas

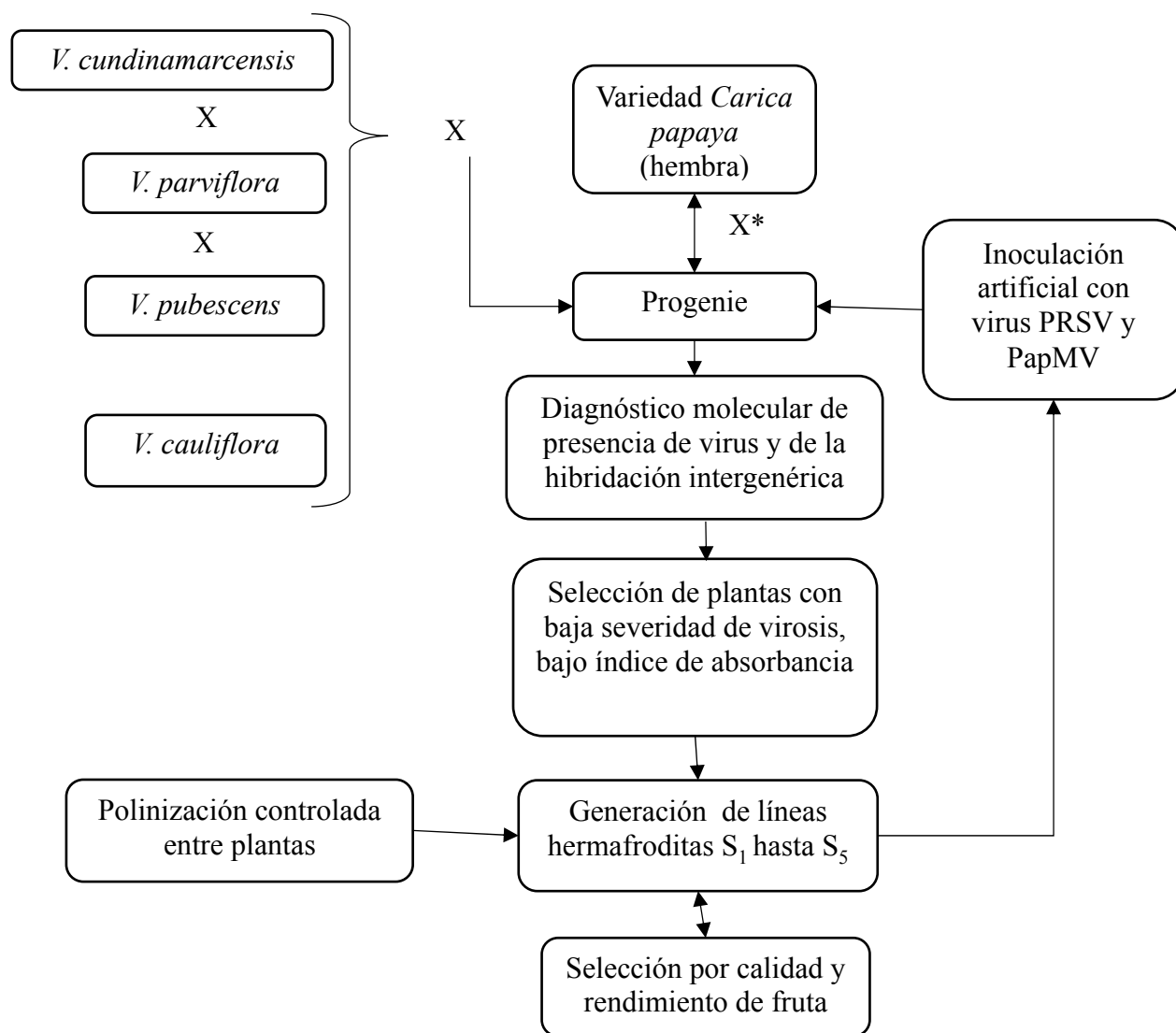


Figura 3. Esquema de cruas entre especies de *Vasconcellea* con *Carica papaya*, para desarrollar líneas tolerantes a la virosis. Importante el uso de marcadores de ADN para confirmar los híbridos intergenéricos y pruebas de ELISA para estimar el nivel de carga viral en el tejido de las plantas. Elaborado con base en Dinesh *et al.* (2013) y Kumar y Tripathi (2016). X= Cruza, X*= Retrocruza.

Figure 3. Scheme of crosses between *Vasconcellea* and *Carica papaya* species to develop lines tolerant to virus infections. It is important to use DNA markers to confirm intergeneric hybrids, and ELISA tests to estimate the level of viral charge in the tissue of the plants. Based on Dinesh *et al.* (2013) and Kumar and Tripathi (2016). X= Cross, X*= Backcross.

y se inocularon artificialmente con PRSV-P, de las cuales el 23.6% no mostró síntomas de virus, pero el restante porcentaje mostró mosaico y deformación en las hojas meristemáticas, con lo cual determinaron que el mejor híbrido intergenérico fue Pusa Nanha x *Vc*.

and damage to papaya crops, it is important to integrate PapMV in studies on virus resistance in Mexico.

Considering the importance of papaya crops and yield reductions attributable to PRSV-P and PapMV in Mexico, alternatives for developing

Así mismo, Sudha *et al.* (2013), evaluaron la generación F₂ de las cruzas de *Vc* con las variedades Pusa Nanha, CP50 y CO7; inocularon 700 plantas F₂ con PRSV-P, el 46% de ellas no mostró síntoma alguno de virosis. Considerando los días transcurridos a partir de la inoculación hasta la aparición de síntomas y la severidad de los mismos, la mejor familia F₂ procedió de la crusa Pusa Nanha x *Vc*. En la generación F₃, evaluada por Sudha *et al.* (2015), se inocularon 1778 plantas con PRSV-P de las cuales el 30.7% no mostraron síntomas de virosis después de 27 días, y se consideraron resistentes de acuerdo con la escala de severidad; el porcentaje restante de plantas se clasificaron como susceptibles y altamente susceptibles. Al llevar las plantas resistentes a un invernadero y evaluarse hasta los 270 días después de la inoculación, aquellas plantas derivadas de la crusa Pusa Nanha x *Vc* fueron resistentes y medianamente resistentes.

La generación F₂ de las cruzas: CO7 x *Vc*, Pusa Nanha x *Vc* y CP50 x *Vc*, también fue estudiada por Jayavalli *et al.* (2015). Para ello inocularon 683 plántulas de las tres cruzas con PRSV-P, encontrándose que el 12.8% de ellas no presentaron síntomas y en el ensayo de detección de virus con la técnica DAS-ELISA tuvieron bajos valores de absorbancia (< 0.24). En la crusa CO7 x *Vc* se obtuvieron plantas resistentes en proporción 15:1 (susceptibles: resistentes), mientras que en las otras dos cruzas (Pusa Nanha x *Vc* y CP50 x *Vc*) las plantas resistentes segregaron en proporción 13:3.

La estructura genética propuesta por Jayavalli *et al.* (2015), mediante la cual dedujeron que son dos genes dominantes los que estarían explicando esa proporción de individuos susceptibles, se muestra en el Cuadro 1. Además, señalan que no hubo segregación en proporción 3:1 como ocurre en la herencia mendeliana. En adición, las proporciones observadas indican que hay múltiples alelos en ambas especies que, al interaccionar, dan lugar a

variedades resistentes a estos virus. Dadas las restricciones del cultivo de papaya y la disminución en el rendimiento atribuido al PRSV-P y PapMV en México, se requieren de alternativas para el desarrollo de variedades resistentes a estos virus. Dadas las restricciones de las variedades resistentes a estos virus se requieren. Given the restrictions on using transgenic papaya varieties, an alternative is genetic improvement by making crosses between *C. papaya* lines and species of the *Vasconcellea* genus as donors for resistance to viruses, especially *V. cauliflora* that is naturally distributed across Mexico. It gives also an opportunity to include this kind of research in a genetic improvement program that can meet the demand of non-transgenic resistant varieties, through direct crosses or establishing a bridge to transfer virus-resistance genes using the interspecific triple cross among *V. cundinamarcensis* x *V. parviflora* x *C. papaya* to develop virus-resistant hybrids.

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

combinaciones genéticas relacionadas con la resistencia al virus PRSV-P.

## CONCLUSIONES

Los estudios de resistencia a virus se han centrado principalmente en el PRSV-P, debido a su efecto en reducir el rendimiento comercial del fruto. Mientras que PapMV no ha tenido gran auge en este tipo de investigaciones por su bajo impacto económico en el cultivo; sin embargo, con la evidencia de la co-infección y sus efectos en la severidad de los síntomas y daños, es importante incorporar a PapMV en el estudio de resistencia a virosis en México.

Considerando la importancia del cultivo de papaya y la disminución en el rendimiento atribuido al PRSV-P y PapMV en México, se requieren de alternativas para el desarrollo de variedades resistentes a estos virus. Dadas las restricciones del

**Cuadro 1. Estructura genética de variedades de *C. papaya*, de *V. cauliflora* y de sus poblaciones segregantes en función de la reacción al virus PRSV.**

**Table 1. Genetic structure of *C. papaya* and *V. cauliflora* varieties and of their segregant populations in terms of their reaction to PRSV.**

| Parentales                                             | <i>C. papaya</i> var. C07                                                  | <i>V. cauliflora</i>                                        | <i>C. papaya</i> vars. Pusa Nanha y CP50                                    | <i>V. cauliflora</i>                                        |
|--------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| Genotipo de los parentales                             | S <sub>1</sub> S <sub>1</sub> S <sub>2</sub> S <sub>2</sub>                | s <sub>1</sub> s <sub>1</sub> s <sub>2</sub> s <sub>2</sub> | S <sub>3</sub> S <sub>3</sub> s <sub>4</sub> s <sub>4</sub>                 | s <sub>3</sub> s <sub>3</sub> S <sub>4</sub> S <sub>4</sub> |
|                                                        | S <sub>1</sub> –S <sub>1</sub> – (9 susceptibles)                          |                                                             | S <sub>3</sub> –S <sub>4</sub> – (9 susceptibles)                           |                                                             |
| Genotipos en la generación F <sub>2</sub> (proporción) | S <sub>1</sub> –s <sub>2</sub> s <sub>2</sub> (3 susceptibles)             |                                                             | S <sub>3</sub> –s <sub>4</sub> s <sub>4</sub> (3 susceptibles)              |                                                             |
|                                                        | s <sub>1</sub> s <sub>1</sub> S <sub>2</sub> – (3 susceptibles)            |                                                             | s <sub>3</sub> s <sub>3</sub> S <sub>4</sub> – (3 resistentes)              |                                                             |
|                                                        | s <sub>1</sub> s <sub>1</sub> s <sub>2</sub> s <sub>2</sub> (1 resistente) |                                                             | s <sub>3</sub> s <sub>3</sub> S <sub>4</sub> S <sub>4</sub> (1 susceptible) |                                                             |

Fuente: elaborado a partir de Jayavalli *et al.* (2015) / Source: Adapted from Jayavalli *et al.* (2015).

uso de variedades de papaya transgénica, se tiene la alternativa del mejoramiento genético a través del cruzamiento de líneas de *C. papaya* con especies del género *Vasconcellea* como donadoras de la resistencia a virus; en especial, *V. cauliflora* que se distribuye naturalmente en México. Además, es una oportunidad de insertar este tipo de investigaciones en un programa de mejoramiento genético que pueda atender la demanda de variedades resistentes no transgénicas, mediante cruza directa o estableciendo un puente de transferencia de genes de resistencia al virus al usar la cruza triple interespecífica: *V. cundinamarcensis* x *V. parviflora* x *C. papaya*, y de esta forma obtener híbridos resistentes a la virosis.

## LITERATURA CITADA

- Abreu PMV, Gaspar CG, Buss DS, Ventura JA, Ferreira PCG, and Fernández PMB. 2014. *Carica papaya* microRNAs are responsive to papaya meaira virus infection. PLoS ONE 9(7): e103401. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103401>
- Alamery S and Drew R. 2014. Studies on the genetics of PRSV-P resistance genes in intergeneric hybrids between *Carica papaya* and *Vasconcellea quercifolia*. Acta Horticulturae 1022: 55-61. DOI:10.17660/ActaHortic.2014.1022.5
- Antunes CF and Renner SS. 2014. The phylogeny of the caricaceae. Pp:81-92. In: R. Ming and Moore PH (eds.). Genetics and Genomics of Papaya. Springer Science Business Media, New York, USA. 438p.
- Azad MAK, Amin L and Sidik NM. 2014. Gene technology for papaya ringspot virus disease management. The Scientific World Journal: 1-11. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/768038>.
- Bateson MF, Lines RE, Reville P, Chaleeprom W, Ha CV, Gibbs AJ and Dale JL. 2002. On the evolution and molecular epidemiology of the potyvirus papaya ringspot virus. Journal of General Virology 83:2575-2585. DOI:10.1099/0022-1317-83-10-2575
- Cabrera MD, Cruz MM y Portal VO. 2010. Efecto de la temperatura en la virulencia del virus de la mancha anular de la papaya (PRSV-P). Fitosanidad 14(2):123-125. Disponible en línea: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1562-30092010000200009](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1562-30092010000200009)
- Chávez-Calvillo G, Contreras-Paredes CA, Mora-Macias J, Noa-Carranza JC, Serrano-Rubio AA, Dinkova TD, Carrillo-Tripp M and Silva-Rosales L. 2016. Antagonism and synergism between papaya ringspot virus and papaya mosaic virus in *Carica papaya* in determined by their order of infection. Virology 489:179-191. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2015.11.026>
- Chávez-Pesqueira M, Suárez-Montes P, Castillo G and Núñez-Farfán J. 2014. Habitat fragmentation threatens wild populations of *Carica papaya* (Caricaceae) in a lowland rainforest. American Journal of Botany 101(7):1092-1101. DOI:10.3732/ajb.1400051
- COFEPRIS, Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. 2015. <http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/OGMS/Cultivos.aspx>. Consulta: Noviembre de 2016.
- Coppens d'Eeckenbrugge G, Drew R, Kyndt T and Scheldeman X. 2014. *Vasconcellea* for Papaya Improvement. Pp:47-79. In: R Ming and Moore PH (eds.) Genetics and Genomics of Papaya. Springer Science Business Media, New York, USA. 438p.
- Davis MJ and Ying Z. 2004. Development of papaya breeding lines with transgenic resistance to papaya ringspot virus. Plant Disease 88:352-358. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.4.352>
- Dinesh MR, Rekha A, Ravishankar KV, Praveen KS and Santosh LC. 2007. Breaking the intergeneric crossing barrier

- in papaya using sucrose treatment. *Scientia Horticulturae* 114: 33–36. DOI:10.1016/j.scienta.2007.05.010
- Dinesh MR, Veena GL, Vasugi C, Krishna MR and Ravishankara KV. 2013. Intergeneric hybridization in papaya for 'PRSV' tolerance. *Scientia Horticulturae* 161: 357–360. DOI:10.1016/j.scienta.2013.07.009
- Drew R. 2014. The use of non-transgenic technologies for the development of papaya ringspot virus resistance in *Carica papaya*. *Proc. Acta Horticulturae* 1022:22-29. DOI:10.17660/ActaHortic.2014.1022.2
- Droogenbroeck BV, Kyndt T, Romeijn-Peeters E, Thuyné WV, Goetghebeur P, Romero-Motochi JP and Gheysen G. 2006. Evidence of natural hybridization and introgression between *Vasconcellea* species (Caricaceae) from Southern Ecuador revealed by chloroplast, mitochondrial and nuclear DNA markers. *Annals of Botany* 97:793-805. DOI:10.1093/aob/mcl038
- Fermin GA, Castro LT and Tennant PF. 2010. CP-Transgenic and non-transgenic approaches for the control of papaya ringspot: current situation and challenges. *Transgenic Plant Journal* 4 (Special Issue 1):1-15. Disponible en línea: [http://www.globalseiencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2010/TPJ\\_4\(SI1\)/TPJ\\_4\(SI1\)1-15o.pdf](http://www.globalseiencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2010/TPJ_4(SI1)/TPJ_4(SI1)1-15o.pdf)
- Gonsalves D. 1998. Control of papaya ringspot virus in papaya: a case study. *Annual Review of Phytopathology* 36:415-437. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.415>
- Gonsalves D. 2006. Transgenic papaya: development, release, impact and challenges. *Advances in Virus Research* 67:317-354. DOI:10.1016/S0065-3527(06)67009-7
- Haireen MRR and Drew RA. 2014. Isolation and characterization of PRSV-P resistance genes in *Carica* and *Vasconcellea*. *International Journal of Plant Genomics* 5:145403. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/145403>
- Horovitz S y Jiménez H. 1967. Cruzamientos interespecíficos e intergenéricos en caricáceas y sus implicaciones fitotécnicas. *Agronomía Tropical* 17(4): 323-343.
- Jayavalli R, Balamohan TN, Manivannan N and Govindaraj M. 2011. Breaking the intergeneric hybridization barrier in *Carica papaya* and *Vasconcellea cauliflora*. *Scientia Horticulturae* 130:787-794. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2011.09.004>
- Jayavalli R, Balamohan TN, Manivannan N and Robin S. 2012. Analysis of papaya intergeneric hybrids for morphological traits. *Madras Agriculture Journal* 99 (4-6): 166-170. Disponible en línea: <https://www.cabdirec.org/cabdirec/abstract/20123213250>
- Jayavalli R, Balamohan TN, Manivannan N, Rabindran R, Paramaguru P and Robin R. 2015. Transmission of resistance to papaya ringspot virus (PRSV) in intergeneric populations of *Carica papaya* and *Vasconcellea cauliflora*. *Scientia Horticulturae* 187:10-14. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.020>
- Kassanis B. 2008. Some effects of high temperature on the susceptibility of plants to infection with viruses. *Annals of Applied Biology* 39:358-363. DOI:10.1111/j.1744-7348.1952.tb01018.x
- Koo HN, Jeong-Jin An, Sang-Eun P, Ju-Il K and Gil-Hah K. 2014. Regional susceptibilities to 12 insecticides of melon and cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) and a point mutation associated with imidacloprid resistance. *Crop Protection* 55:91-97. DOI:10.1016/j.cropro.2013.09.010
- Kumar GR, Hohn T and Sharma P. 2014. Plant virus-host interaction. *Molecular approaches and viral evolution*. Pp:177-194. In: Gaur RK, Hohn T and Sharma P (eds.). *Papaya Ringspot Virus-P: Overcoming Limitations of Resistance Breeding in Carica papaya L.* Elsevier. USA. 408p.
- Kumar SS and Tripathi S. 2016. Resistance against papaya ringspot virus in *Vasconcellea* species: present and potential uses. Pp:215-230. In: Gaur RK, Petrov NM, Patil BL and Stoyanova MI (eds.). *Plant Viruses: Evolution and Management*. Springer Science Business Media, Singapore. 312p.
- Magdalita PM, Persley DM, Godwin ID, Drew RA and Adkins SW. 1997. Screening *C. papaya* x *C. cauliflora* hybrids for resistance to papaya ringspot virus -type P. *Plant Pathology* 46:837–841. DOI:10.1046/j.1365-3059.1997.d01-90.x
- Mangrauthia SK, Singh VPS, Jain RK, Praveen S. 2009. Ambient temperature perception in papaya for papaya ringspot virus interaction. *Virus Genes* 38:429-434. DOI:10.1007/s11262-009-0336-3
- Marler TE, Mickelbart MV and Quituga R. 1993. Papaya ringspot virus influences net gas exchange of papaya leaves. *HortScience* 28(4): 322-324. Disponible en línea: <http://hortsci.ashspublications.org/content/28/4/322.full.pdf>
- Mishra R, Kumar RG and Patil BL. 2015. Current knowledge of viruses infecting papaya and their transgenic management. Pp: 109-203. In: Gaur RK, Petrov NM, Patil BL and Stoyanova MI (eds.). *Plant viruses: Evolution and Management*. Springer Science Business Media, Singapore. 312 p.
- Mora-Aguilera G, Nieto-Ángel D, Campbell CL, Téliz D and García E. 1996. Multivariate comparison of papaya ringspot epidemics. *Phytopathology* 86:70-78. DOI:10.1094/Phyto-86-70
- Mosqueda VR. 1978. Papayo, Piña y Guayabo. Pp:299-309. In: Cervantes ST (ed.). *Recursos Genéticos Disponibles a México*. Sociedad Mexicana de Fitogenética A. C., Chapingo, México. 492p.
- Noa-Carranza JC, González-de-León D, Ruiz-Castro BS, Piñero D and Silva-Rosales L. 2006. Distribution of papaya ringspot virus and papaya mosaic virus in papaya plants (*Carica papaya*) in Mexico. *Plan Disease* 90:1004-1011. <http://dx.doi.org/10.1094/PD-90-1004>
- Rivas-Valencia P, Mora-Aguilera G, Téliz-Ortiz D y Mora-Aguilera A. 2003. Influencia de variedades y densidades de plantación de papayo (*Carica papaya* L.) sobre las epidemias de mancha anular. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21(2):109-116. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61221203>
- Rivas-Valencia P, Mora-Aguilera G, Téliz-Ortiz D y Mora-Aguilera A. 2008. Evaluación de barreras vegetales en el manejo integrado de la mancha anular del papayo en Michoacán, México. *Summa Phytopathologica* 34(4):307-312. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-54052008000400001>
- Rodríguez MD, Alonso M, Tornet Y, Valero L, Lorenzetti ER y Pérez R. 2013. Evaluación de accesiones cubanas de papaya (*Carica papaya*) ante la mancha anular. *Summa Phytopathologica* 39(1):24-27. Disponible en línea:

- [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362014000300004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362014000300004)
- Rodríguez MD, de Sousa GDP, González OJ and dos Reis FA. 2014. Molecular and biological studies of papaya ringspot virus isolates from Brazil and Cuba. *American Journal of Agriculture and Forestry* 2(5):209-218. DOI:10.11648/j.ajaf.20140205.11
- Roff MNM. 2007. Disease rating of papaya cultivars to papaya ringspot virus in Malaysia. *Acta Horticulturae*. 740:277-281. Disponible en línea: [http://www.actahort.org/books/740/740\\_34.htm](http://www.actahort.org/books/740/740_34.htm)
- Sharma SK and Tripathi S. 2016. Resistance against papaya ringspot virus in *Vasconcellea* species: present and potential uses. In: Gaur RK, Petrov NM, Patil BL and Stoyanova MI (eds.). *Plant Viruses: Evolution and Management*. Springer Science Business Media, Singapore. 312p.
- Siar SV, Beligan GA, Sajise AJC, Villegas VN and Drew RA. 2011. Papaya ringspot virus resistance in *Carica papaya* via introgression from *Vasconcellea quercifolia*. *Euphytica* 181:159-168. DOI:10.1007/s10681-011-0388-z
- Silva-Rosales L, González-de-León D, Guzmán-González S, and Chauvet M. 2010. Why there is no transgenic papaya in México. *Transgenic Plant Journal* 4: 45-51. Disponible en línea: [http://www.globalsciencebooks.info/Online/GS-Online/images/2010/TPJ\\_4\(SI1\)/TPJ\\_4\(SI1\)45-51o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GS-Online/images/2010/TPJ_4(SI1)/TPJ_4(SI1)45-51o.pdf)
- Silva-Rosales L, Becerra-Leor N, Ruiz-Castro S, Téliz-Ortiz D and Noa-Carranza JC. 2000. Coat protein sequence comparisons of three Mexican isolates of papaya ringspot virus with other geographical isolates reveal a close relationship to American and Australian isolates. *Archives of Virology* 145:835-843. DOI:10.1007/s007050050676
- Singh V, Rao GP and Shukla K. 2005. Response of commercially important papaya cultivars to papaya ringspot virus in eastern U.P. conditions. *Indian Phytopathology*. 58(2):212-216. Disponible en línea: [https://www.researchgate.net/profile/Vimla\\_Singh2/publication/268449279\\_Response\\_of\\_commercially\\_important\\_papaya\\_cultivars\\_to\\_papaya\\_ringspot\\_virus\\_in\\_eastern\\_UP\\_conditions/links/546c2aff0cf2397f7831d08a/Response-of-commercially-important-papaya-cultivars-to-papaya-ringspot-virus-in-eastern-UP-conditions.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Vimla_Singh2/publication/268449279_Response_of_commercially_important_papaya_cultivars_to_papaya_ringspot_virus_in_eastern_UP_conditions/links/546c2aff0cf2397f7831d08a/Response-of-commercially-important-papaya-cultivars-to-papaya-ringspot-virus-in-eastern-UP-conditions.pdf)
- Sit TL, Abouhaidar MG and Holy S. 1989. Nucleotide sequence of papaya mosaic virus RNA. *Journal of General Virology* 70:2325-2331. DOI:10.1099/0022-1317-70-9-2325
- Subramanya SK and Zitter TA. 2014. *Plant Virus and Viroid Diseases in The Tropics*. Vol. 2: Epidemiology and Management. Springer Netherlands. New Delhi, India. 489p.
- Sudha R, Balamohan TN, Soorianathasundaram K, Manivanan N and Rabindran R. 2013. Evaluation of F<sub>2</sub> intergeneric population of papaya (*Carica papaya* L.) for resistance to papaya ringspot virus (PRSV). *Scientia Horticulturae* 158:68-74. DOI:10.1016/j.scienta.2013.04.031
- Sudha R, Balamohan TN, Soorianathasundaram K, Rabindran R and Manoranjitham SK. 2015. Studies on resistance to papaya ring spot virus (PRSV) in intergeneric populations of *Carica papaya* L. and *Vasconcellea cauliflora*. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics* 47(2): 113-123. Disponible en línea: <http://www.sabrao.org/journals/June2015/SABRAO-J-Breed-Genet-47-2-113-123-Sudha.pdf>
- Taylor D.R. 2001. Virus diseases of *Carica papaya* in Africa: their distribution, importance, and control. Pp:25-32. In: Hughes JDA and Odu BO (eds.). *Plant virology in Sub-Saharan Africa: Proceedings of a Conference Organized by IITA: 4-8 June 2001, International Institute of Tropical Agriculture, Ibadan, Nigeria*. Africa. Disponible en línea: <http://docplayer.net/35000541-Virus-diseases-of-carica-papaya-in-africa-their-distribution-importance-and-control.html>
- Tennant PF, Fermin GA and Roye ME. 2007. Viruses infecting papaya (*Carica papaya* L.): etiology, pathogenesis, and molecular biology. *Plant Viruses* 1(2):178-188. Disponible en línea: [http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSOnline/images/0712/PV\\_1\(2\)/PV\\_1\(2\)178-188o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSOnline/images/0712/PV_1(2)/PV_1(2)178-188o.pdf)
- Tripathi S, Suzuki JY, Ferreira SA and Gonsalves D. 2008. Papaya ringspot virus-P: characteristics, pathogenicity, sequence variability and control. *Molecular Plant Pathology* 9(3):269-280. DOI:10.1111/j.1364-3703.2008.00467.x
- VanBuren R, Zeng F, Chen C, Zhang J and Wai CM. 2015. Origin and domestication of papaya Yh chromosome. *Genome Research*. 25: 524-533. <http://dx.doi.org/10.1101/gr.183905.114>
- Veena GL and Dinesh MR. 2013. Utilization of wild species and molecular markers in papaya crop improvement. *International Journal of Recent Scientific Research* 4(11):1858-1861. DOI:10.24327/IJRSR
- Vegas A, Trujillo G, Sandra Y y Mata J. 2003. Obtención, regeneración y evaluación de híbridos intergenéricos entre *Carica papaya* y *Vasconcellea cauliflora*. *Interciencia* 28(12):710-714. Disponible en línea: [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0378-18442003001200008](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442003001200008)
- Villegas VN. 2001. Approaches in developing ringspot virus resistant papaya. *Agricultural Sciences Division. Transactions of the National Academy of Science & Technology*. 23:63-70.
- Yanthan JL, C Vasugi, MR Dinesh, MK Reddy and R Das. 2017. Evaluation of F<sub>6</sub> intergeneric population of papaya (*Carica papaya* L) for resistance to papaya ring spot virus (PRSV) *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci* 6(5): 289-298. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.033>
- Yorobe J M. 2009. Costs and benefits of bioengineered papaya with resistance to papaya ringspot virus in the Philippines. Pp: 23-34. In: GW Norton and DM Hautea (eds.). *Projected impacts of agricultural biotechnologies for fruits & vegetables in the Philippines & Indonesia*. ISAAA-SEAMEO, Philippines. 184 p. Disponible en línea: [https://www.isaaa.org/programs/impact\\_assessment\\_of\\_crop\\_biotechnology/download/Costs%20and%20Benefits%20of%20PRSV-resistant%20Papaya.pdf](https://www.isaaa.org/programs/impact_assessment_of_crop_biotechnology/download/Costs%20and%20Benefits%20of%20PRSV-resistant%20Papaya.pdf)