

**UNIVERSIDAD NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA TIERRA Y EL MAR
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS
LICENCIATURA EN AGRONEGOCIOS**

Identificación morfológica y molecular del complejo *Empoasca* asociado a la enfermedad del pecíolo rayado de papaya (*Carica papaya* L.) en Guácimo, Limón

Trabajo final de graduación bajo la modalidad de proyecto de graduación sometido a consideración del Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía

Estudiante

Bach. Flor Castellón Canales

Tutor

Ph.D. Ramón Molina Bravo

Asesores

M.Sc. Allan González Herrera
M.Sc. Lisela Moreira Carmona

Heredia, Costa Rica, 2025

Identificación morfológica y molecular del complejo *Empoasca* asociado a la enfermedad del pecíolo rayado de papaya (*Carica papaya* L.) en Guácimo, Limón

Estudiante
Flor Castellón Canales

Trabajo final de graduación bajo la modalidad de proyecto de graduación sometido a consideración del Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional para optar por el grado de Licenciatura en Ingeniería en Agronomía

DEDICATORIA

A mi hermana Dilana Castellón Canales, por ser un ejemplo para mí de fuerza, dedicación, ser siempre el apoyo más fuerte e incondicional tanto en la parte académica como personal y ser quien me dió fuerzas para concluir esta etapa. ¡Por siempre te amo!

AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a mis padres y hermanos por siempre estar a mi lado y apoyarme en todos los diferentes procesos por los que he ido pasando, son un pilar importante en mi vida.

A mi amigo Roberto Godínez Sánchez por ser parte de mi crecimiento profesional, por brindarme siempre su compañía y por ser un apoyo incondicional.

A mi tutor Ramón Molina-Bravo, por su apoyo constante y por ser una guía fundamental a lo largo de este proyecto.

A mis asesores Allan González Herrera, por su acompañamiento y orientación continua durante todo el proceso, y Lísela Moreira Carmona, por su dedicación, profesionalismo y valiosa guía y orientación académica.

A Irena Hilje Rodríguez, por su ayuda y colaboración en el desarrollo de la parte de laboratorio.

A mi compañero Arturo Arrieta Arrieta, por su apoyo y colaboración en la parte morfológica.

A Adilson Pinedo Escatel y Alejandro Vargas Martínez, por su valiosa colaboración y disposición para contribuir en este proyecto.

INDICE GENERAL

RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
GENERAL	3
ESPECÍFICOS	3
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1. Cultivo de Papaya	4
3.2. Plagas y enfermedades	5
3.3. Familia Cicadellidae	5
3.4. Virus en plantas	7
3.5. Virus que afectan a la papaya	9
3.6. Rhabdoviridae	10
3.7. Identificación molecular	11
4. METODOLOGÍA	12
4.1. Ubicación de área de estudio	12
4.2. Evaluación visual y muestreo en finca	12
4.3. Identificación taxonómica morfológica y molecular de las microchicharritas.	14
4.3.1. Identificación morfológica	14
4.3.2. Amplificación de la subunidad I del gen de la citocromo oxidasa (COI)	14
4.3.3. Análisis de secuencias y filogenia	15
4.4. Detección molecular de rhabdovirus en muestras foliares de papaya y en microchicharritas.	16
4.4.1. Extracción de ARN total de las muestras.	16
4.4.2. Retrotranscripción	17
4.4.3. Amplificación mediante PCR	17
5. RESULTADOS	17
5.1. Identificación morfológica y molecular de <i>M. judokuatara</i> .	20
5.2. Detección molecular de rhabdovirus en papaya	29
	iii

6. DISCUSIÓN	30
7. CONCLUSIONES	34
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Resumen de la similitud (%) de secuencias parciales del gen COI de <i>M. judokuatare</i>	23
Tabla 2 Resumen de los seis registros con mayor similitud nucleotídica en la base BOLD para secuencias COI de <i>M. judokuatare</i>	25
Tabla 3 Resumen de la similitud nucleotídica de secuencias COI de <i>M. judokuatare</i> en GenBank.	26
Tabla 4 Resumen de la similitud nucleotídica de secuencias COI de <i>M. judokuatare</i> en BOLD Systems.....	26

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Croquis del lote seleccionado en ASOPROPA, Guácimo, Limón.	13
Figura 2 Plantas de papaya de 4 meses post-trasplante.....	18
Figura 3 Plantas de papaya de 5 meses.	19
Figura 4 Plantas de papaya de 5 meses.	19
Figura 5 Plantas de papaya de 8 meses.	20
Figura 6 Vista a 40× de las estructuras genitales de un macho de <i>M. judokuatara</i>	21
Figura 7 Vista a 40× del edeago de un macho de <i>M. judokuatara</i>	21
Figura 8 Fotografía de <i>M. judokuatara</i> tomada en Guácimo, Limón, Costa Rica.	22
Figura 9 Espécimen de Hymenoptera PLAAI1023-18 (Aphelopinae: Dryinidae).	27
Figura 10 Dendrograma de la historia evolutiva de <i>Matsumurasca judokuatara</i> basado en secuencias COI.	28
Figura 11 Geles de agarosa al 1 % con productos de amplificación de ADNc	29

RESUMEN

La enfermedad conocida como pecíolo rayado en Costa Rica afecta la producción de papaya (*Carica papaya* L.), su agente causal no se había identificado molecularmente. El objetivo de este estudio fue verificar la presencia de Rhabdovirus en plantas de papaya y en microchicharritas por medio de caracterización morfológica y molecular. Se realizó el seguimiento por diez meses en campo documentando síntomas característicos de la enfermedad: pecíolo rayado de color purpura-rojizo y con curvatura, frutos verticales, menor densidad de follaje apical, y maduración retardada. El vector reportado en Costa Rica para pecíolo rayado era *Empoasca papayae*; sin embargo, no se logró determinar su presencia en los muestreos realizados en el lote en estudio, y no se encontró información en la literatura consultada que reporte su presencia en la provincia de Limón. El análisis taxonómico de este estudio determinó la presencia de la microchicharrita *Matsumurasca judokuatara* en el lote muestreado. Por medio de la Transcripción Reversa acoplada a Reacción en Cadena de la Polimerasa, se amplificó un producto de 900 pb en cinco de las nueve plantas sintomáticas con lo que se logró detectar un nucleorhabdovirus basado en un fragmento parcial del gen de la nucleoproteína, mostrando similitud con un papaya nucleorhabdovirus reportado en México. En *M. judokuatara* no se detectó el rhabdovirus. Se logró correlacionar la identificación morfológica y molecular de la nueva especie reportada en el país *M. judokuatara*, en la cual se presentan las primeras secuencias moleculares para dicha especie.

Palabras clave: Rhabdovirus, *Matsumurasca*, *Empoasca*, pecíolo rayado, microchicharritas.

ABSTRACT

The disease known as “peciolo rayado” in Costa Rica affects papaya (*Carica papaya* L.) production; its causal agent had not been molecularly identified. The objective of this study was to verify the presence of Rhabdovirus in papaya plants and microleafhoppers through morphological and molecular characterization. A ten-month field monitoring was conducted documenting characteristic disease symptoms: streaked petiole and purple-reddish coloration with curvature, vertical fruits, reduced apical foliage density, and delayed ripening. The vector previously reported in Costa Rica for striped petiole was *Empoasca papayae*; however, its presence could not be determined in the samplings conducted in the study plot, and no information was found in the consulted literature reporting its presence in the province of Limón. Taxonomic analysis in this study identified the microleafhopper *Matsumurasca judokuatare* in the sampled plot. Using Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction, a 900 bp product was amplified in five of the nine symptomatic plants, which allowed the detection of a nucleorhabdovirus based on a partial fragment of the nucleoprotein gene, showing similarity to a papaya nucleorhabdovirus reported in Mexico. The rhabdovirus was not detected in *M. judokuatare*. The correlation between morphological and molecular identification was achieved for *M. judokuatare*, a newly reported species in the country, for which the first molecular sequences are presented.

Keywords: Rhabdovirus, *Matsumurasca*, *Empoasca*, peciolo rayado, microleafhoppers.

1. INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya* L.) pertenece a Caricaceae y es la especie más conocida del género *Carica* (De la Cruz et al. 2003). Según Valencia et al. (2017), en la actualidad, la papaya está presente en todos los países tropicales y subtropicales del mundo, considerándose una especie de importancia económica debido a que es la tercera fruta más consumida en el mundo; India, Brasil, Indonesia y México son los principales productores de dicho producto.

En Costa Rica, el cultivo de papaya se destina para satisfacer el mercado nacional. Sin embargo, debido a la creciente demanda internacional se han implementado programas de siembra constante para garantizar una oferta continua para la exportación (Promotora de Comercio Exterior de Costa Rica [PROCOMER], 2025). En el país, se cultiva principalmente el híbrido ‘Pococi’ ya que se caracteriza por ser homogéneo, de alto rendimiento y por ser una fruta de buen sabor (Barrantes et al. 2019).

Según Bogantes et al. (2011), la papaya es susceptible a gran cantidad de plagas y enfermedades que se desarrollan de forma rápida. La detección temprana ayuda a mantener un adecuado manejo del cultivo, disminuir las pérdidas y la dependencia a agroquímicos con el fin de ofrecer un producto de calidad al mercado nacional e internacional.

Las microchicharritas del género *Empoasca* y *Matsumurasca* son plagas que afectan el cultivo de papaya (Arrieta-Arrieta et al. 2025; Bogantes 2011). Éstos transmiten enfermedades como el *Papaya Bunchy Top* (PBT) y se sospecha que también la necrosis apical de la papaya, una enfermedad asociada a un nucleorhabdovirus que se ha reportado en varios países de la región del Caribe, sin embargo, aún se desconoce si es una especie o un complejo (conjunto de especies del mismo género) asociados a la transmisión de dicha enfermedad (Becerra et al. 1999; Moreira, L, comunicación personal, 2023).

En la zona del Caribe costarricense, se ha informado de infecciones por un nucleorhabdovirus en papaya, el cual puede estar relacionado con el virus de la necrosis apical de la papaya (VNAP) que fue reportado por primera vez en Venezuela por Lastra y Quintero, (1981). La infección inicial de VNAP es el amarillamiento de las hojas maduras, marchitamiento de las hojas jóvenes, necrosis y muerte de la parte apical de la planta. También, se han reportado rhabdovirus similares en México, Cuba y EE. UU. (Florida). En este último, las plantas presentaron síntomas como flexión de la sección superior de la corona con abultamiento, y posteriormente, la necrosis y la muerte de la planta (Becerra et al. 1999; Medina et al. 2019; Lastra y Quintero, 1981; Teixeira et al. 2007).

En el caso de Costa Rica, se ha informado que existe una sintomatología similar a la mencionada anteriormente. La enfermedad es conocida localmente como pecíolo rayado dado a que éste es uno de los principales síntomas que se observa en algunas variedades. Los síntomas inician cuando los pecíolos se doblan, presentan estrías o rayas oscuras, los entrenudos se acortan y las plantas disminuyen producción debido a disminución o cese de floración y cuaje de frutos. Otros síntomas que presentan las plantas es el marchitamiento del cogollo el cual puede abrirse y perder tamaño. Sin embargo, se desconoce si corresponde a la misma enfermedad descrita en otros países conocida como necrosis apical de la papaya (León, 2022; Moreira, L, Comunicación personal, 2023). Esta incógnita se puede dilucidar por medio de la secuenciación nucleotídica del virus involucrado en cada caso.

En Costa Rica, asociadas al cultivo de papaya, se han reportado las microchicharritas *M. laceiba* (anteriormente *E. laceiba*; Ross & Cunningham, 1960) y *M. canavalia* (De Long, 1932), *M. dilitara* (De Long, 1932 y Davidson,1935) y *M. (Solanasca) judokuatara*, una nueva especie descrita por Arrieta-Arrieta et al., (2025). A nivel epidemiológico, se destaca la importancia de la especie *M. papayae* (anteriormente *E. papayae*) como el vector principal para la rickettsia asociada a la enfermedad del PBT y potencial vector de un rhabdovirus asociado en el país a la enfermedad conocida como pecíolo rayado (Arrieta-Arrieta et al., 2025; Bogantes et al., 2010; Moreira, L, Comunicación personal, 2023). Sin embargo, también se ha reportado a *M. stevensi* como potencial vector del PBT en Trinidad y Tobago (Davis et al., 1995).

Debido a la importancia anteriormente expuesta y en la búsqueda por encontrar evidencias de que *Matsumurasca* (anteriormente identificada como *Empoasca*) es un potencial transmisor de la enfermedad del pecíolo rayado, es que en el presente trabajo se realizaron pruebas para su identificación, tanto molecular como morfológica, así como de los posibles vectores relacionados a la transmisión del rhabdovirus en el cultivo de papaya costarricense y del virus en sí mismo.

2. OBJETIVOS

GENERAL

Verificar la presencia de Rhabdovirus en *Empoasca* spp. y papaya por medio de características morfológicas y pruebas moleculares en la zona Caribe de Costa Rica, para la determinación de su posible asociación con la enfermedad del pecíolo rayado.

ESPECÍFICOS

- Identificar taxonómicamente las especies asociadas al complejo *Empoasca* spp. por medio de características morfológicas y las secuencias nucleotídicas parciales de la subunidad I del gen de la citocromo C oxidasa (COI).
- Detectar por medio de técnicas moleculares en el complejo *Empoasca* spp. la presencia del Rhabdovirus en fincas de papaya.
- Detectar la presencia de Rhabdovirus en plantas de papaya, mediante pruebas de laboratorio, secuenciación y análisis de datos.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Cultivo de Papaya

Carica papaya L. pertenece a la familia Caricaceae, es la única especie de dicho género, se ha postulado que esta especie es originaria de América Central, sin embargo, se encuentra distribuida por diferentes regiones del trópico y subtropical americano (Bogantes et al. 2011). Esta especie se ha descrito como una planta herbácea perenne que puede alcanzar los 9 m de altura, presenta un tronco en el que se desarrollan sus hojas, flores y frutos; siendo tres años su etapa de mayor producción después de esa edad aumenta la altura y dificulta la cosecha, además que el rendimiento disminuye (Bogantes et al. 2011; Hewajulige & Dhekney, 2016).

La papaya es una especie tríoica, en la etapa productiva desarrolla flores según su sexo: masculina (estaminada), femenina (pistilada) y hermafrodita (elongadas). Las flores femeninas son grandes y se mantienen pegadas al tallo; las masculinas son pequeñas, abundantes y se desarrollan en inflorescencias colgantes. Las flores hermafroditas son un intermedio entre las dos anteriores. (Barrantes et al. 2019; Huang et al. 2020). Las plantas hermafroditas poseen un alto valor comercial debido a que, la fruta presenta una forma alargada que favorece su comercialización ya que, se necesita de contenedores con menos volumen, poseen menor cavidad donde se encuentran las semillas, y son frutas más firmes lo que ayuda a tener menos daños postcosecha (Barrantes et al., 2019; Huang et al. 2020).

Según Velasco (2020), los principales países productores de papaya son India, Brasil, México e Indonesia. La producción mundial ronda los 15,5 millones de toneladas métricas (t.m), donde México y Brasil son los mayores exportadores; y EE. UU. y los países europeos son los principales importadores del fruto. Para el 2022, en Costa Rica hubo una producción de 62 022 t.m de las cuales la mayor parte de la producción (76%) se comercializó a nivel local y el (24%) se destinó para exportación, siendo Canadá (88%) el principal mercado, seguido de EE. UU. (6%), Italia (3%) y Colombia (1%) respectivamente (FAOSTAT, 2025; PROCOMER, 2025). La zona Atlántica especialmente Guácimo, Cariari, Río Frío, y La Rita, son regiones importantes en la producción del cultivo en esa zona (PROCOMER, 2025).

Según Bogantes et al. (2011), en Costa Rica, se siembran diferentes variedades tales como las criollas Lucia y Parriteña, también Solo Sunset y Sunrise desarrolladas en Hawái, y variedades como Maradol originaria de Cuba. Sin embargo, desde el 2004 el híbrido Pococí desarrollado en Costa Rica, ha tenido mayor relevancia debido a que, es un producto homogéneo, de alto rendimiento, buen sabor, su peso ronda entre 1 a 1,5 kg y es poco afectado por la esterilidad femenina. En los últimos años se

ha registrado una disminución del área productiva del cultivo a nivel nacional, lo que ha generado una oferta poco constante y con una calidad variable para el mercado de exportación, esta situación se debe a diversos factores, entre ellos las afectaciones climáticas, la falta de organización del sector productivo y, principalmente, los problemas fitosanitarios (Montero, 2021).

3.2. Plagas y enfermedades

La presencia de plagas y enfermedades en papaya pueden causar pérdidas económicas severas en la producción, comercialización y exportaciones de la fruta fresca. Los problemas pueden ocurrir en vivero, campo y postcosecha (Jiménez, 2002). Durante el ciclo del cultivo una planta puede ser destruida por una o la combinación de varias enfermedades, por ello, es importante que haya un manejo integral de plagas y enfermedades (Ventura et al. 2006).

Huerta (2016), menciona que algunas de las enfermedades más importantes a nivel mundial que se afectan el cultivo son: mancha anular de la papaya (PRSV) que se considera una de las más destructivas en el cultivo, antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), la cual generalmente ataca en épocas de floración y maduración de la papaya, tiro al blanco o PBT (*Rickettsia* sp.), pudrición de la raíz y del fruto por *Phytophthora*, *Cladosporium* sp., y *Fusarium* sp. Por otra parte, señalan que con relación a las plagas que afectan al cultivo se encuentran ácaros (*Tetranychus urticae*), áfidos (*Aphis* spp. *Myzus persicae*), mosca blanca (*Trialeurodes variabilis*), mosca de la papaya (*Anastrepha curvicauda*), y hemípteros, principalmente los cicadélidos (*Matsumurasca* spp. y *Empoasca* spp.). (Huerta, 2016; Arrieta-Arrieta, 2025).

3.3. Familia Cicadellidae

Según Pinedo-Escatel & Moya-Raygoza, (2018), la familia Cicadellidae (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadomorpha) posee una gran diversidad morfológica en la cual sus adultos varían en tamaño desde 0.2 milímetros (mm) a 15 mm. Estos insectos presentan una diversa gama de patrones de color las que van desde tonalidades intensas hasta colores uniformes, son mayormente conocidos como chicharritas y se encuentran en todos los ecosistemas terrestres, exceptuando a zonas extremadamente frías. En la actualidad, a nivel mundial, se han descrito alrededor de 22.000 especies que se consideran de importancia agrícola debido a que, muchos son vectores de patógenos virales y bacterianos transmitiendo enfermedades siendo esto una amenaza en la productividad agrícola en las diversas regiones del mundo, lo que resalta la necesidad de estudios taxonómicos y epidemiológicos más precisos sobre este grupo.

Los cicadélidos se caracterizan principalmente por rasgos morfológicos que suelen ser distintivos entre los cuales se pueden destacar el pronoto que no alcanza la sutura escutelar, el escutelo reducido, la sutura mesotorácica que separa el anepisterno del katepisterno y la ausencia de procesos dorsales en el mesoepisterno, además de la presencia de brocosomas como sinapomorfía (Paradell & Cavichioli, 2014). Su clasificación varía según los autores, en las que, suelen encontrarse desde 10 a más de 50 subfamilias, aunque se reconocen alrededor de 20 en la región Neotropical. Entre ellas, *Deltocephalinae* y *Typhlocybinae* las cuales se destacan por su distribución mundial, la alta diversidad y su capacidad de adaptación, como también a que están asociadas diversas plantas hospederas (Paradell & Cavichioli, 2014).

La tribu más diversa de *Typhlocybinae* es *Empoascini*, con más de 1000 especies descritas, distribuidas principalmente en regiones tropicales y subtropicales. En *Empoascini* se encuentra el género *Empoasca* y de acuerdo con una clasificación reciente realizada por Xu et al. (2021), se ha segregado en dos agrupaciones: por un lado, *Empoasca (sensu stricto)* y por el otro *Matsumurasca*; este último dividido en tres subgéneros: *Insulariasca*, *Matsumurasca*, y *Solanasca* que se identifican por medio de combinaciones únicas de caracteres apomórficos. Con este recién ordenamiento, *Empoasca* tiene 53 especies validadas y en cambio *Matsumurasca* alberga 211 especies.

Según el análisis filogenético realizado por Xu et al. (2021), algunas especies en *Matsumurasca* agruparon con otros grupos de especies de *Empoasca*, incluyendo tanto especies nuevas como otras históricamente descritas basándose en características morfológicas, como la presencia de un ángulo basolateral lameliforme en la placa subgenital masculina, siendo ésta una característica principal del subgénero, además de la segunda célula apical pedunculada del ala anterior, la presencia de procesos pareados en la base del edeago, y ausencia de un grupo de setas basolaterales en el pigofer.

Con esta circunscripción de ambos géneros, muchas especies descritas en *Empoasca* de Centroamérica, América del Sur y otras regiones del planeta, fueron reasignadas en *Matsumurasca*, resultando en que algunas especies presentes en Costa Rica pertenezcan ahora a *Matsumurasca* y no a *Empoasca* (Xu et al. 2021).

Empoasca y *Matsumurasca* se encuentran distribuidos alrededor del mundo con una diversidad de plantas hospederas muy amplia y, por citar algunos ejemplos, encontramos las siguientes: *Musa* spp, *Phaseolus vulgaris*, *Apium graveolens*, *Cucumis sativus*, y *Carica papaya*. Dichos insectos poseen piezas bucales picadoras-chupadoras que perforan las células vegetales

succionando la savia de la epidermis de los tejidos, generando un debilitamiento general en la planta (Arroyo et al. 2015; CABI, 2021; Jiménez, 2002; Xu et al. 2021).

Las especies *Empoasca kraemeri*, *E. fabae* y *M. papayae* pueden convivir simultáneamente en el cultivo de frijol (Sánchez et al. 2016). Por ello, es posible que las diversas especies de *Empoasca* o *Matsumurasca* también puedan estar relacionadas en los cultivos de papaya. No obstante, las especies asociadas al cultivo de papaya en Costa Rica no están totalmente reportadas solo se tiene registros de *M. papayae*, *M. judokuatarae*, y *M. laceiba* (Arrieta-Arrieta et al. 2025; Bogantes et al. 2010).

Empoasca y *Matsumurasca* se destacan como uno de los géneros más estudiados a nivel mundial, debido a su alto impacto agrícola, amplia plasticidad ecológica y capacidad de colonizar desde cultivos anuales, hasta frutales y ornamentales. Sin embargo, la identificación precisa de especies sigue siendo un reto por la similitud morfológica, lo que hace imprescindible el uso de herramientas moleculares en estudios taxonómicos y de diagnóstico (Xu et al. 2021).

La identificación morfológica de las especies de este género es difícil, dado que presentan caracteres morfológicos externos muy similares y detalles internos que requieren un arduo trabajo de exploración (Arroyo et al. 2015). También la cuantificación de variabilidad por medio de la morfología presenta inconvenientes como la baja variabilidad e influencia ambiental (Gilarriortua et al. 2015).

Según Cinco (2019), *Empoasca* puede crear una interacción tripartita, la que consiste en que la plaga se alimenta de un hospedante del patógeno, ya sea en plantas del cultivo, o arvenses de diferentes especies, una vez que se alimenta de éstas, el insecto se convierte en vector de los patógenos asociados a la enfermedad y la propaga al alimentarse del cultivo en interés. De dicha forma, se conoce que infecta fitoplasmas a las plantas de papaya, por ejemplo, una rickettsia, causante del *PBT* y se le ha asociado a un tipo de virus relacionado con la necrosis apical de la papaya (Jiménez, 2002).

3.4. Virus en plantas

Los fitopatógenos son grupos de microorganismos que causan enfermedades en las plantas y pueden ocasionar pérdidas económicas en el sector agrícola, después de los hongos, los virus son los fitopatógenos más relevantes y se componen por partículas que contienen ácido nucleico (ARN o ADN) encapsulado en una capa proteica. Por lo general, los virus miden pocos nanómetros e infectan las plantas siendo una amenaza significativa para la agricultura y la seguridad alimentaria (Kanapiya et al. 2024).

De acuerdo con Jiang & Zhou (2023), los virus son patógenos microscópicos que se replican dentro de las células de las plantas, donde utilizan diferentes estrategias para manipular su mecanismo

molecular y favorecer su ciclo de vida, provocando síntomas como decoloración foliar, retraso en el crecimiento, marchitamiento, necrosis y deformaciones en estructuras de la planta. La interacción virus-hospedero implica la alteración de procesos celulares esenciales, como la función del cloroplasto, la regulación hormonal y cambios en el ciclo celular. Además de su efecto sobre los procesos celulares, los virus desencadenan respuestas defensivas en la planta que modifican las vías metabólicas y la expresión génica, generando efectos desfavorables.

Los factores ambientales como la luz y la temperatura influyen en la severidad de los síntomas, lo que añade una mayor complejidad al manejo de los virus. Es importante comprender las interacciones con sus hospederos y el ambiente para diseñar estrategias eficaces de detección, prevención y control, asegurando así la estabilidad de la producción agrícola y la protección de la seguridad alimentaria global (Jiang & Zhou, 2023).

Los virus pueden transmitirse de forma natural por medio de dos mecanismos de transmisión vertical y horizontal, la transmisión vertical es por medio de una planta enferma a su descendencia, se transmite por medio de semillas, polen o óvulos; en el caso de las semillas alrededor de un tercio de los virus que afectan a las plantas se transmiten por esta vía causando pérdidas en los cultivos (Jiang & Zhou, 2023). Las semillas infectadas por virus causan problemas de desarrollo en las etapas tempranas de las plantas, tal como malformaciones en plántulas, y deterioro de estructuras celulares como los cloroplastos que desempeñan un papel importante en la fotosíntesis. No todos los virus se infectan por el embrión de la semilla, también puede causar la contaminación por la cubierta de la semilla infectando a la plántula en germinación. La transmisión de virus puede darse en zonas geográficas en donde no se encuentran presentes por medio de la dispersión de las semillas (Escalante et al. 2024).

También se puede presentar la transmisión por polen, donde los virus asociados al polen generalmente se encuentran en el exterior o interior de los granos de polen, y pueden estar presentes en el meristemo floral en las primeras etapas de desarrollo de las plántulas. La invasión viral ocurre en los granos de polen cuando una célula madre de una microspora infectada se divide, generando espermatozoides y células vegetativas infectadas. Pueden adherirse al exterior de los granos de polen cuando una antera infectada se descompone y forma el polen. Éstos pueden transmitirse de forma vertical, horizontal o por ambas vías (Fetters & Ashman, 2023).

Respecto a la transmisión horizontal, ésta ocurre por medio de insectos, humanos, mecánicamente por equipos agrícolas o herramientas, o incluso por hongos y nemátodos (Jiang & Zhou, 2023). La transmisión por medio de insectos vectores es uno de los mecanismos más frecuentes;

los vectores más comunes son áfidos, moscas blancas, trips y chicharritas. Dependiendo del tiempo en que el virus es retenido en el vector y cómo interactúa con sus tejidos, la transmisión del virus se clasifica como: no persistente, semipersistente y persistente (Di Mattia et al. 2023; Wendimu & Gurmu, 2024).

De acuerdo con (Di Mattia et al. 2023; Wendimu & Gurmu, 2024), en la transmisión no persistente: el virus se adquiere y transmite en segundos o minutos, sin circular dentro del cuerpo del insecto, por lo general se adhiere por el estilete. En la transmisión semipersistente el virus se retiene por horas o días en el esófago sin replicarse dentro del vector. En la transmisión persistente el virus atraviesa la pared intestinal, circula por la hemolinfa y alcanza las glándulas salivares, desde donde puede transmitirse durante toda la vida del insecto. Por último, la transmisión puede dividirse en circulativa y no circulativa que depende de si el virus se moviliza por el cuerpo del vector, y a su vez la circulativa se subdivide en propagativa (con replicación viral), y, no propagativa (sin replicación).

Los virus propagados por cicadélidos, por lo general circulan dentro de las glándulas salivales, donde adoptan un mecanismo similar a la exocitosis, lo que puede facilitar la transmisión cuando el insecto se alimenta de la planta. Sin embargo, los cicadélidos poseen una fase de transmisión persistente propagativa que varía de 2 a 14 días. La epidemiología de los virus en plantas puede ser transmitida por vectores y depende directamente de su biología, incluyendo el ámbito de hospedadores y las preferencias alimentarias (De Almeida et al. 2024; García-Cámara et al. 2019).

3.5. Virus que afectan a la papaya

Según Nivetha et al. (2025), las enfermedades virales son un gran desafío en el cultivo de papaya debido a que provocan reducciones en el rendimiento en el cultivo lo que afecta la producción comercial. Actualmente el virus más relevante y extendido a nivel mundial que afecta la papaya es el virus de la mancha anular de la papaya (PRSV), un potyvirus que causa síntomas como mosaico, clorosis, deformación foliar, manchas anulares y reducción en la producción. debido a que puede inducir pérdidas de rendimiento entre el 50% al 100%. Otro es el virus del rizado de la hoja de papaya (PaLCuV) representa otra amenaza importante. Se ha informado que las infecciones mixtas de PRSV y PaLCuV causan la pérdida total de los cultivos.

En América Latina las tres enfermedades causadas por virus que afectan la producción de papaya son el PRSV, el virus del mosaico de la papaya (PapMV) y el virus meleira de la papaya (PMeV) reportados en Brasil y México (Zarco, 2022). Respecto a Costa Rica un virus reportado en papaya ha surgido de reportes de un rhabdovirus conocido como peciolo rayado (León et al. 2022).

3.6. Rhabdoviridae

La familia *Rhabdoviridae* pertenece al Orden Monogenavirales, actualmente se conocen alrededor de 30 géneros y 191 especies virales, las que infectan a diferentes organismos tales como mamíferos, invertebrados, y plantas económicamente importantes en la producción agrícola. Los virus de esta familia presentan envolturas membranosas tomadas de membranas de las células y poseen genomas de ARN de cadena simple, lineales no segmentados con orientación en sentido negativo (Maurino, 2016; Walker et al. 2018).

De acuerdo con Wait (2021), existen varios géneros de la familia *Rhabdoviridae* que incluyen especies virales que pueden infectar las plantas, los cuales son el *Alpha-*, *Beta-*, *Gammanucleorhabdovirus*, *Cytorhabdovirus*, *Dichorhavirus* y *Varicosavirus*. En referencia a los *Nucleorhabdovirus* y *Cytorhabdovirus*, éstos se multiplican y acumulan en “fábricas” virales formadas en las membranas celulares y para su clasificación se considera el sitio de multiplicación según se produzca en las membranas del núcleo (*Nucleorhabdovirus*) o citoplasmáticas (*Cytorhabdovirus*), además, son transmitidos por vectores como áfidos, y chicharritas, mientras que los *Dichorhavirus* son transmitidos por ácaros del género *Brevipalpus*. Se pueden transmitir de forma persistente propagativa. Este modo de transmisión requiere que el virus infecte varios tipos de tejidos del vector, lo que resulta en interacciones virus-vector íntimas y altamente específicas.

Los rhabdovirus que infectan plantas se han encontrado en una amplia gama de hospederos, incluyendo arroz, maíz, zanahoria, fresa entre otros. En plantaciones comerciales de papaya en Venezuela, Florida (EE. UU) y México, se reportaron *Nucleorhabdovirus*, y asociados a los síntomas de amarillamiento de las hojas, necrosis apical y muerte en las plantas (Medina et al. 2019).

De acuerdo con Gaafar et al. (2019), el género *Nucleorhabdovirus* cuenta con diez especies determinadas, se transmiten por cicadélidos (*Cicadellidae*), fulgoromorfos (Delphacidae) y áfidos (*Aphididae*). Algunos pueden transmitirse durante la propagación vegetativa o de forma mecánica y se replican tanto en plantas como en insectos vectores. En las células vegetales, se replican en el núcleo, el cual se agranda y desarrolla inclusiones nucleares granulares. Poseen genomas no segmentados y, al igual que otros rhabdovirus, presentan regiones reguladoras altamente conservadas que separan sus genes, así como secuencias complementarias 3' líder (l) y 5' cola (t). La secuencia complementaria 3'l y 5't tienen la capacidad potencial de formar una posible estructura en horquilla que se sugiere participa en la replicación del genoma.

Según Wait (2021), los rhabdovirus se transmiten de forma natural por una o pocas especies relacionadas, con el biotipo del insecto y la raza del virus. La resistencia de la planta huésped a los

rhabdovirus está poco estudiada, por lo que, la identificación y el manejo adecuado del vector son fundamentales para evitar daños en el cultivo. Actualmente con ayuda de tecnologías de secuenciación de alto rendimiento y las herramientas bioinformáticas, ha aumentado el número de rhabdovirus descritos. No obstante, existen muchos que aún no se han reconocido por el comité internacional de taxonomía viral.

3.7. Identificación molecular

Los análisis de la biología molecular permiten descifrar la información del material genético de diferentes organismos con herramientas que se basan en el uso de marcadores moleculares los cuales son segmentos de ADN con una ubicación física identificable en el cromosoma, y que es rastreable (Gijón et al. 2021). Las regiones específicas de ADN se desempeñan como una etiqueta para identificar especies, incluyendo insectos en cualquier estadio. La aplicación de herramientas moleculares surge con el establecimiento de protocolos para la extracción de ácidos nucleicos (ADN y ARN), el desarrollo de la técnica de Reacción de Cadena Polimerasa (PCR), la retro transcripción, la secuenciación y el acceso a la información digital por medio de la bioinformática, “softwares” y bases de datos, nos permiten obtener datos confiables y resultados reproducibles (Gijón et al. 2021).

La técnica basada en la PCR facilita el análisis de secciones del genoma de los organismos debido a su capacidad de amplificar el material genético. Esta amplificación se realiza con la acción de la enzima ADN polimerasa que cumple una función de sintetizar una cadena sencilla de ADN complementaria a otra que sirve como modelo, reconstruyendo así la doble cadena de ADN que contiene la información genética de interés (Gamboa, 2019).

Se han desarrollado cebadores (“primers”) universales y específicos para detectar virus en plantas e insectos. Para rhabdovirus de plantas, Lamprecht et al. (2009), desarrollaron los cebadores Rhab F y Rhab R, los que se dirigen a una región conservada del gen N que codifica la nucleoproteína y permiten amplificar un fragmento de aproximadamente 900 pb, en su estudio trabajaron con pastos del género *Cynodon* spp. (pasto bermuda) infectados con rhabdovirus y los compararon con las secuencias de otros rhabdovirus, como el virus del mosaico del maíz (VMM) y el de la clorosis de las venas del taro (TaVVCV). Siendo estos cebadores una herramienta para detectar e identificar rhabdovirus molecularmente (Lamprecht et al. 2009).

Por otra parte. los cebadores universales LCO1490 y HCO2198 diseñados por Folmer et al. (1994), se utilizan para estudios taxonómicos, filogenéticos y de identificación de especies por medio del gen citocromo C oxidasa subunidad I (COI O COX), esta región COI es reconocida como

marcador genético estándar para el código de barras de ADN en una amplia gama de organismos, incluidos los insectos (Hebert et al. 2003).

Las secuencias nucleotídicas parciales del gen COI son aproximadamente de 648 pb, siendo este el fragmento estándar con una precisión de 98% para distinguir entre las diferentes especies animales. Una vez obtenido el código de barras de ADN, los datos de la secuencia se pueden analizar por medio de comparación entre secuencias de bases de datos, tales como GenBank y BOLD Systems (Yang et al. 2018). La región parcial se selecciona por su nivel de variabilidad genética la que ayuda a distinguir entre especies cercanas, pero permite conservar los alineamientos comparativos (Watanabe et al. 2024).

La secuenciación es uno de los métodos más efectivos para determinar la diversidad de un organismo, debido a que permite realizar una comparación y análisis entre la variación de las secuencias de diferentes taxones. Existen diversos métodos para realizar el análisis de secuencias, no obstante, la utilización de cada uno posee diferente complejidad del género a estudiar (Paredes & Yugsi, 2016).

4. METODOLOGÍA

4.1. Ubicación de área de estudio

La investigación se realizó en el distrito de Jiménez, cantón de Pococí, provincia de Limón, en un lote de papaya variedad Pococí con manejo convencional perteneciente a la Asociación de Productores de Papaya (ASOPROPA), ubicada en las coordenadas 10°14'47.5"N 83°44'11.1"W. El lote seleccionado se encontraba rodeado de otros lotes de papaya y caminos entre ellos.

La parcela se ubica en una zona de uso agrícola la cual está delimitada por cuatro caminos, tres limitan con parcelas de papaya que pertenecen a diferentes miembros de ASOPROPA, cada parcela presenta un manejo agronómico diferente y hay un camino principal que limitaba el área boscosa. En la parcela había 230 plantas, 23 por era, el productor realizaba aplicaciones periódicas para el control de arvenses, insectos y fitopatógenos, así como el uso intensivo de fibra de coco como cobertura (Figura 1).

4.2. Evaluación visual y muestreo en finca

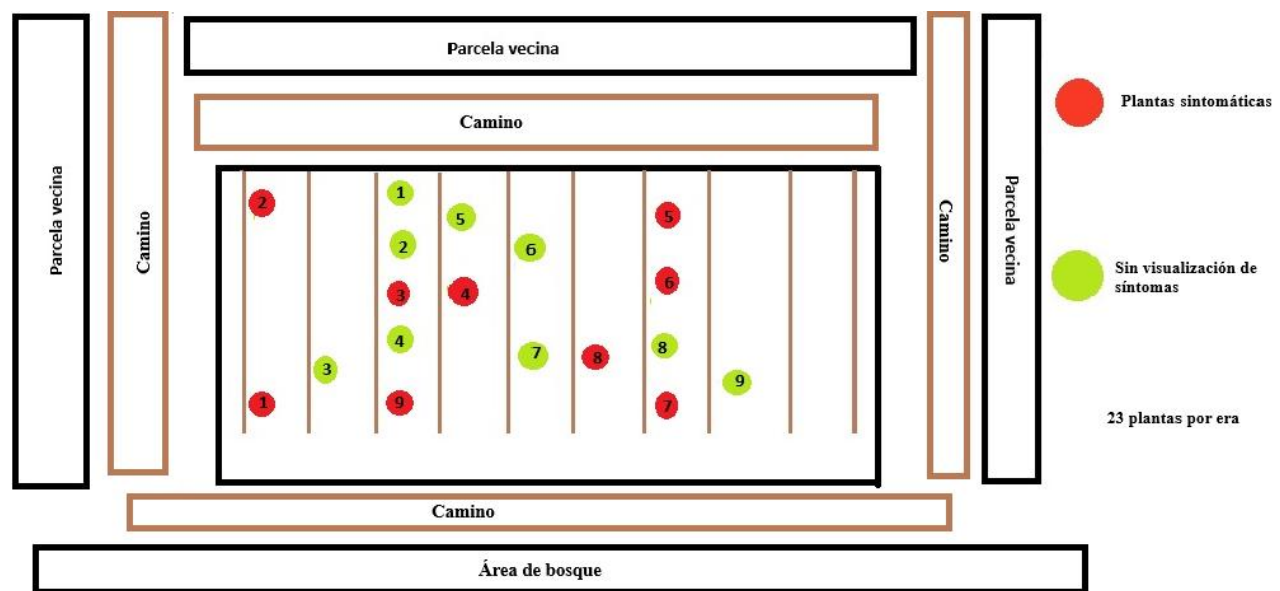
Se realizó un seguimiento al lote con plantas de papaya de cuatro meses desde la siembra hasta la etapa de floración. Con la ayuda del Máster Antonio Bogantes (Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria [INTA], Estación Experimental Diamantes, Pococí, Limón), se seleccionaron plantas con síntomas de la enfermedad que los productores denominan

pecíolo rayado, específicamente, aberturas en la parte superior de la planta, pecíolos largos y ondulados con rayas, y frutas en posición erguida. Las plantas identificadas como enfermas con base en la sintomatología (n=9) se marcaron con pintura en aerosol color anaranjado y bandas plásticas color azul. La distribución en el lote de las plantas seleccionadas se muestra en la Figura 1. Por otra parte, dentro del mismo lote, se seleccionaron y marcaron la misma cantidad de plantas de aspecto sano para comparar su desarrollo con el de las plantas sintomáticas marcadas en el mismo lote. Para verificar la presencia de rhabdovirus, se recolectó material foliar joven. Para verificar la presencia de rhabdovirus, el tejido se seccionó en segmentos de 4 cm de largo y 1 cm de ancho, aproximadamente, y se colocaron en tubos de microcentrífuga de 1.5 ml con un volumen de 600 µl de solución RNAlater (Invitrogen, Thermofisher). Para evitar la contaminación entre muestras, se esterilizaron pinzas, y tijeras, con papel toalla en alcohol al 70 % entre cada evento de recolección.

Las evaluaciones visuales en plantas seleccionadas se realizaron mensualmente desde noviembre 2023 hasta agosto 2024 para la identificación del avance de los síntomas en las diferentes etapas fenológicas y se recolectó material cada tres meses para tener material de respaldo para futuras evaluaciones en laboratorio. Cada síntoma de la enfermedad se calificó como presente o ausente para cada planta evaluada (aberturas en la parte superior, pecíolos largos y ondulados con rayas, y frutas en posición erguida).

Figura 1

Croquis del lote seleccionado en ASOPROPA, Guácimo, Limón.



Nota. Se muestra la distribución por era de la parcela, donde las plantas sintomáticas se representan en color rojo y las plantas sin visualización de síntomas en color verde. El lote se encuentra rodeado por un camino que conecta tres parcelas de papaya y limita, en su parte frontal, con un área boscosa.

La recolección de microchicharritas se realizó en las plantas sintomáticas con un aspirador de insectos y se colocaron en tubos para microcentrífuga de 1.5 ml con una solución de 600 μ L RNAlater. Los muestreos de insectos se realizaron desde noviembre 2023 a agosto 2024. Toda muestra vegetal y de insectos recolectada fue transportada al Laboratorio de Biología Molecular de la Escuela de Ciencias Agrarias de la UNA en una hielera con bolsas de hielo. En el laboratorio, se guardaron en un congelador a -20°C , las primeras 24 horas, y posteriormente en un ultracongelador a -80°C .

4.3. Identificación taxonómica morfológica y molecular de las microchicharritas.

4.3.1. Identificación morfológica

Se identificaron los insectos macho con un estereoscopio a 40X, posteriormente se realizaron montajes y se efectuó un corte de la sección abdominal. La terminalia se trató con una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10 % y calentamiento por aproximadamente 20 minutos (min) para aclarar las estructuras. Posteriormente, se lavaron con agua destilada, y tiñeron con fucsina ácida 0.1%. Se utilizó alcohol en concentraciones de 70% y 90% para eliminar los residuos de KOH de las muestras. Las muestras se observaron en microscopio a 40X con una cámara Leica DM1000 Led, cámara Leica Flexcam C3 para observar las estructuras de la terminalia (edeago, procesos del edeago, placa subgenital). Finalmente, se almacenaron en microviales con glicerina (Pinedo-Escatel 2017). El material final procesado de 15 muestras fue revisado y corroborado por el Dr. J. Adilson Pinedo-Escatel (Colección Nacional de Insectos, Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México).

4.3.2. Amplificación de la subunidad I del gen de la citocromo oxidasa (COI)

Las muestras de insectos identificadas morfológicamente se agruparon en cinco, cuatro, dos y un individuo para la identificación molecular. Se utilizó la parte inferior del insecto para la identificación morfológica y la superior para la identificación molecular. El ADN se extrajo a partir del resto del tejido. Se extrajo el ADN genómico a partir 25 – 100 mg de tejido utilizando el kit de extracción DNeasy Blood and Tissue (QIAGEN) siguiendo las instrucciones del fabricante. La integridad del ADN extraído se verificó en geles de agarosa al 0,8 % teñidos con GelRed® (Biotium) a una concentración 1X. La concentración del ADN extraído se calculó empleando un espectrofotómetro de microvolúmenes (NanoDrop).

Para la identificación de los insectos a nivel molecular, se amplificó la subunidad I del gen de la citocromo oxidasa (COI) mediante la técnica reacción en cadena de la polimerasa (PCR), siguiendo

el protocolo definido por García-Cámara et al. (2019) con modificaciones menores. Las cantidades se detallan a continuación para reacciones de 25 μ L: 10,3 μ L de agua ultrapura estéril para PCR (Ambion), 2,5 μ L de DreamTaq Buffer 10X (ThermoFisher Scientific), 0,3 μ L de DreamTaq ADN polimerasa (5U/ μ L; ThermoFisher Scientific), 2,5 μ L de dNTPs a 2 mM (ThermoFisher Scientific), 2,2 μ L de cada imprimador a 10 μ M MCO1490/ HCO2190 (Folmer et al. 1994) y 5 μ L de dilución 1:10 de genómico total de insecto. El perfil de temperatura utilizado en la PCR consistió en un ciclo inicial de 94°C durante 5 min, seguido de 45 ciclos a 94°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos, seguidos de un ciclo final a 72°C durante 10 min. Los productos de la PCR obtenidos se purificaron con el kit de extracción PureLink Quick gel extraction kit (Invitrogen) siguiendo lo indicado por el fabricante y se enviaron a Macrogen (Corea del Sur) para su secuenciación directa, por el método de Sanger y en ambos sentidos, empleando los mismos imprimadores usados en la PCR.

4.3.3. Análisis de secuencias y filogenia

Las secuencias resultantes se editaron con el programa Bioedit (Hall, 2023) para ensamblar la secuencia consenso correspondiente al segmento amplificado. Éstas se compararon para la búsqueda de identidad con las disponibles de la base de datos en el GenBank (GenBank, 2022), mediante el algoritmo BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI (National Center for Biotechnology Information). Adicionalmente, las secuencias obtenidas de los insectos se compararon en la base de datos BOLD (Barcode of Life Data System, www.barcodinglife.org) plataforma BOLD v4 (<https://id.boldsystems.org/>; Ratnasingham et al. (2024).

El alineamiento múltiple de las secuencias fue realizado empleando ClustalW en el programa BioEdit, y se cortaron los extremos restantes a ambos lados del bloque alineado. El archivo obtenido fue exportado al programa MEGA X (Kumar et al. 2018) para los análisis evolutivos. El conjunto de datos final contó con un total de 656 posiciones. La historia evolutiva se infirió mediante el método de máxima verosimilitud y el modelo Tamura-Nei (1993).

El análisis filogenético incluyó 32 secuencias de nucleótidos, que corresponden a las microchicharritas obtenidas de las de cinco especímenes de Cicadellidae de México y uno de Costa Rica recuperadas de BOLD, de las recuperadas del GenBank para las especies: *E. coccinea* (KR032936.1 y KR041873.1), *E. fabae* (KJ083260.1 y KJ083336.1), *E. flavescens* (KC191708.1 y KC191715.1), *E. laceiba* (ON255876.1), *E. luda* (KR035641.1 y KR576003.1), *E. papayae* (KY931021.1 a KY931024.1), *E. vitis* (KC172464.1 y KC172465.1), *Hebata decipiens*

(MG401353.1, MG673581.1 y MG404115.1), *M. onukii* (PX271309.1, PX271312.1, PX271317.1 y PX271319.1) y de *Diaphorina citri* (KC354744.1) como grupo externo para anclaje del árbol. Para evitar confusiones de nomenclatura, se mantuvo la taxonomía como se encontró en GenBank para las especies que han sido reclasificadas al género *Matsumurasca*.

4.4. Detección molecular de rhabdovirus en muestras foliares de papaya y en microchicharritas.

4.4.1. Extracción de ARN total de las muestras.

Los especímenes de microchicharritas y las plantas de papaya en la solución de RNAlater recolectadas fueron $n=9$ sintomáticas, $n=9$ sin visualización de síntomas, $n=6$ controles positivos provenientes de plantas de papaya de Guápiles, Limón depositadas en Laboratorio Fitopatógenos Obligados y sus Vectores - Laboratorio del Centro de Investigaciones en Biología Celular y Molecular, Universidad de Costa Rica [LaFOV-CIBCM UCR] León, (2022). Respecto a las muestras de insectos ($n= 6$) se utilizaron de forma individual, machos $n=4$ y hembras $n=2$. El procedimiento realizado con las muestras se detalla a continuación:

Se utilizó el kit RNeasy (Qiagen) siguiendo las especificaciones del fabricante. Se le añadieron dos balines de acero inoxidable (Spex sample prep 2150) con pinzas esterilizadas a 120 °C. Se tomaron 20 mg de material vegetal y se depositaron en los tubos correspondientes. Cada tubo se selló con Parafilm® para evitar derrames y se maceró el tejido en un molino Mini G 1600 (Spex Sample Prep) a 1500 golpes por min. Los microtubos se centrifugaron a 8000 revoluciones por minuto (rpm) durante un min, empleando una microcentrífuga Eppendorf 5430R.

Para verificar la extracción e integridad del ARN, se tomaron 5 μ L de la extracción y se realizó electroforesis en geles de agarosa al 1% en buffer TBE 1X a 90V durante 50 min. Se cargaron las muestras con 2 μ L de buffer de carga 6X con GelRed a una concentración 1X. Como marcador de peso molecular, se empleó una escalera de ADN de 100 pares de bases (ThermoScientific, GeneRuler 100bp Plus, código #SM0323).

Para eliminar el ADN del ARN extraído, se tomó un volumen de 20 μ L de la suspensión de ácidos nucleicos y se le añadieron 3 μ L del buffer DNase + NaCl2 + 3 μ L de DNasa (DNase I RNase-free (ThermoScientific) + 4 μ L de agua libre de nucleasas (Nuclease free water, Ambion). La mezcla se incubó a 37°C por 30 min y posteriormente se añadieron 3 μ L de EDTA y se incubó a 65 °C por 10 min. La eliminación del ADN se verificó por medio de electroforesis con las mismas especificaciones indicadas anteriormente.

4.4.2. Retrotranscripción

La retrotranscripción se realizó mediante el kit SuperScript IV VILO Master mix (Invitrogen, ThermoFisher Scientific). Se rotularon tubos dobles para diferenciar entre los dos Mix que componen el kit (RT reaction y RT control). A todos los tubos rotulados se les añadió 12,5 uL del ARN correspondiente a cada muestra, más 3,5 uL de agua libre de ARN (RNA free water), y 4 uL del mix RT reaction o RT control dependiendo de la rotulación, se mezcló con el vórtex, se centrifugó y se incubó en baño maría (Lab-Line, AquaBath) a temperaturas de 25°C por 10 min, posteriormente a 50 °C por 10 min y finalmente a 85°C por 5 min.

4.4.3. Amplificación mediante PCR

Las cantidades empleadas para reacciones de 25 uL, se detallan a continuación: 9,7 µL de agua estéril para PCR, 2,5 µL de DreamTaq Buffer 10X, 0,3 µL de DreamTaq ADN polimerasa (5U/ul), 2,5 µL de dNTPs, 2,5 µL de cada primer Rhab F y Rhab R (Lamprecht et al., 2009) y 5 µL de dilución 1:10 de ADNc de muestra previamente diluido en agua estéril.

El perfil de temperatura utilizado en la PCR consistió en un ciclo inicial de 95°C durante 5 min, seguido de 40 ciclos a 95°C por 30 segundos, 50°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos, seguidos de un ciclo final de 72°C durante 7 min. Para verificar el resultado del PCR, se realizó electroforesis en geles de agarosa a una concentración de 1%, teñidos con 2 µL de buffer de carga 6X que contenía GelRed® a una concentración 1X y con una escalera de ADN de 100 pares de bases (código #SM0323).

Los productos de la PCR obtenidos se purificaron con el kit de extracción PureLink Quick gel extraction kit siguiendo lo indicado por el fabricante y se enviaron a MacroGen (Corea del Sur) para su secuenciación directa, por el método de Sanger y en ambos sentidos, empleando los mismos imprimadores usados en la PCR. Las secuencias resultantes se editaron con el programa Bioedit (Hall, 2023) para ensamblar la secuencia consenso correspondiente al segmento amplificado. Éstas se compararon mediante el algoritmo Blastn en la base de datos del GenBank (GenBank, 2022).

5. RESULTADOS

Se identificaron los principales síntomas del pecíolo rayado: menor densidad de follaje joven en la región apical (Figura 2), frutas erguidas (Figura 3), pecíolos foliares largos y ondulados en la parte final, con estriado morado generalmente (Figura 4), proceso de maduración del fruto retardado

(Figura 5). Las figuras 2 a 5 muestran plantas sintomáticas desde los 4 meses, a los 10 meses y en comparativa con plantas de aspecto sano.

A los 4 meses posteriores al trasplante, se observaron los primeros síntomas característicos del peciolo rayado mostrándose menor densidad de follaje joven en la región apical, las plantas mostraban un crecimiento más lento y menos vigoroso respecto a las no se visualizaron síntomas. Entre los 5 y 8 meses, siendo la etapa de floración y formación de frutos, los síntomas se mostraron en mayor grado observándose de mejor forma los pecíolos más largos, delgados y ondulados en la parte final y con el estriado color rojizo-purpura. Se evidencio también la posición de los frutos en vertical.

A los 8 a 10 meses en la fase de fructificación y maduración adicional a los síntomas ya descritos se mostró el retraso en el proceso de maduración de los frutos los que permanecieron verdes por periodos prolongados y con tamaño reducido en comparación a las plantas de aspecto sano. En las figuras 2 a 5 se ilustra la progresión temporal mostrando en comparativa el desarrollo de síntomas en plantas sintomáticas como en las que se visualizaron como sanas.

Figura 2

Plantas de papaya de 4 meses post-trasplante.



Nota. A la izquierda se observa una planta sintomática con presencia de peciolo rayado, menor densidad de follaje en la región apical y coloración morada del tallo. A la derecha se muestra una planta asintomática, con mayor densidad de follaje en la región apical y coloración verde del tallo.

Figura 3

Plantas de papaya de 5 meses.



Nota. A la izquierda se observa una planta sintomática con presencia de pecíolo rayado, cuyos frutos se encuentran erguidos en la parte superior del tallo. A la derecha se muestra una planta de aspecto sano, con frutos orientados hacia abajo.

Figura 4

Plantas de papaya de 5 meses.



Nota. A la izquierda se observa una planta sintomática con presencia de pecíolo rayado, la cual presenta tallos curvados en su porción distal y estriado de color morado. A la derecha se muestra una planta de aspecto sano, con tallos de color verde y sin estriado.

Figura 5

Plantas de papaya de 8 meses.



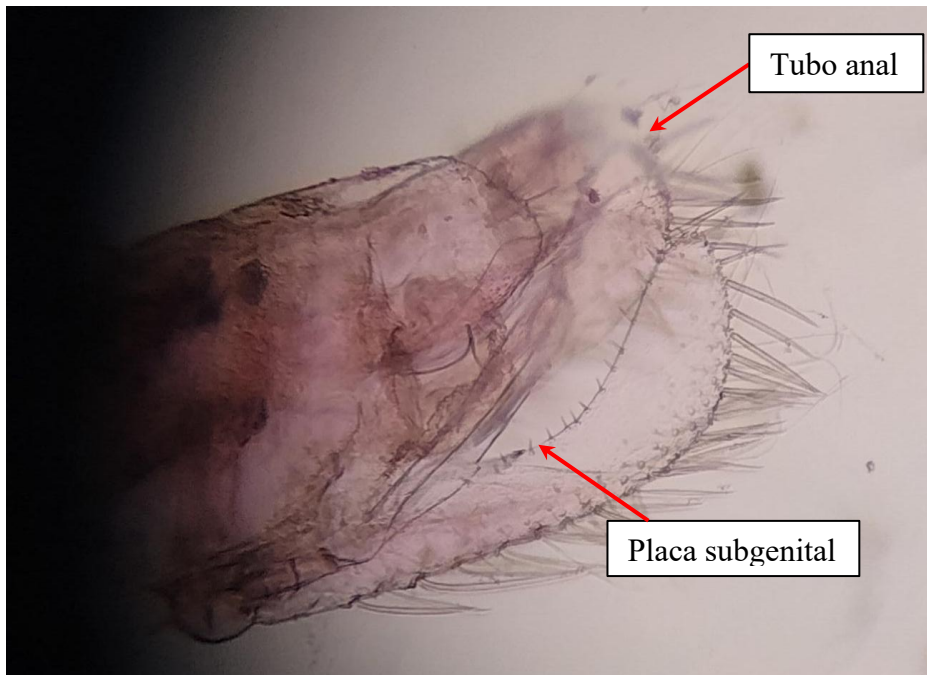
Nota. A la izquierda se observa una planta sintomática con presencia de pecíolo rayado, la cual presenta frutos de menor tamaño. A la derecha se muestra una planta de aspecto sano, con frutos de mayor tamaño.

5.1. Identificación morfológica y molecular de *M. judokuatara*.

Las estructuras de las placas subgenitales como las macrosetas, el tubo anal, (Figura 6) y el edeago (Punta Cuadrada) (Figura 7) se observaron a una amplificación máxima de 40X en el microscopio. Para lograr determinar el insecto a nivel de especie, las imágenes e insectos se compartieron al especialista en cicadélidos para la determinación de la especie presente en Guácimo, Limón. Se identificó que la especie recolectada en la parcela en estudio corresponde a *M. judokuatara* (Figura 8). Ésta fue descrita y reportada recientemente (agosto 2025) por primera vez en Costa Rica por investigadores de la UNA en colaboración con el especialista de la UNAM, Dr. Adilson Pinedo-Escatel.

Figura 6

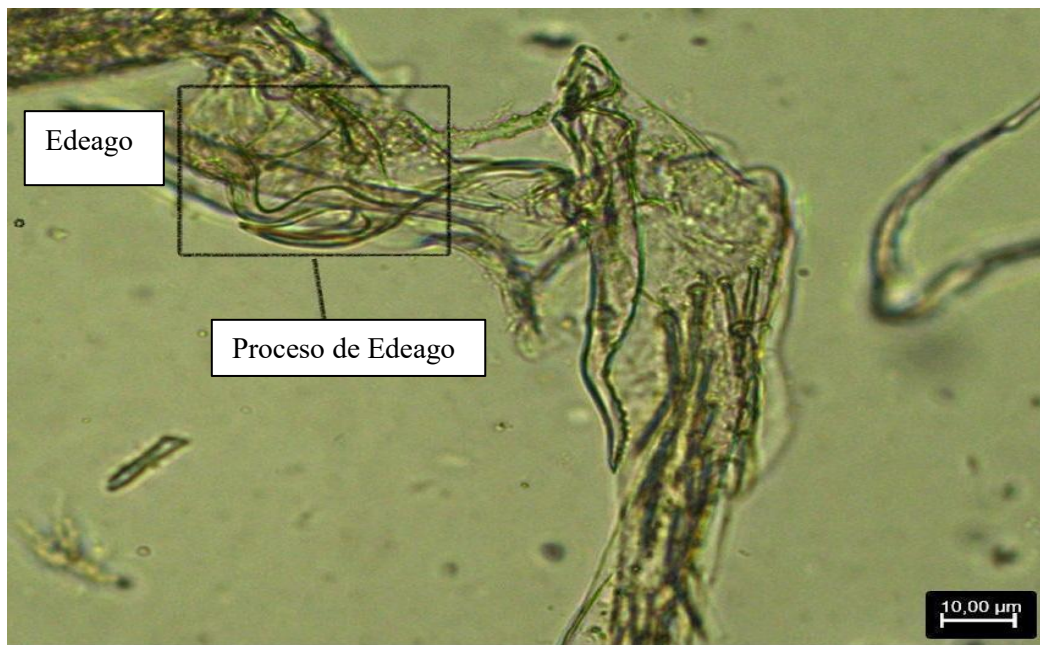
Vista a 40× de las estructuras genitales de un macho de M. judokuatarae.



Nota. Observación realizada mediante microscopía óptica a un aumento de 40×.

Figura 7

Vista a 40× del edeago de un macho de M. judokuatarae.



Nota. Observación realizada mediante microscopio Leica DM1000 LED, equipado con cámara Leica Flexcam C3, a un aumento de 40×.

Figura 8

Fotografía de *M. judokuatara* tomada en Guácimo, Limón, Costa Rica.



Nota. Fotografía tomada por Arrieta-Arrieta y Pinedo-Escatel (2025).

Para la identificación molecular, se amplificaron nueve muestras. Se generaron cinco productos de PCR de aproximadamente 640 pb y cuatro productos de 610 pb. Se obtuvieron las secuencias de la subunidad COI de los insectos. Las secuencias de 640 pb concordaron con especies de Cicadellidae o del género *Empoasca* depositadas en el GenBank (Tabla 1). Dentro de los primeros diez registros a nivel de especie, se obtuvo una similitud de 87.74 a 87.79% con la accesión ON255876.1 correspondiente a *M. laceiba* anteriormente *Empoasca laceiba* identificado por Zarco (2022). Adicionalmente, se encontró similitud con las especies *M. papayae* anteriormente *E. papayae* (87.32%, accesiones KY931023.1 y KY931022.1) depositados por García Cámara encontrados en el cultivo de papaya en Yucatán (México), y *E. decipiens* (86.83%, accesión OQ381267.1) correspondiente al depósito de Evangelou & Krokida, 2023, de viñedos en Grecia.

Tabla 1

Resumen de la similitud (%) de secuencias parciales del gen COI de *M. judokuatara*.

Descripción del registro	Registro en el GenBank	Porcentaje (%) de similitud nucleotídica			
		H1	M1	M2	M3
Cicadellidae sp. voucher BIOUG23740-C07	OM587855.1	90.85	90.94	90.85	90.85
Cicadellidae sp. voucher BIOUG13462-E04	OM599422.1	89.68	89.84	89.68	89.84
<i>Empoasca</i> sp. isolate 41	MW560969.1	89.02	89.01	89.02	88.82
<i>Empoasca</i> sp. isolate 35	MW560965.1	89.02	89.03	89.02	88.98
<i>Empoasca</i> sp. BOLD: AAN8297 voucher BIOUG<CAN> 09BBHEM- 0813	HQ929139.1	87.64	87.52	87.64	87.58
<i>Empoasca laceiba</i> isolate IIQB	ON255876.1	87.74	87.74	87.74	87.79
<i>Empoasca</i> sp. isolate 36	MW560966.1	88.98	88.98	88.98	
Cicadellidae sp. voucher BIOUG13887-F02	OM556395.1	87.60	87.58	87.60	87.64
Cicadellidae sp. voucher BIOUG12769-H09	OM547323.1	87.82	88.02	87.82	88.02

Cicadellidae sp. voucher BIOUG22916-F10	OM545379.1	87.60	87.48	87.60	87.48
--	------------	-------	-------	-------	-------

Nota. Los datos corresponden a secuencias parciales de la subunidad 1 del gen COI obtenidas en este estudio y comparadas con secuencias disponibles en GenBank mediante el algoritmo BLASTn. La búsqueda se realizó el 1 de octubre de 2025.

La comparación de las secuencias correspondientes al gen COI, identificadas en este estudio como H1, M1, M2 y M3, en BOLD System tampoco permitió encontrar concordancias con especímenes debidamente identificados a nivel de género y especie, puesto que estas especies están recién descritas. Sin embargo, se encontraron concordancias a nivel de la subfamilia Typhlocybinae (familia Cicadellidae). Las cuatro secuencias mencionadas mostraron las máximas similitudes, de 99,84 – 99,85 y 99,53 %, respectivamente, con dos especímenes recolectados en Veracruz (México), seguidos por similitudes entre 98,75 y 98,59 % con un espécimen recolectado en Costa Rica, en el Área de Conservación Guanacaste en el sector Cacao (Tabla 2). De acuerdo con los datos de los registros en BOLD, en los tres casos la recolección fue mediante trampas Malaise.

Tabla 2

Resumen de los seis registros con mayor similitud nucleotídica en la base BOLD para secuencias COI de *M. judokuatara*

Registro PID [BIN]	Arthropoda: Insecta: Hemiptera: Cicadellidae			ID %/ especimen				Datos de recolecta		
	Subfamilia	Género	Especie	H1	M1	M2	M3	País	Provincia/ Localidad	Año
GMMVA36303-22 [BOLD:AEZ7555]	Typhlocybae	N.D.	N.D.	99, 84	99, 84	99,8 4	99,85	México	Veracruz / Tlapacoyan	2017
GMMVA35042-22 [BOLD:AEZ7555]	Typhlocybae	N.D.	N.D.	99, 53	99, 53	99,5 3	99,53	México	Veracruz / Tlapacoyan	2017
CRCCD10806-23 [BOLD:AGO0697]	Typhlocybae	N.D.	N.D.	98, 75	98, 59	98,7 5	98,61	Costa Rica	Guanacaste/ ACG- Cacao	2019
LPGEN2164-24 [BOLD:AFU8908]	Typhlocybae	N.D.	N.D.	95, 77	95, 78	95,7 7	95,82	México	Chiapas / N.I	2022
LPGEN24134-24 [BOLD:AFU8908]	Typhlocybae	N.D.	N.D.	95, 77	95, 78	95,7 7	95,81	México	Chiapas / N.I	2021
LPGEQ42407-24 [BOLD:AFU8908]	Typhlocybae	N.D.	N.D.	95, 77	95, 78	99,8 4	95,83	México	Chiapas / N.I	2022

PID= identificación con que se sometió a BOLD; BIN= número identificación en BOLD; N.D.= no determinado; N.I.= no indicado

Nota. Los datos corresponden a secuencias de 640 pb del segmento COI amplificado en este estudio y comparadas con registros disponibles en la base de datos BOLD. Las búsquedas se efectuaron entre el 7 y el 8 de octubre de 2025.

Respecto a los productos de PCR de 610 pb (H2, M4, E1, E2 y E3), las secuencias correspondientes a las amplificaciones del gen COI depositadas en GenBank se muestran en el Tabla 3. Dentro de los primeros registros, omitiendo aquellas accesiones que se encontraron en BOLD, se obtuvo una similitud de 88% con la accesión MG440690.2, correspondiente a la familia Drynidae, y 89% con MZ151314.1 con el género *Aphelopus*. Estos himenópteros son reconocidos como parasitoides de cicadélidos (Sánchez et al. 2016).

Tabla 3

Resumen de la similitud nucleotídica de secuencias COI de *M. judokuatara* en GenBank.

Descripción del registro	Registro GenBank	Porcentaje (%) de similitud nucleotídica				
		E1	E2	E3	H2	M4
BIOUG26220-C03	MG440690.2	88.78	88.22	88.62	-	88.75
<i>Aphelopus albifacialis</i> voucher SCAU 3011667	MZ151314.1	89.32	89.42	89.35	89.01	89.5

Nota. Los datos corresponden a secuencias de 610 pb del segmento COI amplificado en este estudio y comparadas con registros disponibles en GenBank. Las búsquedas se efectuaron el 19 de octubre de 2025.

En BOLD, no fue posible encontrar concordancias con especímenes debidamente identificados a nivel de género y especie con aquellas las secuencias correspondientes a las amplificaciones del gen COI del himenóptero parasitoide (H2, M4, E1, E2 y E3). Sin embargo, se encontraron concordancias a nivel de la subfamilia Aphelopinae (Familia Dryinidae). Las cinco secuencias mostraron las máximas similitudes, entre 99,19 y 99,85 %, con dos registros de especímenes de Aphelopinae (Figura 10) recolectados en el Área de Conservación Guanacaste mediante trampas Malaise (Tabla 4).

Tabla 4

Resumen de la similitud nucleotídica de secuencias COI de *M. judokuatara* en BOLD Systems.

Registro PID [BIN]	Arthropoda: Insecta: Hymenoptera: Dryinidae			ID %/ Especimen					Datos de recolecta		
	Subfamilia	Género	Especie	H2	M4	E1	E2	E3	País	Provincia/Localidad	Año
PLAAI1023-18 [BOLD: ADX0578]	Aphelopinae	N.D.	N.D.	99,85	99,52	99,84	99,30	99,84	Costa Rica	Guanacaste / ACG - SPL2	2015
PLECK3792-20 [BOLD: ADX0578]	Aphelopinae	N.D.	N.D.	99,23	99,20	99,19	98,59	99,21	Costa Rica	Guanacaste / ACG - SPL2	2017

PID= identificación con que se sometió a BOLD; BIN= número identificación en BOLD; N.D.= no determinado; ACG= Área de Conservación Guanacaste; SPL2= Sector Pailas 2

Nota. Los datos corresponden a secuencias de 610 pb del segmento COI amplificado en este estudio y comparadas con registros disponibles en la base de datos BOLD Systems. Las búsquedas se efectuaron entre el 7 y el 8 de octubre de 2025.

Figura 9

Espécimen de Hymenoptera PLAAI1023-18 (*Aphelopinae: Dryinidae*).

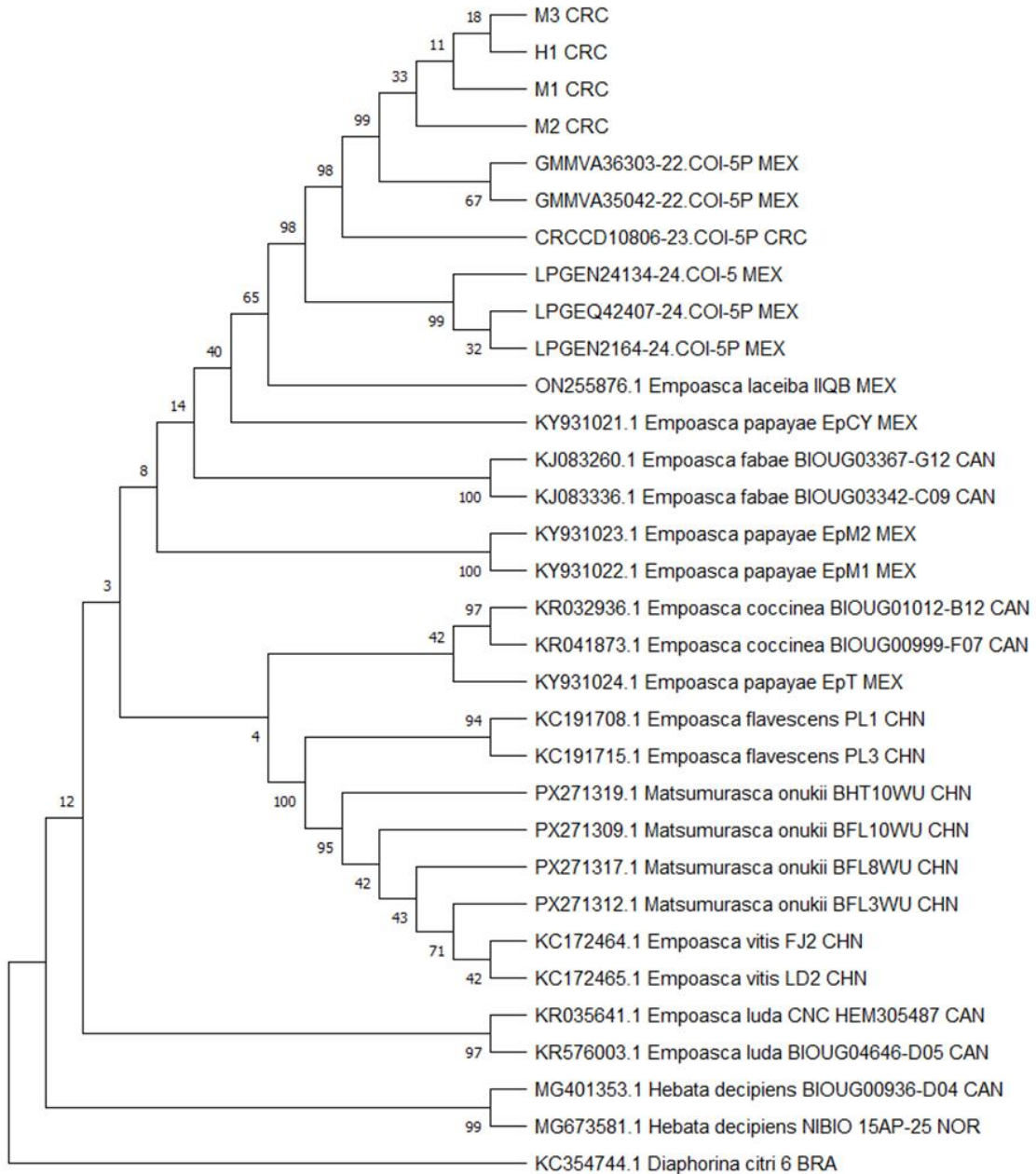


Nota. Espécimen PLAAI1023-18 [BOLD: ADX0578], sin identificación a nivel de género y especie, perteneciente a la subfamilia Aphelopinae (familia Dryinidae). Fue recolectado por Janzen y Hallwachs en 2015 mediante trampas Malaise, en la localidad Pailas 2 del Área de Conservación Guanacaste, Guanacaste, Costa Rica. Fotografía y datos obtenidos del registro disponible en BOLD Data Portal - PLAAI1023-18 (recuperado el 8 de octubre de 2025).

De acuerdo con el programa MegaX, en el análisis filogenético realizado al conjunto de datos, se mostró el árbol con la mayor verosimilitud logarítmica (Figura 10). Las secuencias de la especie identificada como *M. judokuatara* en este estudio presentan mayor relación con las especies para las que no se cuenta aún con identificación en BOLD. La tabla demuestra a los especímenes de *M. judokuatara* como un taxón distinto a *E. laceiba* y *E. papayae*. La topología en el dendrograma muestra la separación de las especies asiáticas de las occidentales incluidas en el análisis. No se logró incluir más especies del género *Matsumurasca*, ya que el cambio de taxonomía está en proceso y lo disponible en las bases de datos públicos aún mantienen el género *Empoasca* para muchas de las reasignadas.

Figura 10

Dendrograma de la historia evolutiva de *Matsumurasca judokuatara* basado en secuencias COI.



Nota. El dendrograma fue inferido mediante el método de máxima verosimilitud utilizando el modelo Tamura–Nei en el programa MEGA X. El análisis incluyó 32 secuencias de nucleótidos: cuatro correspondientes a *Matsumurasca judokuatara* obtenidas en este estudio; cinco de especímenes de Cicadellidae procedentes de México y uno de Costa Rica recuperados de BOLD; y las restantes recuperadas de GenBank para las especies *Empoasca coccinea* (KR032936.1, KR041873.1), *E. fabae* (KJ083260.1, KJ083336.1), *E. flavescens* (KC191708.1, KC191715.1), *E. laceiba* (ON255876.1), *E. luda* (KR035641.1, KR576003.1), *E. papayae* (KY931021.1–KY931024.1), *E. vitis* (KC172464.1, KC172465.1), *Hebata decipiens* (MG401353.1, MG673581.1, MG404115.1), *Matsumurasca onukii*

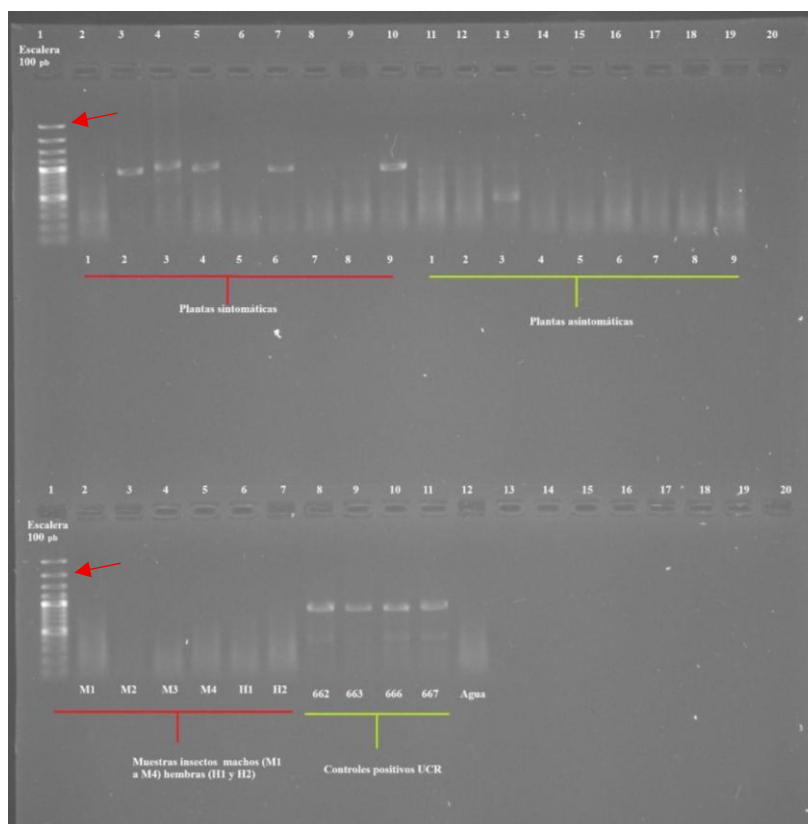
(PX271309.1, PX271312.1, PX271317.1, PX271319.1) y *Diaphorina citri* (KC354744.1) como grupo externo. Se mantuvo la taxonomía indicada en GenBank para las especies reclasificadas al género *Matsumurasca* con el fin de evitar ambigüedades.

5.2. Detección molecular de rhabdovirus en papaya

Para detectar la presencia de rhabdovirus de plantas en las muestras de papaya, se realizó retrotranscripción y PCR. Se logró la amplificación de un producto en los carriles de muestras sintomáticas solamente. La presencia del amplicón se observó en cinco de las nueve plantas sintomáticas evaluadas y en cero de las muestras sin síntomas, se puede observar que en la planta 3 del carril 13 hubo una amplificación, sin embargo, no fue de 900 pb que es lo que se esperaba para rhabdovirus. La banda amplificada en muestras sintomáticas presentó un tamaño aproximado a 900 pb (Figura 11), lo que corresponde con lo descrito por (Lamprecht et al. 2009).

Figura 11

Geles de agarosa al 1 % con productos de amplificación de ADNc



Nota. Se muestran geles de agarosa al 1 % con productos de amplificación de ADNc obtenidos mediante los imprimadores Rhab F y Rhab R. En la parte superior se presentan muestras de campo de plantas de papaya sintomáticas de peciolo rayado (carriles 2–10) y plantas asintomáticas (carriles 11–19). En la parte inferior se incluyen muestras de insectos recolectados en campo (carriles 2–7) y

controles positivos (carriles 8–11) proporcionados por LaFOV–CIBCM, Universidad de Costa Rica. La flecha roja indica una banda de aproximadamente 900 pb.

Se amplificaron 22 muestras de plantas de papaya, nueve sintomáticas y nueve de aspecto sano o asintomáticas, así como cuatro controles positivos proporcionados por LaFOV-CIBCM UCR. Se obtuvieron cinco productos de PCR de las plantas sintomáticas: muestras 2, 3, 4, 6, 9, pozos 3, 4, 5, 7 y 10 de la Figura 12. El análisis de las secuencias obtenidas en esta investigación, después de la edición con el programa BioEdit, se identificaron secuencias semejantes a las del virus denominado *Papaya nucleorhabdovirus* 1 en las plantas positivas del cultivo de papaya. De acuerdo con los resultados del BLASTn de la base de datos GenBank, las secuencias obtenidas presentaron una similitud de 97.8% con la accesión MN203193.1 y de un 97,78% con la accesión MN203195.1, ambas corresponden a un rhabdovirus identificado mediante secuenciación masiva en papaya en Chiapas, México. Con respecto a la detección del virus en *M. judokuatara*, se realizaron las pruebas en laboratorio con seis insectos, cuatro machos (M1, M2, M3, M4), dos hembras (H1, H2) utilizando ADNc sintetizado a partir de ARN de un insecto en cada una, sin embargo, no fue posible detectar el virus (Figura 12).

6. DISCUSIÓN

El pecíolo rayado en papaya afecta el desarrollo y producción de este cultivo en el país, sin embargo, existe muy poca información sobre la enfermedad tanto escrita como gráfica. En el presente estudio se identificaron plantas con síntomas similares a los de la necrosis apical de la papaya, reportado por Lastra y Quintero (1981) y de un rhabdovirus por Becerra et al. (1999). Se observaron pecíolos rayados o estriados, con curvatura con coloración rojiza-morada, frutos con inclinación vertical, cese de floración y defoliación de la planta. Según lo propuesto por Becerra et al. (1999), se trata de dos virus diferentes (necrosis apical y rhabdovirus de la marchitez) por el tamaño de las partículas, sin embargo, esto no se puede confirmar sin conocer las secuencias nucleotídicas correspondientes.

Se detectó un nucleorhabdovirus en plantas sintomáticas de papaya, el amplicón obtenido 900 pb con los cebadores para rhabdovirus, posterior a las secuencias y la edición mostraron un alta similitud con el que fue reportado en México con las accesiones MN203193.1 y MN203195.1, respectivamente, al ser un porcentaje de más de 97% sugiere que el agente detectado en las plantas sintomáticas corresponda a un aislado del papaya nucleorhabdovirus o un virus filogénicamente cercano. Este hallazgo constituye a un reporte con evidencia molecular de un nucleorhabdovirus asociado a papaya en Costa Rica, debido a que se basa en un fragmento parcial del gen de la

nucleoproteína (gen N) es necesario realizar la secuenciación completa para confirmar su posición taxonómica y establecer su filogenia con otros rhabdovirus en plantas (Lamprecht et al. 2009; Walker et al. 2018). Cabe recalcar que, aunque el virus se detectó en 5 de las 9 plantas y no se amplificó en los insectos analizados, la identificación por secuenciación y comparación por medio de BLASTn constituyen una evidencia molecular que el virus está presente en la parcela en estudio.

La confirmación de un rhabdovirus en papaya puede tener implicaciones fitosanitarias para los productores, dado que el virus afecta la calidad de la planta observándose el follaje apical reducido, los pecíolos deformados, los frutos en posición vertical, aborto de los frutos y el retraso en la maduración lo que se traduce en pérdidas de rendimiento y calidad de la fruta. Por ello es necesario que se implementen medidas para el manejo preventivo del virus, con monitoreos en plántulas y en plantas en campo, también es necesario eliminar el material vegetal sintomático de las parcelas, así como el uso de semillas y plántulas libres de virus (Rubio et al., 2020; Wang et al., 2022).

De acuerdo con Garita Salazar y colaboradores (2025, datos sin publicar), es probable que el nucleorhabdovirus detectado en Costa Rica sea el mismo o cercano a los encontrados en papaya previamente en Florida (Wan y Conover 1981; Zettler y Wan 1994), Venezuela (Lastra y Quintero 1981), Cuba (Mejías et al. 1987) y México (Becerra et al. 1999). Aunque para la verificación se requiere obtener secuencias de muestras sintomáticas de materiales de las distintas procedencias.

Solo se había reportado un rhabdovirus en papaya, el que causa la enfermedad de la necrosis apical en Florida (EE. UU), Venezuela, Cuba y México (Nivetha et al. 2025). Sin embargo, no existían accesiones de secuencias para rhabdovirus de papaya, hasta las que lograron detectar en Chiapas, México por muestreo masivo de PRSV y posteriormente se podrá añadir a las encontradas en esta investigación. En el estado de Colima en México, también se realizaron estudios para confirmar la presencia de PRSV, el que se detectó en la totalidad de las plantas analizadas, esto en conjunto a la detección de rhabdovirus en muestras sintomáticas, lo que muestra que existe una frecuencia de infecciones mixtas en el cultivo (Guzmán et al. 2017).

La infección mixta del nucleorhabdovirus con el virus PRSV, de acuerdo con los investigadores mexicanos Alcalá-Briseño et al. (2022), parece manifestar síntomas del PRSV, sin embargo, se requiere investigación apropiada para determinar si es que los síntomas del PRSV se exacerbaban en infección mixta con el nucleorhabdovirus o la mezcla de ambos no es discernible.

Se logró ampliar el conocimiento sobre la compleja interacción viral en el cultivo de papaya, siendo de importancia el hecho de que se continúe con mayor investigación para lograr comprender la epidemiología y ser capaces de diseñar estrategias para el manejo en cada región. Las técnicas como

la RT-PCR es un método confiable y sensible para confirmar los virus presentes, lo cual, resulta de gran importancia para generar diversas herramientas para el manejo de la necrosis apical, así como otras enfermedades virales en el cultivo de papaya (Araújo et al., 2007; Guzmán et al. 2017; Hernández et al. 2014).

No se observó a *M. papayae* (*E. papayae*) en ninguno de los muestreos realizados en esta investigación, lo que concuerda con los estudios realizados por Zettler y Wan (1994) y Becerra et al. (1999); únicamente se encontró a *M. judokuatara* la cual es una nueva especie de microchicharrita en el país, recientemente descrita y reportada por primera vez por Arrieta-Arrieta et al. (2025), que también reportaron nuevos registros de las especie de *M. laceiba* (Ross & Cunningham, 1960) en las zonas productoras de papaya en las provincias de Limón y Puntarenas (Arrieta-Arrieta et al. 2025).

Con la investigación realizada por Arrieta-Arrieta et al. (2025), se determinó que existe una diversidad de especies de microchicharritas en la zona de Limón siendo ésta más diversa de lo que se conocía anteriormente. Esto es un hallazgo importante, ya que puede haber un posible cambio en las especies vectores en la región o que *M. papayae* no predomina en el área que se muestreo, o bien que las aplicaciones de insecticidas no permitieran en este estudio encontrar la abundancia de microchicharritas esperada y a los potenciales vectores. Se requiere la necesidad de estudios adicionales para investigar la capacidad de vector ya sea por medio de transmisión viral controlada, y análisis de detección molecular del virus en estas nuevas especies y si tienen una importancia relativa en la transmisión y propagación de los virus en el cultivo de papaya en Costa Rica.

Respecto a las tablas de las comparaciones, existen especies que aún no cuentan con registros de ADN (DNA barcoding) para la correspondiente taxonomía tradicional o morfológica, o por el contrario muchas secuencias de “barcoding” depositadas en bases de datos sin la correspondiente verificación de la especie Chacón et al. (2024); Pentinsaari et al. (2020). Ambas situaciones son contraproducentes cuando se quiere identificar empleando técnicas moleculares. Sin embargo, la abundancia de información, aunque sea “no curada apropiadamente”, pero disponible públicamente, permite ir avanzando en la ciencia, como en este estudio. La disponibilidad de secuencias de los cicadélidos sin identificar encontrados en BOLD nos permitió avanzar y conocer a nivel de subfamilia, además de considerar que es probable que la especie *M. judokuatara* o una muy cercana se encuentre también en México, ya que de acuerdo con Arrieta-Arrieta et al. (2025) *M. judokuatara* se ha encontrado solo en Costa Rica.

Se resalta que en este estudio se lograron las primeras secuencias nucleotídicas parciales para la subunidad I del gen COI para *M. judokuatara* y se espera que éstas, una vez sean depositadas en

GenBank y/o BOLD, faciliten a futuros investigadores la identificación molecular de esta especie cuando no cuenten con la experiencia o colaboración de un especialista en taxonomía tradicional (Altamirano-Benavides & Yanez-Moreta, 2016; Szyp & Sikora, 2019).

Adicionalmente, la técnica molecular empleando los imprimadores para amplificar COI permitió detectar secuencias de un parasitoide himenóptero para la especie *M. judokuatare*. Según Sánchez et al. (2016), las avispa *Anagrus* sp. (himenóptero) impactan las dinámicas poblacionales de microchicharritas en diferentes cultivos. En frijol, se correlacionó con *Anagrus* sp. el cual logra parasitar los huevecillos de *E. fabae* (Sánchez et al. 2016). En el cultivo de la vid, *Erythroneura comes* (Say) es atacado por parasitoides de ninja-adulto de la familia Dryinidae y del género *Aphelopus*, el cual produce un saco larvario en el abdomen de las microchicharritas. Este parasitoide esteriliza a su huésped consumiendo sus órganos reproductivos. Siendo estos recursos naturales excelentes opciones para manejar los insectos vectores de agentes causales (Jarrell et al. 2020).

Desconocemos si el parasitoide encontrado es una especie nueva para la ciencia u otro caso en que no se ha logrado establecer la dupla identificación taxonómica y “barcoding”, pero igualmente se resalta que abre líneas de investigación en el área de entomología básica o bien para el control biológico de plagas de papaya.

En el análisis filogenético realizado (Figura 11), se mostró la separación de las especies asiáticas y las occidentales como se esperaba, pero las posiciones dentro del árbol de secuencias correspondientes a *E. papayae*, por ejemplo, recalca lo mencionado por (Liu et al. 2014; Xu et al. 2021) que indican que existe mucha variabilidad y es necesario que la taxonomía sea verificada, basándose en los análisis morfológicos y filogenéticos. Sin embargo, es necesario que se realice el cambio en la literatura actual y la aceptación de los cambios taxonómicos en bases de datos como BOLD y GenBank, para obtener homogeneidad entre lo disponible en bases de datos y lo que establece la nueva taxonomía para estos cicadélidos.

7. CONCLUSIONES

Se logró confirmar molecularmente la presencia del rhabdovirus en plantas sintomáticas de papaya en el país, mostrando una similitud superior al 97% con las accesiones reportadas en México. Se detectó en cinco de las nueve plantas sintomáticas, lo que sugiere que realizar la identificación visual en complemento con herramientas moleculares resulta más efectivo para el diagnóstico de las enfermedades.

Se logró correlacionar la identificación morfológica y molecular de *M. judokuatara*, en la cual se presentan las primeras secuencias moleculares para dicha especie. Este hallazgo junto con la ausencia de *M. papayae* y la aparición de otras especies de microchicharritas en el lote en estudio aporta información sobre el complejo que existe en esta familia para futuras investigaciones y su manejo. También se requiere estudios sobre el parasitoide encontrado ya que, es una oportunidad para el control biológico de las microchicharritas.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcalá-Briseño, R. I., Casarrubias-Castillo, K., López-Ley, D., Garrett, K. A., & Silva-Rosales, L. (2020). Network analysis of the papaya orchard virome from two agroecological regions of Chiapas, Mexico. *MSystems*, 5(1). <https://doi.org/10.1128/msystems.00423-19>
- Altamirano-Benavides, M., & Yanez-Moretta, P. (2016). El código de barras de ADN (barcoding): una herramienta para la investigación y conservación de la diversidad biológica en Ecuador. *La Granja*, 23(1). <https://doi.org/10.17163/lgr.n23.2016.01>
- Araújo, M. M. M. de, Tavares, É. T., Silva, F. R., Marinho, V. L. de A., & Júnior, M. T. S. (2007). Molecular detection of *Papaya meleira virus* in the latex of *Carica papaya* by RT-PCR. *Journal of Virological Methods*, 146(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2007.07.022>
- Arrieta-Arrieta L.A, Pinedo-Escatel, J. A., Blanco-Rodríguez, E., Martínez, A. V., Herrera, A. G., & Molina-Bravo, R. (2025). Review of the microleafhopper subgenus *Matsumurasca* (*Solanasca*) Ghauri, 1974 (Hemiptera: Cicadellidae) from Costa Rica, with description of a new species and its population dynamics in papaya crops. *Zootaxa*, 5686(2), 198–210. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.5686.2.2>
- Arroyo P., W., Pérez-H., A., Díaz-Soto, J., & Beltrán H, J. (2015). Identificación de morfotipos de *Empoasca* spp. (Hemiptera: Cicadellidae) en agroecosistemas de ñame y yuca (Sucre, Colombia). *Revista Colombiana de Entomología*, 41(2), 163–169. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-04882015000200002
- Barcode of Life Data Systems. (2024). *BOLD v5: identifying species through DNA barcodes*. <https://www.boldsystems.org/>
- Barrantes-Santamaría, W., Loría-Quirós, C., & Gómez-Alpízar, L. (2019). Evaluation of two-sex determining systems in papaya plants (*Carica papaya*) Pococí hybrid. *Agronomía Mesoamericana*, 30(2), 437–446. <https://doi.org/10.15517/am.v30i1.34916>
- Becerra, E. N., Cárdenas, E., Lozoya, H., & Mosqueda, R. (1999). Rhabdovirus en papayo (*Carica papaya* L.) en el sureste de México. *Agronomía Mesoamericana*, 10(2). <https://doi.org/10.15517/am.v10i2.17947>
- Bermúdez-Guzmán, M. D. J., Guzmán-González, S., Lara-Reyna, J., Palmeros-Suárez, P. A., López-Muraira, Irma Guadalupe Gómez-Leyva, J. F. (2017). Presencia de *Papaya*

- ringspot virus (PRSV)* en arvenses asociadas a *Carica papaya* en Colima, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(4), 1–15. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-2>
- Bogantes, A., Mora, E., Umaña, G., & Loría, C. (2010). Guía para la producción de la papaya en Costa Rica. Ministerio de Agricultura y Ganadería. <https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10997.pdf>
- Bogantes, A., Mora, E., Umaña, G., & Loría, C. L. (2011). Guía para el cultivo de la papaya en Costa Rica (p. 59). <http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/F01-10190.pdf>
- CABI. (2021). *Empoasca*. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/20854>
- Carvajal, P. (2010). *Hibridación somática de Carica papaya var. Pococi y Vasconcellea sp. (Brassicales: Caricaceae) mediante electrofusión de protoplastos* [Tesis de Maestría] [Universidad de Costa Rica]. https://www.kerwa.ucr.ac.cr/bitstream/handle/10669/81878/Tesis_Paula_Carvajal_Campos.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Catalano, M. I. (2011). *Cicadélidos vectores de fitoplasmas a cultivos de importancia económica en la Argentina sistemática y bioecología (Insecta Auchenorrhyncha Cicadellidae)* [Tesis Doctoral] [Universidad Nacional de la Plata]. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/5330/Documento_completo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Chacón-Monge, J. L., Abarca-Odio, J. I., & González-Sánchez, K. (2024). Evaluating the reliability of DNA Barcoding for Central American Pacific shallow water echinoderms identification: a molecular taxonomy and database accuracy analysis. *Revista de Biología Tropical*, 72. <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop...v72is1.58997>
- Chavarro Mesa, E. (2011). *Variabilidad genética y detección molecular de poblaciones del hongo Rhizoctonia solani en regiones colombianas productoras de papa* [Tesis de Maestría] [Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/11279/790636.2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Cheng, Z., Li, Q., Deng, J., Liu, Q., & Huang, X. (2023). The devil is in the details: Problems in DNA barcoding practices indicated by systematic evaluation of insect barcodes. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 11. <https://doi.org/10.3389/fevo.2023.1149839>

- Cinco, M. (2019). *Caracterización molecular de fitoplasmas y rickettsias en papaya e insectos del género Empoasca en Colima, México*. [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional].
- Davis, M. J., Kramer, J. B., Ferwerda, F. H., & Brunner, B. R. (1996). Association of bacterium and not phytoplasma with papaya bunchy top disease. *Phytopathology*, 86(1), 1. <https://doi.org/10.1094/Phyto-86-102>
- De Almeida, J. M., Maurastoni, M., Sá-Antunes, T. F., Ventura, J. A., Whitfield, A. E., & Fernandes, P. M. B. (2024). Efforts to understand transmission of the papaya meleira virus complex by insects. *Tropical Plant Pathology*, 49(4), 467–479. <https://doi.org/10.1007/s40858-024-00661-5>
- De la Cruz, J., Vela, G., & García, H. (2003). *Pawpaw: Post-harvest operation*. INPhO-Post-Harvest Compendium, 1–70. Food and Agriculture Organization of the United Nations https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compndium_-_Pawpaw_Papaya_.pdf
- Di Mattia, J., Zeddám, J.-L., Uzest, M., & Blanc, S. (2023). The helper strategy in vector-transmission of plant viruses. *Peer Community Journal*, 3, e32. <https://doi.org/10.24072/pcjournal.258>
- Escalante, C., Sanz-Saez, A., Jacobson, A., Otulak-Kozieł, K., Kozieł, E., Balkcom, K. S., Zhao, C., & Conner, K. (2024). Plant virus transmission during seed development and implications to plant defense system. *Frontiers in Plant Science*, 15(May), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1385456>
- FAOSTAT. (2025). *FAOSTAT*. Food and Agriculture Organization of the United Nations <https://www.fao.org/faostat/es/#compare>
- Fetters, A. M., & Ashman, T. L. (2023). The pollen virome: A review of pollen-associated viruses and consequences for plants and their interactions with pollinators. *American Journal of Botany*, 110(6). <https://doi.org/10.1002/ajb2.16144>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5).
- Gaafar, Y. Z. A., Richert-Pöggeler, K. R., Maaß, C., Vetten, H.-J., & Ziebell, H. (2019). Characterization of a novel nucleorhabdovirus infecting alfalfa (*Medicago sativa*). *Virology Journal*, 16(1), 55. <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1147-3>

- Gamboa Cortes. (2019). *Identificación taxonómica y molecular de especies del nematodo lesionador de la raíz *Pratylenchus** [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional]. https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/18163/TFG_Eduardo_Gamboa_Cortés.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- García-Cámara, I., Tapia-Tussell, R., Magaña-Álvarez, A., Velázquez, A. C., Martín-Mex, R., Moreno-Valenzuela, O., & Pérez-Brito, D. (2019). *Empoasca papayae* (Hemiptera: Cicadellidae)-mediated transmission of *Papaya meleira virus*-Mexican variant in Mexico. *Plant Disease*, 103(8), 2015–2023. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-18-1101-RE>
- Gijón, A., Torres, B., & Pérez, I. (2021). Biología molecular: herramienta para la determinación oportuna de insectos plaga. In C. Méndez (Ed.), *Insectos de importancia cuarentenaria forestal: Determinación, riesgo y distribución* (1. ed pp. 25-48). <https://www.researchgate.net/publication/355916526>
- Gilariortua, M., Saloña Bordas, M. I., & Martínez De Pancorbo, M. (2015). Uso de vestigios moleculares en entomología forense. *Ciencia Forense*, 12. <https://ifc.dpz.es/recursos/publicaciones/35/14/02gilariortua.pdf>
- González-Garza, R. (2017). Evolución de técnicas de diagnóstico de virus fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-1>
- Guzmán-González, S., Rentería-Campos, J. R., Valadez-Ramírez, P., Buenrostro-Nava, M. T., Manzo-Sánchez, G., & Fraire Velázquez, S. (2017). Identificación molecular de virus asociados al cultivo de papayo (*Carica papaya* L.) ‘Maradol’ en el estado de Colima. *Biotecnología y Sustentabilidad*, 2(1), 115–120. <https://doi.org/10.57737/biotecnologiaysust.v2i1.223>
- Hall, T. (2023, April 21). *Bioedit*. Software Informer. <https://bioedit.software.informer.com/Descargar-gratis/>
- Hebert, P. D. N., Cywinska, A., Ball, S. L., & DeWaard, J. R. (2003). Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 270(1512). <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>
- Hernández, C. D. (2014). *Dinámica poblacional y preferencia de *Empoasca papayae* Oman en seis cultivares de papaya (*Carica papaya* L.) introducidos en Jagüey Grande*. [Tesis de diploma, Universidad de Matanzas Camilo Cienfuegos]. <http://cict.umcc.cu/repositorio/tesis/Trabajos de Diploma/Agronomía/2014/Dinámica>

- poblacional y preferencia de *Empoasca papayae* Oman en seis cultivares de papaya (*Carica papaya* L.) introducidos en Jagüey Grande (Carlos Díaz Hernández).pdf
- Hernández-Rodríguez, L., Pérez López, E., Luis Pantoja, M., & Peña Bárzaga, I. (2014). Evaluación de dos técnicas para la detección molecular de rickettsia asociada a la enfermedad del cogollo arrepollado del papayo en Cuba. *Revista de protección vegetal. Revista de Protección Vegetal*, 29(2), 82–93. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522014000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Hewajulige, I. G. N., & Dhekney, S. A. (2016). Papayas. En *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 209–212). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00517-1>
- Hu, Y., Dietrich, C. H., Skinner, R. K., & Zhang, Y. (2023). Phylogeny of Membracoidea (Hemiptera: Auchenorrhyncha) based on transcriptome data. *Systematic Entomology*, 48(1). <https://doi.org/10.1111/syen.12563>
- Huang, J., Ting, C., Lee, W., Lee, C., Chin, S., & Chen, F. (2020). *The papaya botany, production and uses (flowering and sex expression)*. CABI. <https://lccn.loc.gov/2020018106>
- Huerta, A. (2016). *Detección de frutos de papaya (Carica papaya L.) genéticamente modificados, comercializados en México por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)* [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México]. https://repositorio.unam.mx/contenidos/deteccion-de-frutos-de-papaya-carica-papaya-l-geneticamente-modificados-comercializados-en-mexico-por-reaccion-en-ca-261977?c=n9plBo&d=false&q=*&i=2&v=1&t=search_0&as=0
- Jarrell, K. R., Rebek, E. J., Wayadande, A. C., & Giles, K. L. (2020). Biology, ecology, and management of eastern grape leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae), a key pest of vineyards in North America. *Journal of Integrated Pest Management*, 11(1). <https://doi.org/10.1093/jipm/pmaa003>
- Jiang, T., & Zhou, T. (2023). Unraveling the mechanisms of virus-induced symptom development in plants. In *Plants* 12(15). <https://doi.org/10.3390/plants12152830>
- Jiménez Díaz, J. A. (2002). *Manual práctico para el cultivo de la papaya hawaiana*. Universidad EARTH. <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/90022688.pdf>

- Kanapiya, A., Amanbayeva, U., Tulegenova, Z., Abash, A., Zhangazin, S., Dyussebayev, K., & Mukiyanova, G. (2024). Recent advances and challenges in plant viral diagnostics. *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1451790>
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., and Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Lamprecht, R. L., Pietersen, G., Kasdorf, G. G. F., & Nel, L. H. (2009). Characterization of a proposed nucleorhabdovirus new to South Africa. *European Journal of Plant Pathology*, 123(1). <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9339-5>
- Lastra, R. (1981). Papaya apical necrosis, a new disease associated with Rhabdovirus. *Plant Disease*, 65(5). <https://doi.org/10.1094/pd-65-439>
- León González, R. (2022). Diagnóstico de los artrópodos asociados a *Carica papaya* y su relación con la transmisión de rhabdovirus y “Bunchy Top” (rickettsias) en la Estación Experimental Los Diamantes, Guápiles (Informe técnico no publicado). Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria (INTA).
- Liu, Y., Fletcher, M. J., Dietrich, C. H., & Zhang, Y.-L. (2014). New species and records of *Asymmetrasca* (Hemiptera: Cicadellidae: Typhlocybinæ: Empoascini) from China and name changes in *Empoasca* (*Matsumurasca*). *Zootaxa*, 3768(3). <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3768.3.4>
- Loría Paniagua, D. (2012). *Estudio de prefactibilidad para la exportación de papaya híbrida Pococí al mercado canadiense, producida en tanque de San Carlos, Alajuela, Costa Rica* [Tesis de Licenciatura, Universidad de Costa Rica]. <https://doi.org/10.18845/rea.v2i1.3658>
- Marys, E. E., Carballo, O., & Izaguirre-Mayoral, M. L. (2000). Occurrence and relative incidence of viruses infecting papaya in Venezuela. *Annals of Applied Biology*, 136(2). <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2000.tb00016.x>
- Maurino, M. (2016). *Caracterización biológica y molecular de un rhabdovirus causal de mosaico estriado amarillo en maíz (Zea mays L.) en Argentina* [Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba]. [https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/14679/Tesis M F Maurino.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://rdu.unc.edu.ar/bitstream/handle/11086/14679/Tesis%20M%20F%20Maurino.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Medina-Salguero, A. X., Cornejo-Franco, J. F., Grinstead, S., Mollov, D., Mowery, J. D., Flores, F., & Quito-Avila, D. F. (2019). Sequencing, genome analysis and prevalence

- of a cytorhabdovirus discovered in *Carica papaya*. *PLoS ONE*, 14(6), 1–15.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215798>
- Mejías, Y., Rodríguez, D. y González, G. (1987). Rhabdovirus asociado a síntomas de necrosis apical en fruta bomba *Carica papaya* en Cuba. *Ciencia y Técnica en la Agricultura: Protección de Plantas*, 10(2), 57-62.
- Montero, A. (2021). *Plan para el fortalecimiento del sector papayero del Caribe*. Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica.
<https://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/E14-7434.pdf>
- Morgan, J. K., Luzio, G. A., Ammar, E. D., Hunter, W. B., Hall, D. G., & Shatters, R. G. (2013). Formation of stylet sheaths in aere (in air) from eight species of phytophagous hemipterans from six families (Suborders: Auchenorrhyncha and Sternorrhyncha). *PLoS ONE*, 8(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062444>
- National Center for Biotechnology Information. (2022). *GenBank* [Base de datos].
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>
- Nivetha, T., Renukadevi, P., Gayathri, M., Indra, N., Vidhya, D., & Rajagopal, B. (2025). Global scenario of viruses infecting papaya. *3 Biotech*, 15(7), 1–18.
<https://doi.org/10.1007/s13205-025-04370-x>
- Oh, S., Kim, E., & Jung, S. (2022). Two newly recorded genera of the tribe Empoascini (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadellidae: Typhlocybinæ) from Korea with a key to the Korean Empoascini genera. *Journal of Asia-Pacific Biodiversity*, 15(1).
<https://doi.org/10.1016/j.japb.2021.09.007>
- Paradell, S., & Cavichioli, R. R. (2014). Cicadellidae. In *Biodiversidad de Artrópodos Argentinos*. (Vol.3, pp. 433-465)
<https://api.naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/server/api/core/bitstreams/ebebc460-4fc7-44a9-b848-29954e5e0088/content>
- Paredes, M., & Yugsi, I. (2016). *Identificación molecular de cepas de levaduras con capacidad fermentativa y resistencia alcohólica aisladas de pitahaya (Stenocereus queretaroensis f.a.c Weber)* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito]. <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/12145/1/UPS-QT09701.pdf>
- Pentinsaari, M., Ratnasingham, S., Miller, S. E., & Hebert, P. D. N. (2020). BOLD and GenBank revisited: Do identification errors arise in the lab or in the sequence libraries. *PLoS ONE*, 15(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231814>

- Pérez, F. (2018). *Estudio de los mosquitos verdes (Hemiptera: Cicadellidae) en el pimiento en invernadero del campo de Cartagena* [Tesis de maestría, Universidad Miguel Hernández de Elche]. <https://hdl.handle.net/11000/5366>
- Pinedo- Escatel, A., & Moya-Raygoza, G. (2018). Riqueza taxonómica de chicharritas (Hemiptera: Cicadellidae) occidentales en cultivos relacionados a vegetación silvestre en México. *Entomología Mexicana*, 5, 593–599. [https://acaentmex.org/entomologia/revista/2018/SM/SM 593-599.pdf](https://acaentmex.org/entomologia/revista/2018/SM/SM%20593-599.pdf)
- Pinheiro-Lima, B., Pereira-Carvalho, R. C., Alves-Freitas, D. M. T., Kitajima, E. W., Vidal, A. H., Lacorte, C., Godinho, M. T., Fontenele, R. S., Faria, J. C., Abreu, E. F. M., Varsani, A., Ribeiro, S. G., & Melo, F. L. (2020). Transmission of the bean-associated cytorhabdovirus by the whitefly *Bemisia tabaci* MEAM1. *Viruses*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/v12091028>
- Pombo, D., & Bourgoïn, T. (2012). *Árbol de la Vida: sistemática y evolución de seres vivos*. Museo Nacional de Ciencias Naturales.
- PROCOMER. (2025). *Manual técnico calidad de postcosecha papaya*. Promotora del Comercio Exterior de Costa Rica. <https://www.descubre.cr/wp-content/uploads/2025/04/Manual-Tecnico-Postcosecha-de-Papaya.pdf>
- Quito-Avila, D. F., Reyes-Proañó, E., Cañada, G., Cornejo-Franco, J. F., Álvarez-Quinto, R., Moreira, L., Grinstead, S., Mollov, D., & Karasev, A. V. (2023). Papaya sticky disease caused by virus “couples”: A challenge for disease detection and management. *Plant Disease*, 107(6), 1649–1663. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-22-2565-FE>
- Ramírez-Rojas, S., Osuna-Canizalez, F. D. J., García-Pérez, F., Canul-Ku, J., Hernández-Romano, J., Ornelas-Ocampo, K., & Landa-Salgado, P. (2016). Identificación molecular de bacterias asociadas a plantas ornamentales producidas in vitro. *Revista Mexicana de Fitopatología*. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1511-3>
- Ranawaka, B., Hayashi, S., Waterhouse, P. M., & de Felippes, F. F. (2020). *Homo sapiens: The superspreader of plant viral diseases*. *Viruses*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/v12121462>
- Rubio, L., Galipienso, L., & Ferriol, I. (2020). Detection of plant viruses and disease management: relevance of genetic diversity and evolution. *Frontiers in Plant Science* (Vol. 11). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01092>

- Sánchez, E., Lozano, J., España, M., & Balleza, J. (2016). Entomología Mexicana. *Poblaciones de Empoasca kraemeri (Ross y Moore, 1957) (Hemiptera: Cicadellidae) y el parasitoide Anagrus sp. (Haliday, 1833) (Hymenoptera: Mymaridae) En El Cultivo Del Frijol* Entomología Mexicana, 382–385.
- Szyp-Borowska, I., & Sikora, K. (2019). DNA barcoding: A practical tool for the taxonomy and species identification of entomofauna. *Forest Research Papers*, 80(3). <https://doi.org/10.2478/frp-2019-0021>
- Tamura K. and Nei M. (1993). Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution* 10:512-526.
- Teixeira, J. A., Rashid, Z., Tan, D., Dharini, N., Gera, A., Teixeira, M., Jr, S., & Tennant, P. F. (2007). Papaya (*Carica papaya* L.) biology and biotechnology. *Global Science Books*. <https://edepot.wur.nl/10209>
- Valencia Sandoval, K., Duana Ávila, D., & Hernández Gracia, T. J. (2017). Estudio del mercado de papaya mexicana: un análisis de su competitividad (2001-2015). *Suma de Negocios*, 8(18), 131–139. <https://doi.org/10.1016/J.SUMNEG.2017.10.002>
- Velasco, V. (2020). *Valorización agroindustrial de pigmentos carotenoides extraídos de residuos de papaya (Carica papaya L.) y guayaba (Psidium guajava) como colorante natural en salchichas Frankfurt* [Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78311/1113619347.2020.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ventura, J. A., Costa, H., & Tatagiba, J. da S. (2006). Papaya diseases and integrated control. *Diseases of Fruits and Vegetables (Volume II, pp. 201–268)*. Springer. https://doi.org/10.1007/1-4020-2607-2_7
- Wait, A. (2021). ScholarWorks UARK Characterization, Incidence, and Epidemiology of Two Novel Strawberry Rhabdoviruses. Graduate Theses and Dissertations. <https://scholarworks.uark.edu/etd/4049>
- Walker, P. J., Blasdell, K. R., Calisher, C. H., Dietzgen, R. G., Kondo, H., Kurath, G., Longdon, B., Stone, D. M., Tesh, R. B., Tordo, N., Vasilakis, N., & Whitfield, A. E. (2018). ICTV virus taxonomy profile: Rhabdoviridae. *Journal of General Virology*, 99(4), 447–448. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001020>

- Wan, S. H. y Conover, R. A. (1981). A rhabdovirus associated with a new disease of Florida papayas. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 94, 318-321.
- Wang, Y. M., Ostendorf, B., Gautam, D., Habili, N., & Pagay, V. (2022). Plant viral disease detection: from molecular diagnosis to optical sensing technology—A multidisciplinary review. *Remote Sensing* (Vol. 14, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/rs14071542>
- Watanabe, S., Masamura, N., Satoh, S., & Hirao, T. (2024). Evaluating the effectiveness of DNA barcoding for insect identification: a comprehensive review. *Entomology Letters*, 4(2), 34–41. <https://doi.org/10.51847/ZVNniNFsOR>
- Xu, Y., Dietrich, C. H., Zhang, Y. L., Dmitriev, D. A., Zhang, L., Wang, Y. M., Lu, S. H., & Qin, D. Z. (2021). Phylogeny of the tribe Empoascini (Hemiptera: Cicadellidae: Typhlocybinae) based on morphological characteristics, with reclassification of the *Empoasca* generic group. *Systematic Entomology*, 46(1). <https://doi.org/10.1111/syen.12461>
- Yang, F., Ding, F., Chen, H., He, M., Zhu, S., Ma, X., Jiang, L., & Li, H. (2018). DNA Barcoding for the identification and authentication of animal species in traditional medicine. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* (Vol. 2018). <https://doi.org/10.1155/2018/5160254>
- Yigezu Wendimu, G., & Kassaye Gurm, A. (2024). Insect vectors of plant viruses: host interactions, their effects, and future opportunities. *Advances in Agriculture*, 2024(1). <https://doi.org/10.1155/aia/6006985>
- Zarco, U. (2022). *Especie predominante del género Empoasca en papaya (Carica papaya L.) en el valle de Apatzingán, Michoacán y su implicación en la transmisión del virus meleira* [Tesis de maestría, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo]. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/8452/IIQB-M-2022-0930.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Zettler, F. W. y Wan, S. H. (1994). Papaya diseases caused by virus. En R. C. Ploetz, G. A. Zentmeyer, W. T. Nishijima, K. G. Rohrbach y H. D. Ohr (Eds.), *Compendium of tropical fruit diseases* (pp. 66-68). APS Press.
- Zhang, H., & Bu, W. (2022). Exploring large-scale patterns of genetic variation in the COI gene among insecta: implications for DNA barcoding and threshold-based species delimitation studies. *Insects*, 13(5), 425. <https://doi.org/10.3390/insects13050425>