

## ***Phytophthora palmivora* agente causal de la pudrición de fruto de papaya (*Carica papaya*) en Chiapas, México.**

***Phytophthora palmivora* causal agent of papaya fruit rot (*Carica papaya*) in Chiapas, Mexico.**

Gerardo Rodríguez-Alvarado<sup>1</sup>, Marlene Díaz-Celaya<sup>1</sup>, Niklaus J. Grünwald<sup>2</sup>, Valerie Fieland<sup>2</sup>, Edith Garay-Serrano<sup>3</sup>, Sylvia Patricia Fernández-Pavía<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Patología Vegetal, IIAF, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. <sup>2</sup>United States Department of Agriculture-Oregon State University.<sup>3</sup>INECO.

### **Resumen**

México es el tercer productor a nivel mundial de papaya y uno de los principales países exportadores. A nivel nacional, Chiapas es el tercer estado productor, después de Oaxaca y Colima. *Phytophthora palmivora* es uno de los patógenos que se ha reportado causando pudrición en frutos y raíces, y se considera una de las principales enfermedades de la papaya en el ámbito mundial. Durante 2017, se observaron frutos de papaya var. Maradol con síntomas de pudrición en huertas comerciales en Chiapas. El objetivo de este trabajo fue identificar el agente causal de la pudrición, por lo que en agosto de 2017 se colectaron frutos con síntomas y muestras de suelo de un campo de cultivo en Frontera Hidalgo, Chiapas. Se obtuvieron cuatro aislados en medio selectivo, estos se crecieron en medio V-8, y se caracterizaron morfológica y molecularmente al amplificar la región ITS del ADN ribosomal con los oligonucleótidos ITS6 e ITS4 y la región del gen mitocondrial COI (citocromo oxidasa subunidad 1). También se realizaron pruebas de patogenicidad, para lo cual se inocularon frutos de papaya con discos de micelio, incubándose a  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ . Los aislados presentaron esporangios papilados, con pedicelos cortos, caducos, ovoides ( $28-38 \times 40-53 \mu\text{m}$ ), originados en esporangióforos ramificados en simpodios simples,

### **Abstract**

Mexico is the third largest producer of papaya in the world and one of the main exporting countries. Chiapas is the third producing state nationwide, after Oaxaca and Colima. *Phytophthora palmivora* is one of the pathogens that has been reported to cause rot in fruits and roots, and is considered one of the main diseases of papaya in the world. During 2017, papaya fruits var. Maradol with rot symptoms in commercial orchards in Chiapas were observed. The objective of this work was to identify the causal agent of fruit rot, for which in August 2017 fruits with symptoms and soil samples were collected from a cultivation field in Frontera Hidalgo, Chiapas. Four isolates were obtained in selective medium, these were grown in V-8 medium, and they were morphologically and molecularly characterized by amplifying the ITS region of ribosomal DNA with the ITS6 and ITS4 oligonucleotides and the region of the mitochondrial gene COI (cytochrome oxidase subunit I). Pathogenicity tests were also carried out, for which papaya fruits were inoculated with mycelium discs, incubated at  $25\pm1^{\circ}\text{C}$ . The isolates presented papillate sporangia, with short pedicels, deciduous, ovoid ( $28-38 \times 40-53 \mu\text{m}$ ), originated in branched sporangiophores in simple sympodia, terminal globose chlamydospores ( $32-42 \times 32-42.5 \mu\text{m}$ ), amphigynous antheridia ( $8-13 \times 10-14 \mu\text{m}$ ) and

clamidosporas globosas terminales (32-42 x 32-42.5  $\mu\text{m}$ ), de anteridios anfiginos (8-13 x 10-14  $\mu\text{m}$ ) y oosporas pleróticas (25-35 x 26-36  $\mu\text{m}$ ). Las secuencias obtenidas mostraron 100% de cobertura para ITS y COI y 99.87% identidad para ITS y 100% para COI con *P. palmivora*. De acuerdo con las evidencias morfológicas, moleculares y de patogenicidad obtenidas, se determinó que *P. palmivora* es el agente causal de los síntomas de pudrición de fruto en papaya var. Maradol en Chiapas.

**Palabras clave:** oomicete, temporada de lluvias, ITS, var. Maradol.

#### Autor para correspondencia:

[fpavia@umich.mx](mailto:fpavia@umich.mx)

## Introducción

Durante el año 2016 en México se sembraron 19,000 ha de papaya (*Carica papaya*), con una producción de 952,000 t, por lo que el consumo nacional se satisface completamente. Alrededor de 169,000 t se destinan a exportación principalmente a Estados Unidos. El principal estado productor de papaya es Oaxaca con una producción de 275,000 t, seguido de Colima, Chiapas (Fig. 1), Veracruz y Michoacán (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2017a).

En el 2016, México se ubicó en primer lugar entre los países exportadores de papaya a nivel mundial, seguido por Guatemala y Brasil cuyas exportaciones fueron de 49,600 y 37,900 t, respectivamente. Se estima que para el año 2030 la producción de papaya en México aumente en un 30%. Esta fruta es una fuente de vitaminas A, B y C, así como de magnesio, potasio, calcio, hierro y fibra (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2017a; SAGARPA, 2017b).

Las enfermedades de la papaya causan pérdidas económicas importantes que pueden

plerotic oospores (25-35 x 26-36  $\mu\text{m}$ ). The sequences obtained showed 100% coverage with ITS and COI and 99.87% identity for ITS and 100% for COI with *P. palmivora*. According to the morphological, molecular and pathogenic evidences obtained, it was determined that *P. palmivora* is the causal agent of the fruit rot symptoms in papaya var. Maradol in Chiapas.

**Keywords:** oomycete, rainy season, ITS, var. Maradol.

## Introduction

During 2016, 19,000 ha of papaya (*Carica papaya*) were planted in Mexico, with a production of 952,000 t, so nationwide consumption is fully satisfied. Around 169,000 t are destined for export mainly to the United States. The main papaya producing state is Oaxaca with a production of 275,000 t, followed by Colima, Chiapas (Fig. 1), Veracruz and Michoacán (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2017b).

In 2016, Mexico ranked first among the exporting countries of this crop worldwide, followed by Guatemala and Brazil whose exports were 49,600 and 37,900 t, respectively. It is estimated that by the year 2030 papaya production in Mexico will increase by 30%. This fruit is a source of vitamins A, B and C, as well as magnesium, potassium, calcium, iron and fiber (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2017a; SAGARPA, 2017).

Papaya diseases cause significant economic losses that can reach up to 100% in the entire commercial chain, from field production and sale to the export of fresh fruit. In general, the impact of papaya diseases depends on the region where it occurs depending on the climatic conditions and the management that is given to the crop, to mention some factors (Aires et al., 2004).

llegar hasta el 100% en toda la cadena comercial, desde producción en campo y venta hasta la exportación de fruta fresca. De manera general el impacto de las enfermedades de la papaya depende de la región donde se produce en función de las condiciones climáticas y el manejo que se les da al cultivo, por mencionar algunos factores (Aires et al, 2004).

Several pathogens cause crop damage in Mexico, among which are bacteria, phytoplasmas, fungi, nematodes, oomycetes and viruses (Rojas-Martínez et al., 2011; Fernández-Pavía et al., 2015). Regarding oomycetes, *Phytophthora palmivora* and *P. parasitica* have been reported in Colima, Guerrero, Morelos, San Luis Potosí and



**Figura 1.** Cultivo de papaya en la Frontera Hidalgo, Chiapas.

**Figure 1.** Papaya crop in Frontera Hidalgo, Chiapas.

Diversos patógenos ocasionan daños en el cultivo en México, entre los que se encuentran bacterias, fitoplasmas, hongos, nematodos, oomicetes y virus (Rojas-Martínez et al. 2011, Fernández-Pavía et al., 2015). En lo que respecta a oomicetes se ha reportado a *Phytophthora palmivora* y *P. parasitica* en Colima, Guerrero, Morelos, San Luis Potosí y Veracruz (García-Álvarez, 1976; García-Álvarez, 1981; Erwin and Ribeiro, 1996; Fernández-Pavía et. al. 2015). *P. palmivora* causa pérdidas importantes en este cultivo en el ámbito mundial, ocasiona una pudrición severa en los frutos y raíces (Nelson, 2008), por lo que

Veracruz (García-Álvarez, 1976; García-Álvarez, 1981; Erwin and Ribeiro, 1996; Fernández- Pavía et al., 2015). *P. palmivora* is a pathogen that causes significant losses in this crop worldwide, as it induces severe rotting on fruits and roots (Nelson, 2008), which is why it is considered one of the main diseases of this crop (Cruz et al., 2016).

In Oaxaca state, typical symptoms of the disease caused by *P. palmivora* have been observed in papaya fruits; however, it has not been possible to isolate the pathogen for its proper identification (Cruz et al., 2016). During 2017, similar symptoms were observed in

se le considera una de las principales enfermedades de este cultivo (Cruz et al., 2016).

En el estado de Oaxaca se han observado síntomas típicos de la

commercial orchards of this fruit tree in Chiapas. To date, there are no reports about this pathogen in Chiapas, so the objective of this work was to identify the causal agent of fruit rot in papaya var. Maradol in Chiapas.



**Figura 2.** Fruto de papaya con síntomas de pudrición. Se observa micelio blanco, mientras que en preparaciones se observaron bajo el microscopio esporangios y clamidosporas.

**Figure 2.** Papaya fruit with rot symptoms. White mycelium is observed, while sporangia and chlamydospores were observed under the microscope.

enfermedad ocasionada por *P. palmivora* en frutos de papaya; sin embargo, no se ha podido aislar el patógeno para su adecuada identificación (Cruz et al., 2016). Durante el 2017, se observaron síntomas similares en huertas comerciales de este frutal en Chiapas. A la fecha, no existen reportes acerca de este patógeno en Chiapas, por lo que el objetivo de este trabajo fue identificar el agente causal de los síntomas de pudrición en frutos de este

## Materials and methods

In August 2017, tissue samples with symptoms of rotting and soil (this sample was taken near diseased plants) were collected from a papaya crop field in the municipality of Frontera Hidalgo, Chiapas (Figs. 1, 2).

To isolate the pathogen from soil, 10 g of soil and 20 mL of sterile distilled water were placed in Petri dishes. To each of the plates 5 azalea leaves (*Rhododendron* sp.) were added,

hospedante.

## Materiales y Métodos

En agosto de 2017 se colectaron muestras de tejido con síntomas de pudrición y suelo (esta muestra se tomó cerca de plantas enfermas) de un campo de cultivo de papaya en el municipio de Frontera Hidalgo, Chiapas (Figs. 1, 2).

Para aislar al patógeno del suelo se colocaron 10 g de suelo y 20 mL de agua destilada estéril en cajas de Petri. A cada una de las cajas se le agregaron 5 hojas de azalea (*Rhododendron* sp.) previamente desinfestadas superficialmente con agua corriente y jabón, secadas, asperjadas con etanol [70%] y finalmente secadas a temperatura ambiente (25 °C). Para permitir que el patógeno infectara las hojas de azalea, las cajas se incubaron en oscuridad durante 24 h a 25 °C. Posteriormente, para aislar al patógeno de las hojas infectadas, estas se lavaron con agua destilada estéril para quitar los residuos de suelo, después se sumergieron en una solución diluida de cloro al 1% (i. a. hipoclorito de sodio 6%) durante 30 seg y se lavaron nuevamente con agua destilada estéril, y se secaron con papel absorbente estéril. Las hojas se sembraron en condiciones asépticas en cajas de Petri con medio selectivo agar jugo V8 PARPH [15 g de agar, 3 g de CaCO<sub>3</sub>, 160 mL de jugo V8 Campbell, 840 mL de agua destilada, y suplementado con los antibióticos pimaricina (0.02 g L<sup>-1</sup>), ampicillina (0.27 g L<sup>-1</sup>), rifampicina (0.01 g L<sup>-1</sup>), y los fungicidas pentacloronitrobenceno (0.10 g L<sup>-1</sup>) e himexazol (0.075 g L<sup>-1</sup>)]. Se incubaron a 25 °C durante 48 h. Para la obtención de aislados de los frutos se lavó el tejido infectado con agua corriente, se realizaron varios cortes de (5 a 10 mm<sup>2</sup>) a partir del borde de la lesión, después las secciones de tejido se lavaron con agua destilada estéril y se sumergieron en una solución diluida de cloro comercial al 10% (i. a. hipoclorito de sodio 6%) durante 30 seg, el tejido se lavó nuevamente con agua destilada

previamente desinfestada con tap water and soap, dried, sprayed with ethanol [70%] and finally dried at room temperature (25 °C). To allow the pathogen to infect the azalea leaves, the plates were incubated in the dark for 24 h at 25 °C. Subsequently, to isolate the pathogen from the infected leaves, these were washed out with sterile distilled water to remove soil residues, then they were immersed in a diluted 1% chlorine solution (a. i. 6% sodium hypochlorite) for 30 sec and washed again with sterile distilled water, to finally dry them up with sterile absorbent paper. The leaves were plated out under aseptic conditions in Petri dishes with selective medium V8 PARPH juice agar [15 g of agar, 3 g of CaCO<sub>3</sub>, 160 mL of V8 Campbell juice, 840 mL of distilled water, and supplemented with the antibiotics pimaricin (0.02 g L<sup>-1</sup>), ampicillin (0.27 g L<sup>-1</sup>), rifampicin (0.01 g L<sup>-1</sup>), and the fungicides pentachloronitrobenzene (0.10 g L<sup>-1</sup>) and hymexazole (0.075 g L<sup>-1</sup>)]. They were incubated at 25 °C for 48 h. To obtain isolates from the fruits, the infected tissue was washed out with tap water, several cuts (5 to 10 mm<sup>2</sup>) were made from the edge of the lesion, then the tissue sections were washed with sterile distilled water and submerged in dilute 10% commercial chlorine solution (a. i. 6% sodium hypochlorite) for 30 sec, the tissue was washed again with sterile distilled water and dried up with sterile absorbent paper. The tissue sections were plated out in Petri dishes with V8 PARPH juice agar culture medium and incubated in the dark at 25 °C for 24-48 h.

The hyphal tips from the fungal colonies were transferred to 2% agar-water medium for purification (Tuite, 1969). Subsequently, they were grown in corn meal agar medium (17 g L<sup>-1</sup>) for 7 days, agar discs with mycelium of 6 mm in diameter were cut and stored in microtubes with sterile distilled water at 15 °C in the Oomycetes Collection of the Plant Pathology Laboratory of the UMSNH.

For morphological characterization, the isolates were grown for 10 days on V8 juice

estéril y se secó con papel absorbente estéril. Las secciones de tejido, se sembraron en cajas de Petri con medio de cultivo agar jugo V8 PARPH y se incubaron en oscuridad a 25 °C durante 24-48 h.

Las colonias obtenidas se transfirieron a medio agar-agua 2 % para su purificación por medio de punta de hifa (Tuite, 1969). Posteriormente, se crecieron en medio agar harina de maíz (17 g L<sup>-1</sup>) durante 7 días, se cortaron discos de agar con micelio de 6 mm de diámetro y se almacenaron en microtubos con agua destilada estéril a 15 °C en la Colección de Oomicetes del Laboratorio de Patología Vegetal de la UMSNH.

Para la caracterización morfológica los aislados se crecieron durante 10 días en medio agar jugo V8. El tipo de compatibilidad sexual se determinó mediante cruzas en el mismo medio de cultivo y se incubaron en oscuridad durante 7 días, se usaron los aislados de referencia A1 y A2 de *P. capsici* de la colección de Oomicetes.

Para la caracterización molecular, un aislado se sembró en medio de cultivo jugo V8 con un filtro de policarbonato (Nucleopore, 47 mm, tamaño de poro 0,4μ) durante cuatro días, posteriormente se tomaron aproximadamente 50 mg de micelio de la superficie del filtro. El ADN genómico se obtuvo con un kit Omega Mag-Bind® plant DNA DS siguiendo las instrucciones del fabricante. Este procedimiento se realizó en el Center for Genome Research and Biocomputing (CGRB) en la Universidad Estatal de Oregon, Corvallis, Oregon. Se amplificaron las regiones ITS6 (GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) del ADNr y la región del gen mitocondrial COI [citocromo oxidasa subunidad 1] (oligonucleótidos utilizados OomCoxI-Levup y OomCoxI-Levlo, Robideau et al., 2011). La región ITS fue amplificada por PCR de acuerdo a protocolos previamente publicados (Grünwald et al., 2011). Las reacciones PCR para amplificar la región COI se realizaron en un volumen de 25

agar medium. The mating type was determined by crosses in the same culture medium and incubated in the dark for 7 days. Reference isolates A1 and A2 of *P. capsici* from the Oomycetes Collection were used.

For molecular characterization, an isolate was cultured on V8 juice medium with a polycarbonate filter (Nucleopore, 47 mm, pore size 0.4μ) for four days. Subsequently, approximately 50 mg of mycelium were taken from the filter surface. Genomic DNA was extracted with the Omega Mag-Bind® plant DNA DS kit following the manufacturer's instructions. This procedure was performed at the Center for Genome Research and Biocomputing (CGRB) at Oregon State University, Corvallis, Oregon. The ITS6 (GAAGGTGAAGTCGTAACAAGG) and ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) primers for the ITS, and the region of the mitochondrial gene COI [cytochrome oxidase subunit I] (primers OomCoxI-Levup and OomCoxI-Levlo from Robideau et al., 2011) were amplified. The ITS region was amplified using PCR methods previously published (Grünwald et al., 2011). The reaction volume to amplify the COI region was 25 μl containing final concentrations of 0.2 mM dNTP, 1.0 μM OomCoxI-Levup and OomCoxI-Levlo primers, 1× Taq buffer (including 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>), and Taq polymerase (Genscript Corporation, Piscataway, NJ) at 0.05 unit/μl. PCR conditions were 94°C for 3 min, followed by 35 cycles of 94°C for 30 sec, 50°C for 30 sec, and 72°C for 45 sec, then a final extension for 10 min at 72°C. Sequencing was done on an ABI 3730 capillary machine by the CGRB. The sequences obtained were compared using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) program of the National Center for Biotechnology Information (NCBI).

The pathogenicity tests were performed on five healthy papaya fruits var. Maradol, which were washed out with soap and tap water and subsequently desinfested with

$\mu\text{l}$  que contenía dNTPs (0.2 mM), los oligonucleótidos OomCoxI-Levup y OomCoxI-Levlo (1.0  $\mu\text{M}$ ), buffer Taq 1x Taq (que incluye 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>) y 0.05 unidades/ $\mu\text{l}$  de Taq polimerasa (Genscript Corporation, Piscataway, NJ. EUA). Las condiciones de PCR fueron 94 °C durante 3 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C durante 30 seg, 50 °C durante 30 seg y 72 °C durante 45 seg, para finalizar con un paso de extensión final a 72 °C durante 10 min. La secuenciación se llevó a cabo en un secuenciador capilar ABI 3730 del CGRB. Las secuencias obtenidas fueron comparadas utilizando el programa Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

Las pruebas de patogenicidad se realizaron en cinco frutos de papaya var. Maradol sanos, los cuales se lavaron con agua corriente y jabón y se desinfestaron con etanol [70%]. Cada fruto se inoculó con dos discos de agar con micelio (9 mm de diámetro) de un aislado representativo, de seis días de crecimiento en medio de cultivo agar harina de maíz. Se usaron como testigo tres frutos que se inocularon con discos de medio de cultivo estéril. Los discos de medio de cultivo con micelio y medio de cultivo estéril se retiraron 24 h después de la inoculación. Todos los frutos se mantuvieron en cámara húmeda a 25 °C ±1 hasta que mostraron síntomas de pudrición. El patógeno se reaisló a partir de las lesiones en medio agar jugo V8 PARPH y se identificó morfológicamente.

## Resultados y Discusión

La presencia de frutos con síntomas de pudrición en plantas de papaya se detectó en la temporada de lluvias, ya que la humedad favorece el desarrollo del patógeno. Ocasionalmente se observó la presencia de pudrición en el tallo, en áreas que habían sufrido alguna herida, de acuerdo con información proporcionada por los productores. Los cuatro aislados obtenidos a partir de los frutos (2) y de las muestras de suelo (2),

ethanol [70%]. Each fruit was inoculated with two discs (9 mm in diameter) of a representative isolate, with six days-old mycelia grown on corn meal agar medium. Three fruits were used as control and inoculated with sterile culture medium discs. The culture medium discs with mycelium and sterile culture medium were removed 24 h after inoculation. All the fruits were kept in a humid chamber at 25 °C ± 1 until they showed rotting symptoms. The pathogen was reisolated from the lesions on V8 PARPH juice agar medium and morphologically identified.

## Results and Discussion

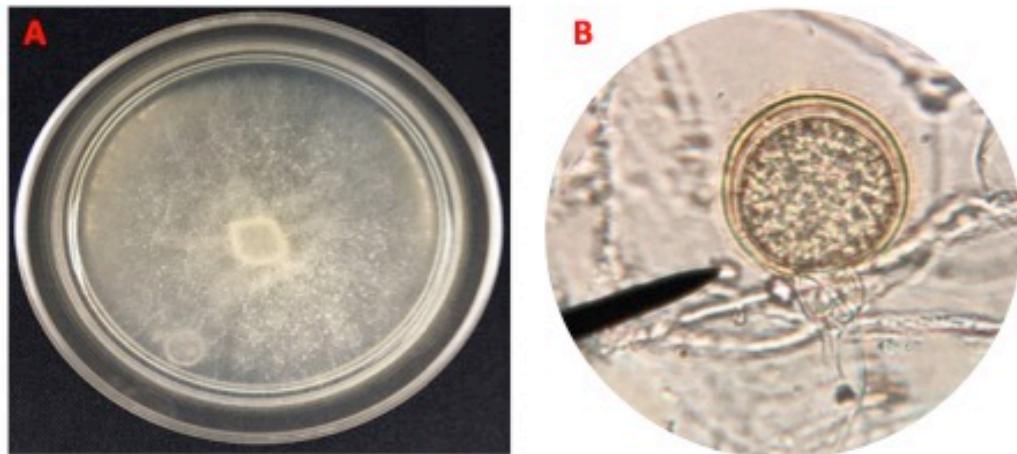
The presence of fruits with rot symptoms in papaya plants was detected in the rainy season, since the humidity favors the development of the pathogen. Occasionally the presence of stem rot was observed in stems that had suffered some injury, according to information provided by the growers. The four isolates obtained from fruits (2) and soil samples (2) showed morphological characteristics in corn meal agar medium (Fig. 3), which coincided with the description of *P. palmivora* (Abad et al., 2019); sporangia with papilla, globose (28-38 x 40-53  $\mu\text{m}$ ), short pedicels, originating from branched sporangiophores in simple sypodia, terminal globose chlamydospores (32-42 x 32-42.5  $\mu\text{m}$ ), plerotic oospores (25-35 x 26- 36  $\mu\text{m}$ ) with amphigynous antheridia (8-13 x 10-14  $\mu\text{m}$ ) [Fig. 3B]. The mating type corresponded to A1. The sequences obtained showed 100% coverage with ITS and COI and 99.87% identity for ITS and 100% for COI with *P. palmivora* (Figs. 4, 5).

The inoculated fruits showed symptoms of rot and growth of mycelium and sporangia on the surface 24-72 h after inoculation. The colonies obtained showed morphological characteristics corresponding to *P. palmivora* (Abad et al., 2019). The control fruits did not show symptoms.

According to the morphological

mostraron características morfológicas en medio agar harina de maíz (Fig. 3A), que coincidieron

characteristics, molecular characterization, and pathogenicity tests, it was determined that *P.*



**Figura 3.** Identificación de *P. palmivora*. In A, colonia de *P. palmivora* en medio agar harina de maíz. In B, Oospora plerótica con anteridio anfigino.

**Figure 3.** Identification of *P. palmivora*. In A, colony of *P. palmivora* on corn meal agar. In B, Plerotic oospore with amphigynous antheridia.

con la descripción de *P. palmivora* (Abad et al., 2019); esporangios con papila, globosos (28-38 x 40-53 µm), pedicelos cortos, originados en esporangióforos ramificados en simpodios simples, clamidosporas globosas terminales

*palmivora* is the causal agent of rot symptoms in papaya in Chiapas. *Phytophthora palmivora* has been reported as a causal agent of rot in papaya fruits and roots in Australia, Brazil, Hawaii, Mexico, Spain, Sri Lanka and Taiwan

Sequences producing significant alignments:  
Select: All None Selected:0

		Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain PPC2614P cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760230.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain PPG13 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760228.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain PPG8 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760226.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain PPG1 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760225.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CBS 298.29 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760224.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CBS 179.26 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760223.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain P11007 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760222.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain P16385 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760221.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CBS 236.30 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760220.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain P16831 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760214.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain P16828 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760213.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain P6948 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760211.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain PPM3 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH760208.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CPHST BL 46 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH136950.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CPHST BL 105 cytochrome c oxidase subunit 1 (COI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1240	1240	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MH136949.1</a>
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CBS 111346 cytochrome oxidase subunit I (CoxI) gene, partial cds; mitochondrial</a>		1235	1235	100%	0.0	99.85%	<a href="#">MH760229.1</a>

**Figura 4.** Alineamiento de la secuencia de COI del aislado representativo obtenido de fruto de papaya con pudrición, con secuencias depositadas en NCBI.

**Figure 4.** Alignment of COI sequence of the representative isolate obtained from papaya fruit rot, with sequences deposited in NCBI.

(32-42 x 32-42.5 µm), oosporas pleróticas (25-35 x 26-36 µm) con anteridios anfíginos (8-13 x 10-14 µm) [Fig. 3B]. El tipo de compatibilidad sexual correspondió a A1.

Las secuencia obtenida para la región COI mostró 100% de cobertura y de identidad y para ITS 100% de cobertura y 99.87% de identidad con *P. palmivora* (Figs. 4, 5).

(Widmer, 2014). It is important to note that in the main exporting regions of this crop in the world, there are only reports of this disease from Brazil and Guatemala (Álvarez-Valenzuela, 2010; Santos et al., 2016), but not from India, a country that is the main papaya producer worldwide.

Sequences producing significant alignments:							
Select: All None Selected:0							
Alignments		Download	Graphics	Distance tree of results			
	Description			Max Score	Total Score	Query Cover	E value
				Per. Ident			Accession
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate UHO-1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MT644188.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate QN729 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MT113313.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate U-10d small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MT052675.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate TR-PP-2 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MK500842.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain PPC3614L 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MH401199.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate TARIp215071 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MH319110.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate TARIp206237 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MH319109.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate TARIp206256 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MH319108.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate TARIp213012 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MH319106.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate TARIp212128 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MH319104.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate TARIp209264 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MH319103.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate FG-11 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MF370566.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CPHST BL 106 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcri</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MG865561.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CPHST BL 46 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MG865560.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CPHST BL 105 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcri</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MG865559.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora strain CHA134 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MF326895.1
<input type="checkbox"/>	<a href="#">Phytophthora palmivora isolate M1PC17 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and int</a>	1410	1410	100%	0.0	99.87%	MG434772.1

**Figura 5.** Alineamiento de la secuencia de ITS del aislado obtenido de frutos de papaya con pudrición, con secuencias depositadas en NCBI.

**Figure 5.** Alignement of ITS sequence of the representative isolate obtained from papaya fruit rot, with sequences deposited in NCBI.

Los frutos inoculados mostraron síntomas de pudrición y crecimiento de micelio y esporangios en la superficie a 24-72 h posteriores a la inoculación. Las colonias obtenidas mostraron características morfológicas correspondientes a *P. palmivora* (Abad et al., 2019). Los frutos del testigo no mostraron síntomas.

De acuerdo con las características morfológicas, la caracterización molecular, y las pruebas de patogenicidad, se determinó que *P. palmivora* es el agente causal de la pudrición en papaya en Chiapas. *Phytophthora*

It was recommended to farmers of the commercial orchard in Chiapas not to place diseased fruits on the ground, which is done before finally discarding them, since this practice is equivalent to inoculating the propagules in the ground.

## Conclusion

This is the first report of *Phytophthora palmivora* causing fruit rot in papaya in Chiapas. The information obtained in this work could be useful for producers of this crop, since will allow the development of adequate

*palmivora* se ha reportado como agente causal de pudrición en frutos de papaya y raíz en Australia, Brasil, Hawái, México, España, Sri Lanka y Taiwán (Widmer, 2014). Es importante señalar que en las principales regiones exportadoras de este cultivo en el ámbito mundial, sólo existen reportes de esta enfermedad en Brasil y Guatemala (Álvarez-Valenzuela, 2010; Santos et al., 2016), pero no en la India, país que es el principal productor de papaya a nivel mundial.

Se les recomendó a los agricultores de la huerta comercial en Chiapas, que no colocaran en el suelo los frutos enfermos, lo cual se hace antes de descartarlos de manera definitiva, ya que esta práctica es equivalente a inocular los propágulos en el suelo.

## Conclusión

Este es el primer reporte de *Phytophthora palmivora* causando pudrición en frutos de papaya en Chiapas. La información obtenida en este trabajo podría ser útil para productores de este cultivo, ya que permitirá desarrollar estrategias de manejo adecuadas para esta enfermedad.

## Referencias

- Abad, Z.G., Burgess T., Bienapfl J.C., Redford A.J., Coffey M., and Knight L. 2019. *IDphy: Molecular and morphological identification of Phytophthora based on the types*. USDA APHIS PPQ S&T Beltsville Lab, USDA APHIS PPQ S&T ITP, Centre for *Phytophthora* Science and Management, and World *Phytophthora* Collection.  
<https://idtools.org/id/phytophthora/in-dex.php>
- Aires, V. J., Costa, H. and da Silva, T. J. 2004. “Papaya Diseases and Integrated Control” In: S.A.M.H. Naqvi, ed. *Diseases of Fruits and Vegetables Diagnosis and Management* [online]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers. pp. 201-268. [Visto 15 Agosto 2020]. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/226958202\\_Papaya\\_Diseases\\_and\\_Integrated\\_Control](https://www.researchgate.net/publication/226958202_Papaya_Diseases_and_Integrated_Control)
- Álvarez, V. G. A. 2010. *Detección y caracterización de especies de oomycetes asociados a cultivos de exportación en la región central de Guatemala* [online]. Guatemala: Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico. [Visto 15 Agosto 2020]. Disponible en: [http://168.234.106.70/library/images/b/b1/FODECYT\\_2007.01.pdf](http://168.234.106.70/library/images/b/b1/FODECYT_2007.01.pdf)
- Cruz, V. J. K., Santíz, R. E., Lozoya, G. E. y Ruiz, R. F.G. 2016. Viabilidad en la detección de *Phytophthora palmivora* en frutos de papaya (*Carica papaya*) en la zona Costa de Oaxaca. *Temas de Ciencia y Tecnología* [online]. **20**(59), 15-21. [Visto 17 Agosto 2020]. Disponible en: [http://www.utm.mx/edi\\_anteriores/temas59/T59\\_1E2.pdf](http://www.utm.mx/edi_anteriores/temas59/T59_1E2.pdf)

management strategies for this disease.

## References

---

- Erwin, D.C. and Ribeiro, O.K. 1996. *Phytophthora diseases worldwide*. St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Fernández-Pavía, S.P., Gregorio-Cipriano, R., Rodríguez-Alvarado, G., Fernández-Pavía, Y.L., Mondragón-Flores, A., Gómez-Dorantes, N., Lozoya-Saldaña, H., Rodríguez-Fernández, R. y Herrera-Camacho, J. 2015. *Enfermedades de especies vegetales en México*. Morelia, Michoacán, México: Morevalladolid.
- García-Álvarez, M. 1976. *Primer catálogo de enfermedades de plantas mexicanas*. México: Fitofilo.
- García-Álvarez, M. 1981. *Enfermedades de las plantas en la República Mexicana*. México: Limusa.
- Grünwald N. J., Martin F. N., Larsen M. M., Sullivan C. M., Press C. M., Coffey M. D., Hansen E. M., Parke J. L. 2011. Phytophthora-ID.org: A sequence-based Phytophthora identification tool. *Plant Disease* 95:337- 342.
- Nelson, S. 2008. *Phytophthora blight of papaya*. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa [online]. **53**, 1-7. [Visto 12 Noviembre 2020]. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/>
- Robideau G. P., de Cock, A. W. A. M., Coffey, M. D., Voglmayr, H., Brouwer, H., Bala, K., Chitty, D. W., Désaulniers, N., Eggertson, Q. A., Gachon, C. M. M., Hu, C.-H., Küpper, F. C., Rintoul, T. L., Sarhan, E., Verstappen, E. C. P., Zhang, Y., Bonants, P. J. M., Ristaino, J. B., and Lévesque, C. A. 2011. DNA barcoding of oomycetes with cytochrome c oxidase subunit I and internal transcribed spacer. *Molecular Ecology Resources* 11: 1002-1011.
- Rojas-Martínez, R.I., Zavaleta-Mejía, E. y Rivas-Valencia, P. 2011. Presencia de fitoplasmas en papayo (*Carica papaya*) en México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* [online]. **17**(1), 47-50. [Visto 4 Noviembre 2020]. Disponible en: [cielo.org.mx/pdf/rcsh/v17n1/v17n1a8.pdf](http://cielo.org.mx/pdf/rcsh/v17n1/v17n1a8.pdf)
- Santos, O. T.A., Bassay, B. L.E., Alves Duarte, E.A., Morales, M. Z.P. and Newman, L. E.D.M. 2016. Variability of aggressiveness and virulence of *Phytophthora palmivora* influencing the severity of papaya fruit rot in postharvest in Bahia, Brazil. *Científica*, *Jaboticabal* [online]. **44**(2), 185-195. [Visto 4 Agosto 2020]. Disponible en: doi: 10.15361/1984-5529.2016v44n2p185-195
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 2017a. *Papaya producto del “árbol de la buena salud”*, Marzo 2017 [online]. México: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. [Visto 18 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/papaya-producto-del-arbol-de-la-buena-salud#:~:text=La%20Papaya%20es%20rica%20en,cantidades%20de%20calcio%20y%20hierro.&text=En%20M%C3%A9jico%20el%20consumo%20anual,persona%20es%20de%20seis%20kilogramos>
- Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. 2017b. *Aumenta 30 por ciento producción de papaya “Hecho en México” en la presente administración*, Marzo 2017 [online]. México: Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. [Visto 18 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/prensa/aumenta-30-por-ciento-produccion-de-papaya-hecho-en-mexico-en-la-presente-administracion>
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2017. *Planeación agrícola nacional 2017-2020* [online]. México: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. [Visto 17 Agosto 2020]. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257083/Potencial-Papaya.pdf>
- Tuite J. 1969. *Plant Pathological Methods Fungi and Bacteria* [online]. Minneapolis, Minnesota: Burgess Publishing Company. [Visto 3 Agosto 2020]. Disponible en: <http://eprints.icrisat.ac.in/>
- Widmer, T.L. 2014. *Phytophthora palmivora* [online]. *Forest Phytophthoras of the world*. [Visto 18 Agosto 2020]. Disponible en: <http://forestphytophthoras.org/>