OFICINA DE PARTES 1 FIA
RECEPCIONADO
Fecha 28 ABR 2014
Hora 16:15
Nº Ingreso 13152

I. ANTECEDENTES Complementarios a Informe Técnico Final.

- Código PYT-2011-0060.

- Nombre del Proyecto: Obtención de plantas de papayos (*V. pubescens*) con sexo definido mediante un protocolo de detección temprana del polimorfismo sexual usando herramientas biotecnológicas y caracteres morfológicos asociados e identificables por los usuarios y a través del perfeccionamiento de la propagación agámica.

- Región o Regiones de Ejecución : Región de Coquimbo

- Agente Ejecutor : INIA

Complemento a *Informe Técnico Final*

Comportamiento de floración en papayos

Se observó que las plantas femeninas permanecen como tales durante todas las estaciones del año, manteniendo una expresión de solo flores femeninas en sus inflorescencias. Igualmente que las plantas machos.

Mientras que las plantas ambisexuales o "hermafroditas", tienen inflorescencias con flores apicales femeninas, flores masculinas y raramente presentan flores bisexuales, ya sea perfecta o imperfecta.

Esto concuerda en parte con la descripción de Muñoz, 1988, donde define plantas diocas (machos y hembras) y monoicas. Pero difiere de la descripción que hace de las inflorescencias de las plantas monoicas, ya que en este estudio se encontraron flores femeninas, masculinas y bisexuales (Informe 2).

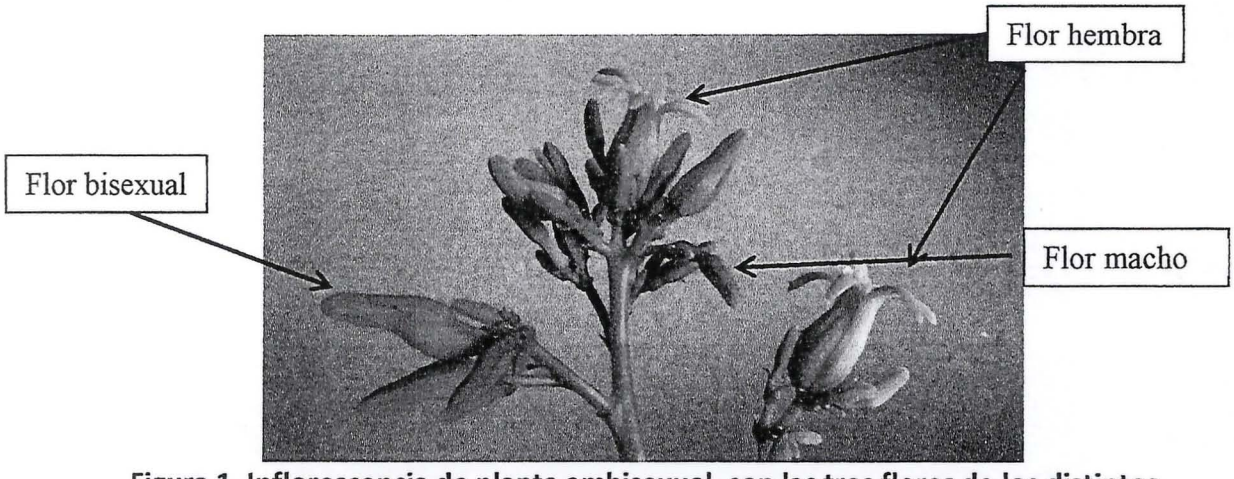


Figura 1. Inflorescencia de planta ambisexual, con las tres flores de los distintos sexos

La deformación de flores hermafroditas en el caso de *C. papaya* se relaciona con alta humedad relativa, alto contenido de humedad de suelo y nitrógeno (Terra de Almeida, 2003). En el caso particular, del papayo en La Serena, la presencia de flores bisexuales, es escasa en número y se dan en determinados períodos, preferentemente en primavera o verano, en ambas localidades del estudio. Las flores hembras se visualizan en mayor número e intervalos que las bisexuales en el mismo período. Finalmente las flores machos predominan en número en las inflorescencias y se pueden ver durante todo el año.

En definitiva, en las dos localidades de estudio se visualiza una aparición gradual en la cantidad de flores hembras, bisexuales y masculinas por inflorescencia, destacándose que en períodos más fríos otoño invierno, el número de flores productivas disminuye (Figura 2 y 3).

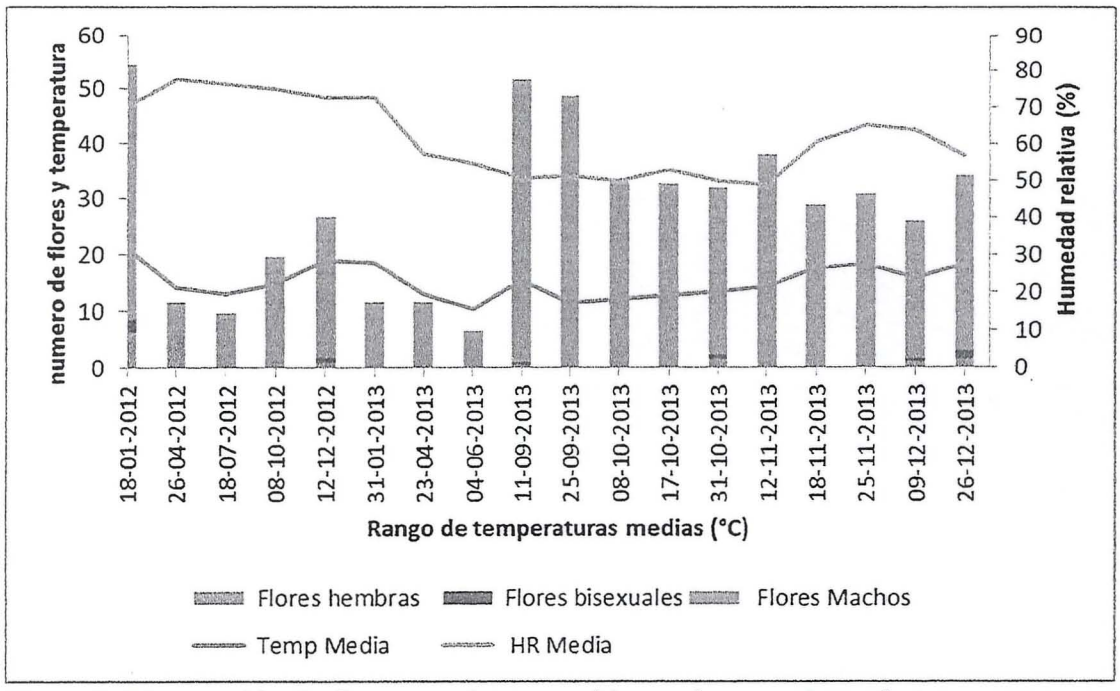


Figura 2: Observación de flores en plantas ambisexuales y registro de temperaturas y humedad relativa media en la localidad de Altovalsol durante el período de seguimiento.

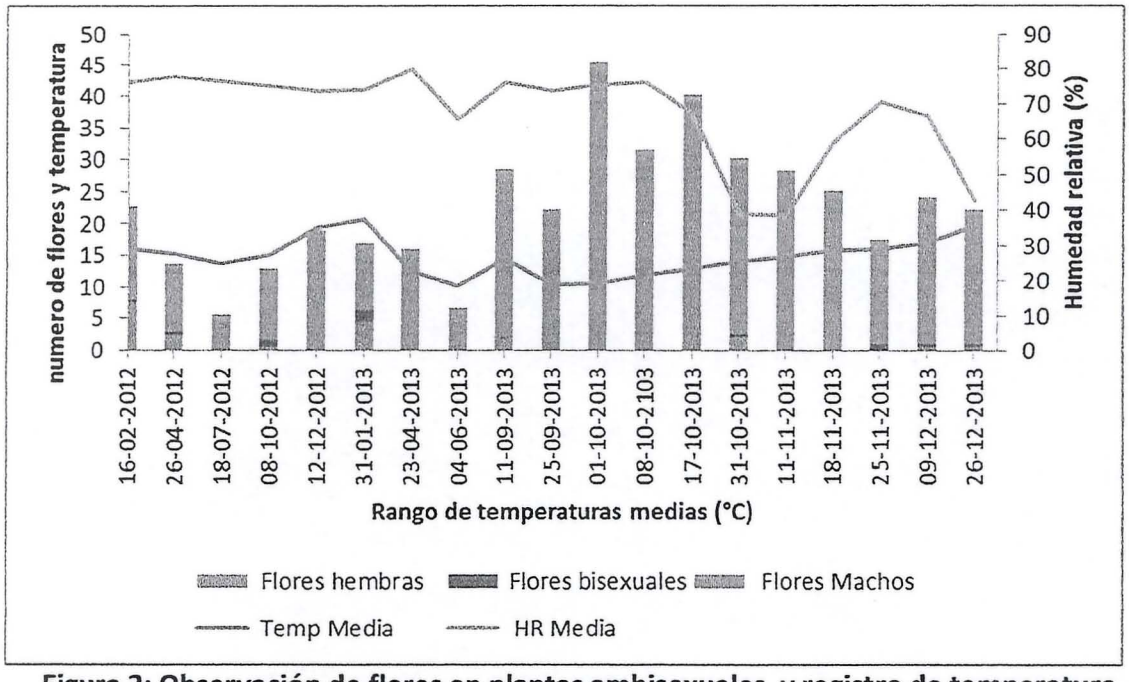


Figura 3: Observación de flores en plantas ambisexuales y registro de temperatura media (°C) y humedad relativa media en la localidad de Algarrobito durante el período de seguimiento.

Una forma de representar lo que ocurre en las inflorescencias de las plantas machos, hembra y ambisexual se puede ver en la gráfica siguiente.

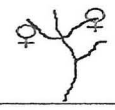
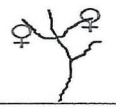
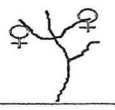
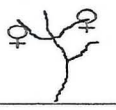
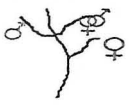
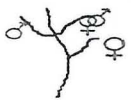
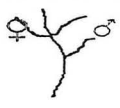
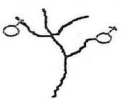
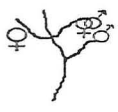
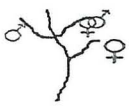
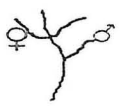
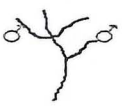
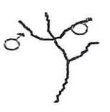
PLANTAS	PRIMAVERA	VERANO	OTOÑO	INVIERNO
	INFLORESCENCIAS			
HEMBRA				
AMBISEXUAL (Altovasol)				
AMBISEXUAL (Algarrobito)				
MACHO				

Figura 4. Estacionalidad de expresión floral en plantas hembras y ambisexuales en dos localidades del Valle de Elqui.

Otros estudios realizados en *C. papaya* indican que tanto las condiciones climáticas (temperatura y humedad) pueden afectar la floración. Flores modifican su sexo en función de la temperatura y humedad relativa alta, las flores tienden a ser hembras. Por otra parte temperaturas bajas en la noche en invierno, los carpelos pueden transformarse en estambres y generar frutos deformes. En condiciones secas y con alta temperatura aparecen flores machos y flores bisexuales en las plantas hermafroditas y hembras (OECD, 2005).

En la figura 5 se presenta la información de número de flores en función de rangos de temperatura media para las dos localidades. Se puede observar en las inflorescencias de las plantas ambisexuales, las flores hembras y bisexuales, se ven favorecidas en número, con temperatura y humedad relativa alta, lo que concuerda con Singh, 1990. Las flores machos, se mantienen en un número abundante y similar para los distintos rangos de temperatura media.

La aparición de sólo flores machos en plantas ambisexuales se asocia a temperaturas medias más bajas.

Bajo las condiciones de este seguimiento, Con la información obtenida no se observa una relación entre la humedad relativa del aire y la presencia de flores bisexuales.

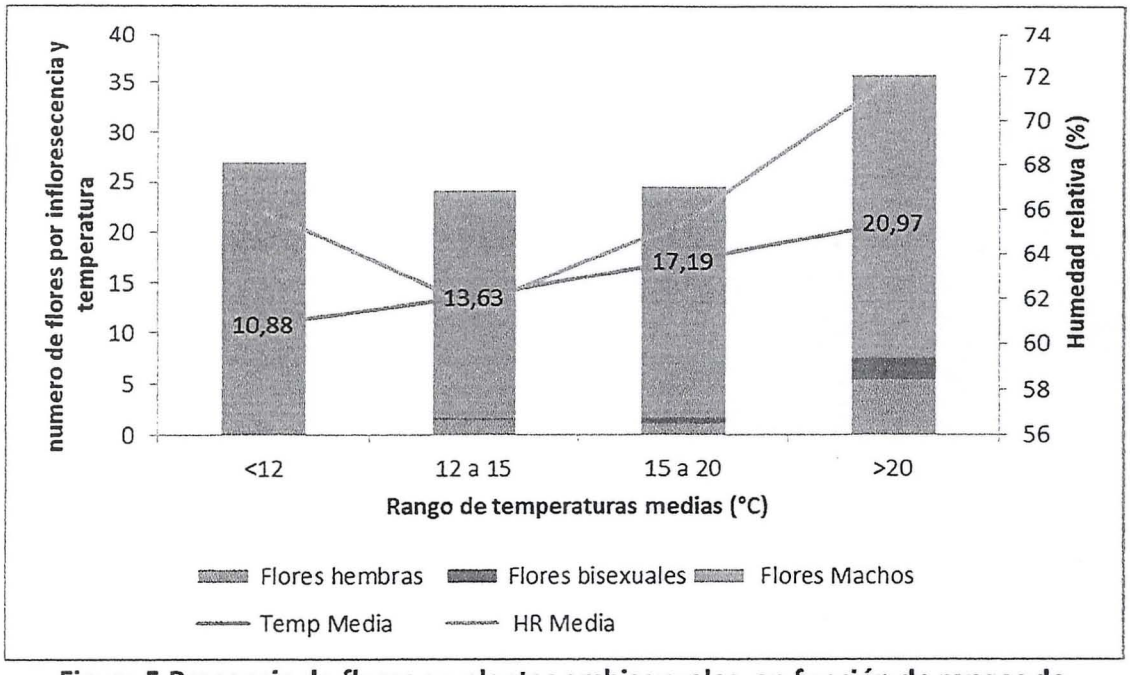


Figura 5.Presencia de flores en plantas ambisexuales, en función de rangos de temperatura media (°C) y humedad relativa (%).
(Valores indicados en gráfico corresponden a temperatura media).

En el caso de las plantas hembras (figura 6), aparentemente las flores no se afectarían por la temperatura y humedad relativa, manteniéndose un número similar en las inflorescencias para los diferentes rangos de temperatura media.

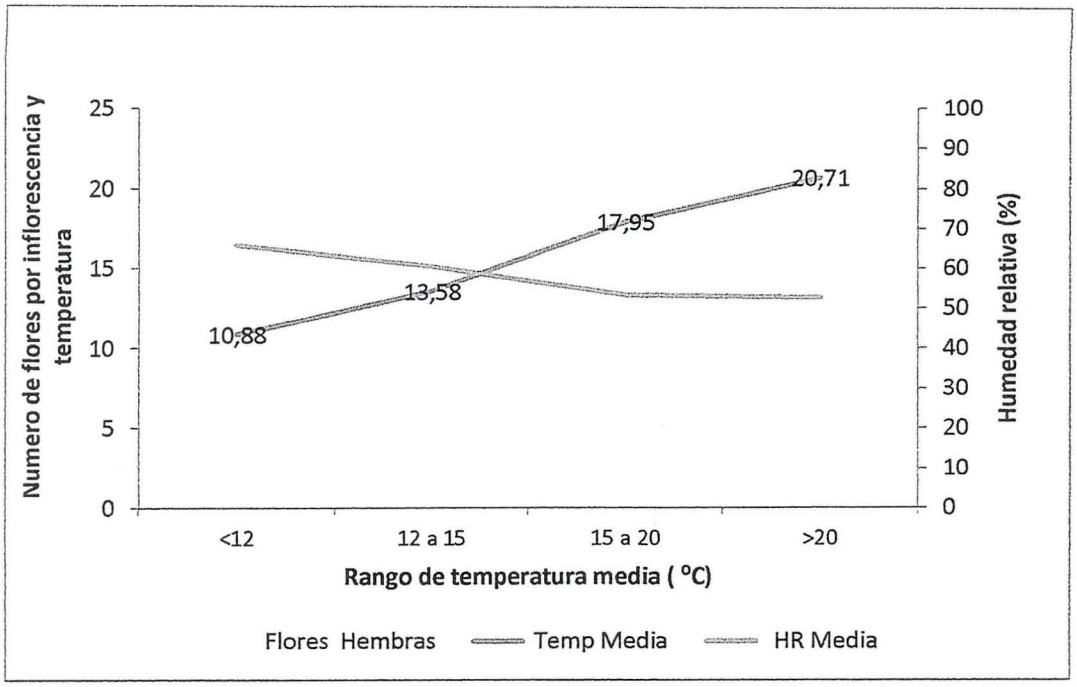


Figura 6.Presencia de flores hembras en plantas hembras en función de rangos de temperatura media (°C) y humedad relativa (%).
(Valores indicados en gráfico corresponden a temperatura media).

Conclusiones

En definitiva, *V. pubescens*, en su centro de origen se define como trioca. Bajo las condiciones de este estudio, la planta es dioca y monoica, es decir, planta hembra, machos y ambisexual (Figura 4).

Las plantas ambisexuales, poseen una inflorescencia polígama que en determinados momentos puede sólo presentar inflorescencias con flores machos.

La floración de las plantas hembras, se encuentra cubierta por la presencia abundante de flores machos de plantas ambisexuales, asegurando la polinización abierta.

Sobre eta información surgen dos prácticas de manejo importantes:

1. El raleo de plantas machos se debería hacerla mar tarde en la primavera de manera de asegurarse no eliminar plantas ambisexuales.
2. En huertos productivos se podría prescindir de plantas machos, dejando como polinizantes a las plantas ambisexuales.

Se requiere hacer estudios más específicos, bajo condiciones controladas, para determinar que parámetros climáticos pueden influir sobre la expresión de las flores en las plantas ambisexuales del papayo cultivado en Chile.

Literatura revisada

Muñoz, M.1988.Nomenclatura del papayo cultivado en Chile. Agricultura Técnica 48(1):39:42.

Singh, I.D. 1990. Papaya. Oxford and IBH Publishing, New Delhi. 224 pp.

Terra de Almeida, F., C.S. Marinho, E. Fernandes de Sousa and S. Grippa. 2003a. Expressão sexual do mamoeiro sob diferentes lâminas de irrigação na região Norte Fluminense. Rev. Brasil. Frutic. 25:383-385.

OECD Environment, Health and Safety publications. 2005. Section V.. reproductive biology p 24-27. En: Consensus document on the biology of papaya (*Carica papaya*) ENV/JM/MONO16. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 33.

Presentaciones a Congresos Agronómicos

2012

- Caracterización morfológica y molecular de plantas de papayo *V. pubescens* en la región de Coquimbo. Resultados preliminares
- Protocolo de propagación in vitro de *V. pubescens*
- Propagación vegetativa de papayos como alternativa de evasión para el polimorfismo sexual de las plantas
- Protocolo de desinfección in vitro de semillas de *V. pubescens*

2013

- Caracterización morfológica y molecular de plantas de papayos *V. pubescens* de sexo diferente

63° CONGRESO AGRONÓMICO 2012
Contribuyendo a la sustentabilidad alimentaria

Resumen de Trabajo

Caracterización morfológica y molecular de plantas de papayo (*Vasconcellea pubescens*) en la región de Coquimbo. Resultados preliminares.

Constanza Jana[1], Angélica Salvatierra[1], Roxana Gutiérrez[1], Andrés Zurita[2], Marisol Herrera[2], Lucía Martinez[1].
[1]INIA-Intihuasi, [2]CEAZA

En papayo, el rendimiento regional se estima en 16 t ha^{-1} y es influenciado por el número de plantas productivas, lo que a su vez, es dependiente del sexo de las plantas. Esta especie, al igual que *Carica papaya*, presenta polimorfismo sexual no distinguible antes de la floración, lo que impide a viveristas y agricultores, tener certeza del sexo de la planta que se establecen. Por ello se planteó realizar una caracterización morfológica y molecular de plantas de papayo de sexo conocido (femenino, masculino y hermafrodita), que permita llegar a un protocolo de detección temprana del sexo. Para ello se definieron caracteres del foliolo y del tallo, de acuerdo a descriptores UPOV (2010) para *Carica,* Cadavid et al. (2002) y Kyndt et al. (2005) para *Vasconcellea*, que discriminarán las plantas adultas con sexo ya definido (aproximadamente 5 meses) y que pudiesen aplicarse en plantas más pequeñas. Se realizaron cruzamientos dirigidos en plantas femeninas y hermafroditas con polen proveniente de plantas masculinas y hermafroditas. De los frutos provenientes de estos cruzamientos, se caracterizó la semilla en base a los mismos descriptores mencionados, la que posteriormente se sembró in vitro para originar plántulas que fuera posible evaluar en características de la raíz y de cotiledones hasta los cinco primeros pares de hojas. Para la caracterización molecular se determinó el mejor protocolo de extracción de ADN para esta especie y se utilizaron 26 pares de marcadores utilizados en *Carica* y descritos por Wu et al (2010).

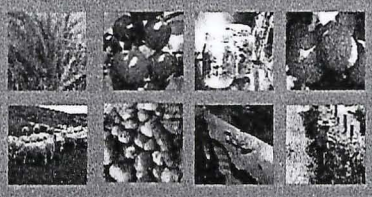
A la fecha se han caracterizado tallos y hojas de plantas adultas de los tres sexos, sin que se encontraran diferencias entre ellos, sin embargo, las plantas clasificadas como masculinas, no mantuvieron esta condición a través del año. De los 26 marcadores evaluados, solo 3 mostraron diferencias de tamaño, los que permitió secuenciarlos. El análisis de las secuencias mostró diferencias polimórficas por sexo. Con estos antecedentes se diseñaran partidores sexo específicos para Vasconcellea. La evaluación proveniente de los frutos de los cruzamientos ha mostrado diferencias en color, forma y rugosidad en las semillas, lo que podría estar asociado al sexo de las plantas. Proyecto financiado por FIA PIT 2011-0060.

Caracterización morfológica y molecular de plantas de papayo (*Vasconcellea pubescens*) en la Región de Coquimbo. Resultados preliminares.

Constanza Jana, Angélica Salvatierra, Roxana Gutiérrez, Andrés Zurita, Marisol Herrera y Lucía Martínez

INIA
Ministerio de Agricultura

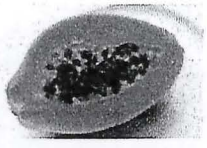
Gobierno de Chile



"Obtención de plantas de papayos (*V. pubescens*) con sexo definido mediante un protocolo de detección temprana del polimorfismo sexual usando herramientas biotecnológicas y caracteres morfológicos asociados e identificables por los usuarios y a través del perfeccionamiento de la propagación agámica". FIA PYT 11-0060.

INTRODUCCIÓN

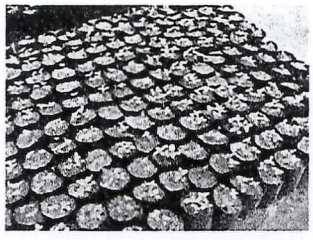
Vasconcellea pubescens o *V. cundimarcensis* - *Carica papaya* (Badillo 1993-2001)



Frutal símbolo de la región de Coquimbo

INTRODUCCIÓN

Falencias en la cadena productiva por polimorfismo sexual



INTRODUCCIÓN

Forma sexual	Tipo de flor	Árbol
I	femenina	Plantas ginoicas
II	Flor hermafrodita con la parte femenina bien desarrollada	Plantas andromonoicas
III	Flor hermafrodita con la parte femenina irregular	Plantas andromonoicas
IV	Flor hermafrodita con la parte femenina elongada	Plantas andromonoicas
IV+	Flor masculina pero que puede variar a hermafrodita de acuerdo a condición climática	Planta estaminada funcional, también andromonoica
V	Flor masculina	Planta estaminada o androica

Storey, 1941

INTRODUCCIÓN

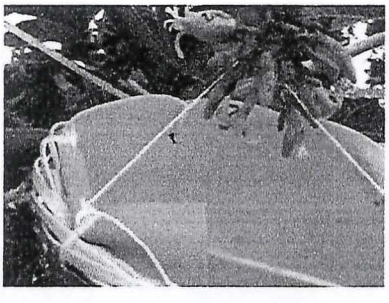
OBJETIVO GENERAL

Caracterización morfológica y molecular de plantas de papayo para desarrollar un protocolo de detección temprana del polimorfismo sexual en plántulas y/o semillas.

OBJETIVOS ESPECIFICOS
- Seguimiento floración en dos localidades y dos estaciones
- Determinar marcadores moleculares en *V. pubescens* que se asocien al sexo de plantas.
- Establecer caracteres morfológicos de plantas jóvenes y semillas ligados al sexo de plantas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Seguimiento de floración



MATERIALES Y MÉTODOS

Determinar marcadores moleculares en *V. pubescens* que se asocien al sexo de plantas.

- Protocolo de extracción de ADN: extracción ADN CTAB (Rogers & Bendlich, 1988) y Doyle & Doyle (1990)

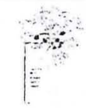
Cantidad de tejido, tiempo de implementación, eficiencia
- Utilización de marcadores moleculares de *Carica*
- Diseño de partidores sexo específicos

MATERIALES Y METODOS

Establecer caracteres morfológicos de plantas jóvenes y semillas ligados al sexo de plantas.
Definición de caracteres morfológicos

- Normas UPOV (2010) para *Carica papaya*
- Caracterización morfológica de caricaceas en altura de Cadavid et al. (2002)
- Parte de los descriptores utilizados por Kyndt et al. (2005) en caracterización morfológica de *Vasconcellea*
- Plantas adultas
- Semillas
- Plántulas

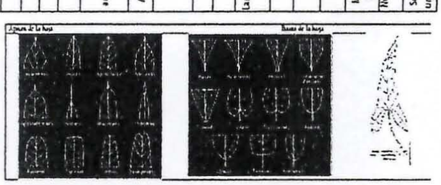
MATERIALES Y METODOS

Caracteres del tallo	Medición	Observaciones
Color del tallo	Munsell	
Altura inserción primera inflorescencia	cm	
Ramificación	Ausente o presente	Observación al comienzo de la floración
Diámetro del tallo	mm	A la mitad de la altura del tallo y comienzo de la floración
N° de nudos del tallo	Número	Desde el suelo hasta la primera flor
Longitud de entrenudos	cm	Entre suelo y primera Inflorescencia

MATERIALES Y METODOS

Caracteres de la hoja

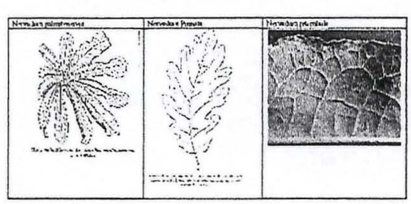
		Limbo (cm)		Peciolo		Lámina					Margen de la hoja				Base del Lóbulo 1° con 2°	
Sexo	Nº Hoja	Largo	Ancho	Longitud (cm)	Pigmentación antociánica (Ausente Presente)	Altura Ondulación	Simetría (nº de lóbulos)	Ápice	Base de la Hoja	Largo de la base (vena primaria cm)	Planas	Casi planas	Fuertemente resolutas	Margen (ondulado, liso, girado, otro)	No se estrecha sobre la unión	Se estrecha sobre la unión (lóbulo apical)



MATERIALES Y METODOS

Caracteres de la hoja

		Lóbulos basales			Categorías de las venas 1°			Categorías de las venas 2°			Categorías de las venas 3°				Nervadura central prolongada		
Sexo	Nº Hoja	No se superponen	Se superponen	No aplicable	Palmitenervia	Pinata	Reticulada	Palmitenervia	Pinata	Reticulada	Palmitenervia	Pinata	Reticulada	Ancho en unión de venas primarias	Ausente	Presente	Grosor relativo de venas secundarias



MATERIALES Y MÉTODOS

Caracteres de la hoja

		Número			Conexión entre las venas primarias y secundarias		Conexión entre las venas secundarias y terciarias		Pubescencia de la hoja (haz)			Pubescencia de la hoja (envés)			Estípulas espinosas		
Sexo	Nº Hoja	Basales Primarias	Basales secundarias	Basales terciarias	Indistinto	Distinta	Indistinto	Distinta	Abundante	Mediana	Poca	Abundante	Mediana	Poca	Ausente	Sin espinas	Con espinas

13

Cruzamientos dirigidos

En *Carica* hay 3 genes involucrados en la expresión sexual
MM = machos; Mm1 ó Mm2 = hermafroditas; m1m2= hembra
m1m1 ó m2m2 = letales

Cuadro 3. Proporción de descendencia esperada de *Vasconcellea* de acuerdo a cruzamientos dirigidos. A) flor hembra de planta hembra, con flor macho de planta macho; b) flor hembra de planta hembra con flor macho de planta hermafrodita; c) flor hembra de planta hermafrodita con flor macho de planta macho d) flor hembra de planta hermafrodita con flor macho de planta hermafrodita e) flor hermafrodita autopolinizada

A	M	M
m1	Mm1	Mm1
m2	Mm2	Mm2

Todas hermafroditas

B	M	m1
m1	Mm1	m1m1
m2	Mm2	m1m2

2/4 hermafroditas: ¼ hembra: 1/4 letal

C	M	M
M	MM	MM
m1	Mm1	Mm1

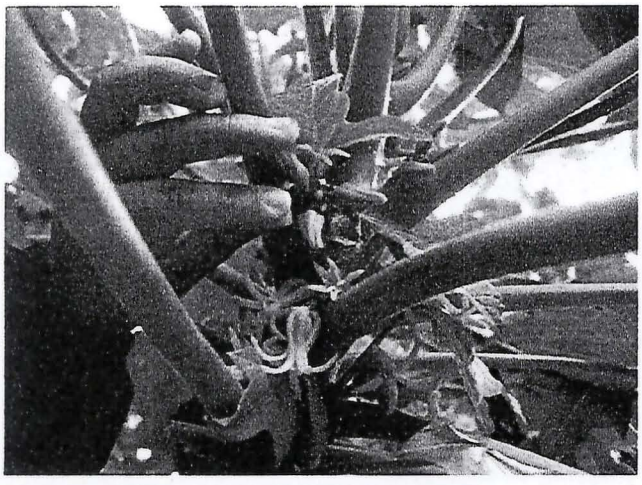
½ macho: ½ hermafrodita

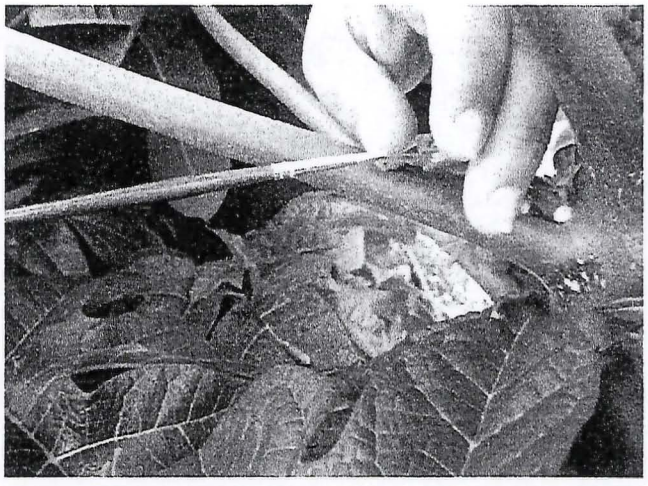
D	M	m1
M	MM	MM
m1	Mm1	Mm1

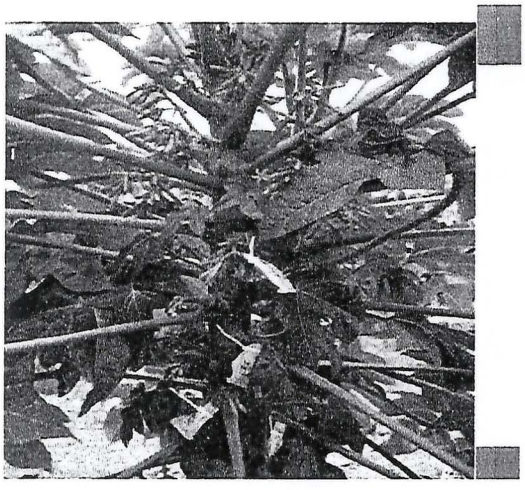
1/2 macho: 1/2 hermafrodita

E	M	m1
M	MM	MM
m1	Mm1	Mm1

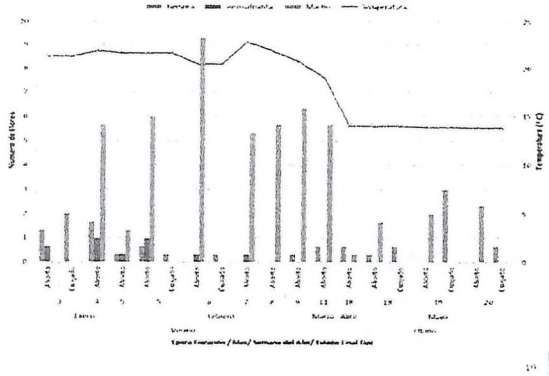
1/2 macho: 1/2 hermafrodita



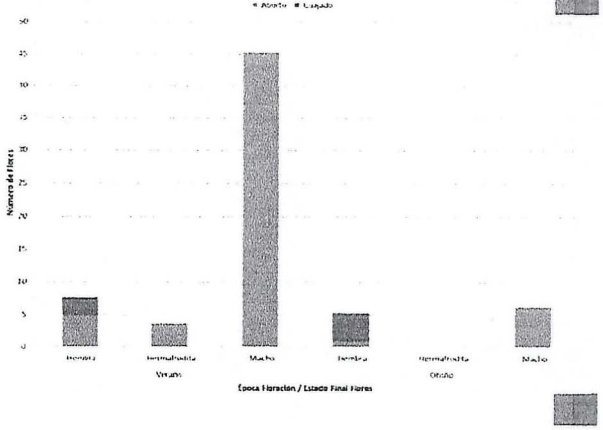




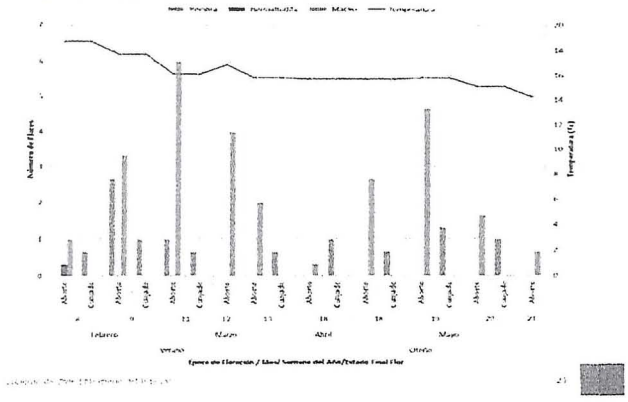
RESULTADOS PRELIMINARES



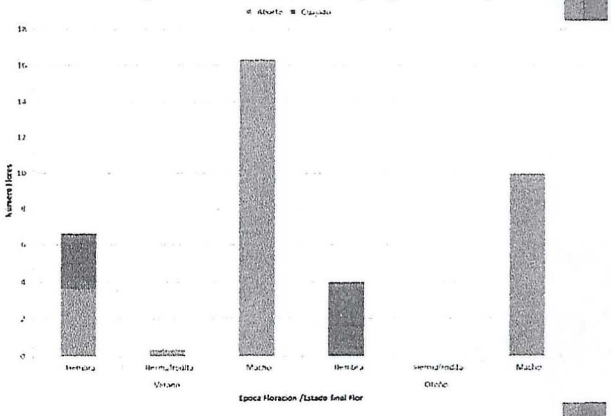
Resultados seguimiento floración (Altovalsol)

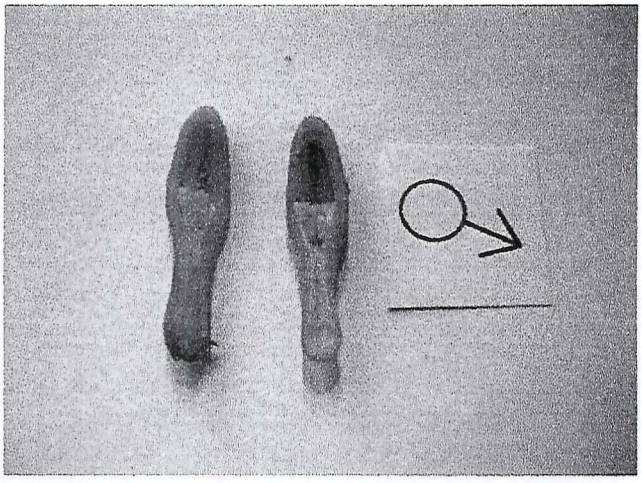


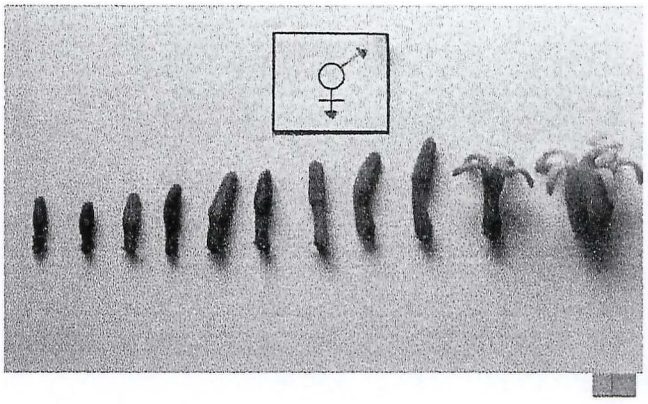
RESULTADOS PRELIMINARES

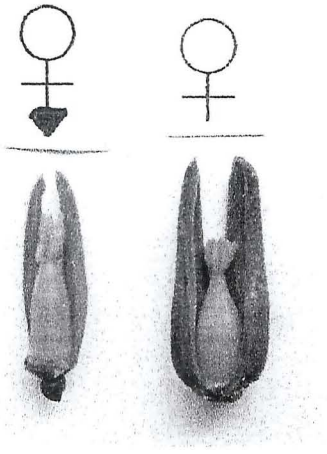


Resultados seguimiento floración (Algarrobito)





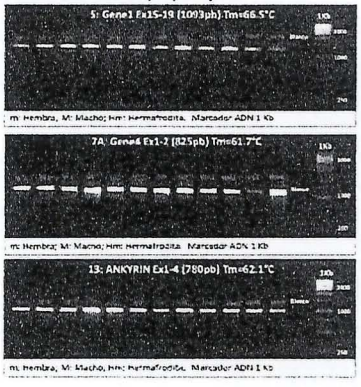




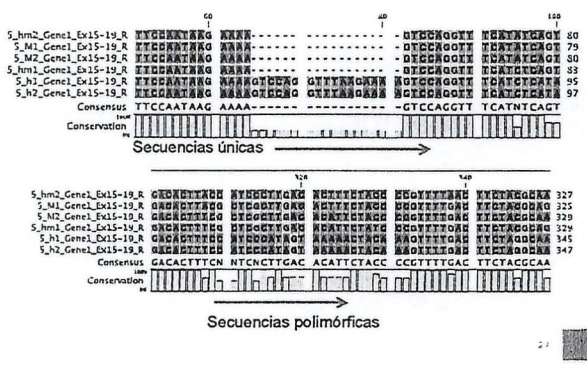
RESULTADOS PRELIMINARES

1. Rogers & Bendlich, resultó ser el método más eficiente, rápido y sin mercaptoetanol

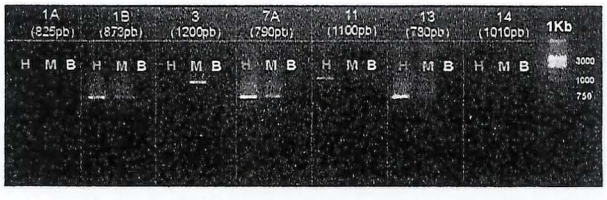
2. Se pudo identificar un set de partidores que amplificaron el ADN de las muestras analizadas.
   - Estos resultados no permitieron la diferenciación entre muestras de sexos diferentes.
   - 3 Marcadores mostraron diferencias de tamaño
   - Amplicones fueron secuenciados por sexo y análisis de secuencias mostró diferencias por sexo
   - Con esto se podrán diseñar nuevos partidores sexo-específicos.



RESULTADOS PRELIMINARES



RESULTADOS PRELIMINARES



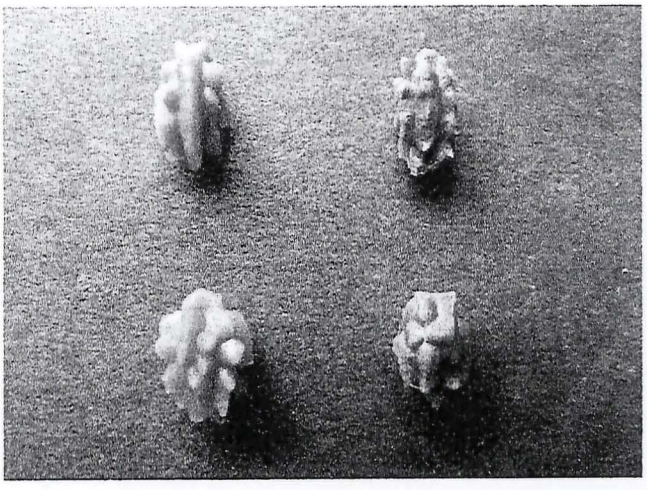
RESULTADOS PRELIMINARES

Caracterización de tallo de plantas adultas de *Vasconcellea* (3 sexos definidos por el agricultor)

	Altura inserción inflorescencia (cm)	Diámetro tallo (mm)	N° nudos del tallo	Longitud del entrenudo (cm)
Macho	58,38 a	65,79 a	16,8 a	3,03 a
Hembra	50,6 a	65,79 a	16,8 a	2,71 a
Hermafrodita	64,5 a	65,79 a	16,8 a	2,47 a

Caracterización de hojas de plantas adultas de *Vasconcellea* (3 sexos definidos por el agricultor)

Sexo	Largo limbo	Ancho limbo	Longitud peciolo	Altura ondulación lámina	Forma ápice	Largo base (vena 1°)	Ancho unión vena 1°	Grosor vena 2°	N° nervaduras basales 2°	N° nervaduras basales 3°
Macho	20,33 a	31,33 a	22,65 a	2,53 a	1 a	20 a	7 a	3,4 a	22,5 a	17 a
Hembra	25,34 a	42,7 a	30,2 a	3,75 a	2,5 a	25,06 a	9,38 a	5,01 a	25,4 a	22,6 a
Hermafrodita	23,96 a	41,02 a	27,02 a	3,22 a	1,6 a	23,96 a	9,36 a	4,58 a	25,4 a	25,2 a



Caracterización semillas provenientes de los cruzamientos

	Ancho de semillas			Largo de semillas			Radio Largo/ancho		
Cruzamiento	Media	Mín	Máx	Media	Mín	Máx	Media	Mín	Máx
1	3,91	3,39	4,44	6,25	5,66	6,90	1,60	1,33	1,95
2	3,77	3,33	4,03	6,52	5,98	7,23	1,74	1,54	2,10
Total	3,84	3,33	4,44	6,39	5,66	7,23	1,67	1,33	2,10

	Forma		Textura		Color semillas según Munsell		
Cruzamiento	alargada	globosa	rugosa	Rugosa - lisa	5 YR 3/4	5 YR 4/6	7,5 YR 2,5/2
1	3,33%	96,67%	23,33%	76,67%	0%	0%	100%
2	63,33%	36,67%	53,33%	46,67%	10,00%	90,00%	0,00%

CR1: flor hembra de árbol hembra con flor macho de árbol macho; CR2:flor hembra de planta hembra, con flor macho de planta hermafrodita

C1=7,5yR 5/6 ; C2=7,5YR 2,5/3 ; C3= 7,5YR 2,5/2

CONCLUSIONES PRELIMINARES

Seguimiento floración

- Las plantas hembras, siempre tienen solo flores hembras
- La planta macho tiene flores machos con rudimentos femeninos independiente de las condiciones climáticas
- Las plantas hermafroditas tienen flores de los 3 sexos, las flores machos son muchas y abortan, las hermafroditas son pocas, de variadas formas y al parecer siempre abortan y algunas hembras llegan a fruto

Diferencias detectables entre hembras y hermafroditas y entre machos y hembras a nivel molecular

Las diferencias entre caracteres morfológicos de semillas provenientes de cruzamientos dirigidos, podrían asociarse a caracteres ligados al sexo

Gracias.

Gobierno de Chile

www.gob.cl

MATERIALES Y METODOS

Caracteres de la semilla

Carácter	Caracteristica
N° de semillas	
Color	Amarillo Gris marrón claro marrón oscuro negro
Largo	
Ancho	
Radio largo/ancho	
Posición de la parte más ancha	
Cantidad de mucilago	

Gobierno de Chile

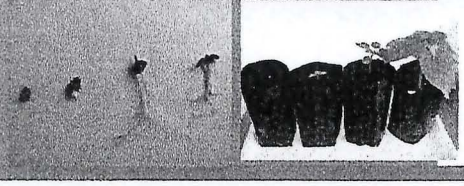
www.gob.cl

MATERIALES Y METODOS

Caracteres en plántula en estado cotiledon y plántula

Caracteres	Características	
Raíces	Coloración Largo raíz principal N° raíces	
Altura de inserción del cotiledón desde la raíz	cm	
Textura del cotiledón	Nervadura central lisa	Nervadura central rugosa
Forma del cotiledón	Forma redondeada	Forma lobulada

Caracteres	Características	
Textura de la hoja	Nervadura central lisa	Nervadura central rugosa
Forma de la hoja	Forma redondeada	Forma lobulada
Pubescencia al tacto	Abundante, escasa, nula	
Separación entre nudos	cm	



Resumen de Trabajo

Protocolo de germinación *in vitro* de *Vasconcellea pubescens*. Phil.

Roxana Gutiérrez López 1,
1 INIA-Intihuasi

En las dependencias del laboratorio de micropropagación de INIA – Intihuasi durante el período 2011-2012 se desarrollaron diversos ensayos con el objeto de determinar un protocolo de germinación in vitro para semillas provenientes de polinización dirigida de *Vasconcellea pubescens* como herramienta de apoyo en el marco del proyecto "Determinación temprana de sexo en *Vasconcellea pubescens*". El objetivo de estos ensayos fue determinar el medio de cultivo más adecuado para la germinación in vitro de las semillas. Para esto se establecieron 8 tratamiento con 20 repeticiones cada uno, en los que se adiciono al medio base Murashige y Skoog, diferentes concentraciones y combinaciones de los reguladores de crecimiento ANA Y BAP, más un tratamiento control sin reguladores. Estos tratamientos se mantuvieron durante 30 días en condiciones controladas de temperatura, luz y humedad. Se realizaron observaciones a los 10,20 y 30 días con el propósito de evaluar en semillas; porcentaje de germinación, días de entrada en germinación, y en plántulas; desarrollo de raíces (longitud y número), largo y diámetro de tallo y longitud de hojas, entre otros parámetros. El inicio de la germinación en la mayoría de los tratamientos comenzó a partir de la segunda semana en adelante con porcentajes entre el 40 y 80 %. En relación a características de las plántulas el tratamientos con igual concentración de hormonas (0,1mg/L) fue el que presento un buen desarrollo de plántulas con características bastante homogéneas en relación a altura, mayor número y longitud de raíces. La aparición de las primeras hojas comenzó a partir de la cuarta semana observándose algunas diferenciaciones en relación a la forma del limbo. En conclusión del análisis de los resultados obtenidos se pudo establecer que el mejor tratamiento para germinación y obtención de plántulas con características homogéneas es aquel que incorpora al medio de cultivo 0,1 mg/L de BAP y ANA para cada regulador.

Proyecto PYT 2011-0060, financiado por FIA y ejecutado por INIA-Intihuasi.

"Evaluación de dos concentraciones de ácido naftalen acético y Bencil amino purina para favorecer la germinación y desarrollo in vitro de *Vasconcellea pubescens*. Phil."

R. Gutiérrez [1], A. Salvatierra, C. Jana[1], L. Mártinez[1].
1 INIA-Intihuasi,

Introducción

El polimorfismo sexual presente en papayo con individuos machos, hembras y hermafroditas, puede ser detectado tempranamente en la planta hasta que entra floración a partir de los 6 meses de establecida en campo, provocando huertos desuniformes y que se inviertan recursos sobrestimados para el desarrollo y producción de este cultivo.

La detección temprana del sexo en semilla o en plántulas a través del cultivo in vitro puede ser una herramienta para evaluar tempranamente posibles indicadores del dimorfismo sexual en papayo.

Objetivo: "Evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento ANA y BAP en la germinación in vitro de semillas y desarrollo de plántulas de *Vasconcellea pubescens.*"

Materiales y métodos

Semillas sin testa de un fruto maduro de papaya colectado en Diciembre del 2012, fueron establecidas en medio de cultivo MS al 100% de sus sales, con 30 gr de sacarosa y pH 5,7 al que se le adicionó 0,1 y 0,2 mg/L de ANA Y BAP en combinación y por separado, estableciendo 9 tratamientos con 20 repeticiones, incluyendo un control sin hormonas. Estos tratamientos se mantuvieron durante 30 días a 25ºC y fotoperiodo de 16 horas luz. Se realizaron observaciones a los 10,20 y 30 días evaluando; porcentaje de germinación, días de entrada en germinación, longitud y número de raíces, largo y diámetro de tallo y longitud de hojas.

Tabla1: Tratamientos ANA y BAP para germinación in vitro de semillas de *Vasconcellea*.

Tratamientos	ANA (mg/L)	BAP (mg/L)
T0	0	0
T1	0	0,1
T2	0	0,2
T3	0,1	0
T4	0,1	0,1
T5	0,1	0,2
T6	0,2	0
T7	0,2	0,1
T8	0,2	0,2

Resultados

El inicio de la germinación en la mayoría de los tratamientos comenzó a partir del 5º día de establecimiento de las semillas, observándose un aumento desde el día 15 en adelante para la mayoría de los tratamientos con valores entre 40 a 80%, con excepción del tratamiento T6 donde no hubo germinación.

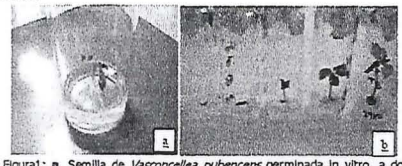


Figura1: **a.** Semilla de *Vasconcellea pubencens* germinada in vitro, a dos semanas de establecida. **b.** Secuencia del proceso de germinación in vitro en semillas de *Vasconcellea* hasta obtener una plántula completa.

El porcentaje de germinación más alto se registró en el tratamiento T8 con un 80% al terminar el ensayo, no presentando diferencias con los tratamientos T4, T5, T2 y T0 con valores entre los 60 y 75%.

Tabla2: Porcentajes de germinación y contaminación in vitro a los 30 días de establecidas las semillas de *Vasconcellea*.

Tratamientos (mg/l)	Contaminación %	Germinación %
T0 (0ANA+0BAP)	0,1a	0,6 cde
T1(0ANA+0,1BAP)	0a	0,5bcd
T2(0ANA+0,2BAP)	0a	0,65cde
T3(0,1ANA+0BAP)	0,05a	0,45bc
T4(0,1ANA+0,1BAP)	0a	0,75de
T5(0,1ANA+0,2BAP)	0,1a	0,7cde
T6(0,2ANA+0BAP)	0,4b	0a
T7(0,2ANA+0,1BAP)	0,35b	0,3b
T8(0,2ANA+0,2BAP)	0a	0,8e
Cv	11,39	15,42

Plántulas: El Tratamiento T4 presentó la mayor altura de plántulas con un promedio 27,9 mm. en relación a los tratamientos T0,T5,T7 y T8 (figura2) no existiendo diferencias entre ellos. En diámetro de tallo y longitud de epicótilo no hay diferencias entre tratamientos.

Tabla3: Caracterización de plántulas obtenidas por tratamiento en relación a la altura, diámetro y longitud de epicótilo.

Tratamientos	Altura de plantas (mm)	Diámetro del tallo (mm)	Longitud de epicótilo (mm)
T0	19,32 abc	1,73 a	0,94 a
T1	15,29 c	1,89 a	0,47 a
T2	17,85 bc	1,74 a	0,09 a
T3	15,52 c	1,74 a	0,11 a
T4	27,92 a	1,72 a	0,45 a
T5	23,98 abc	1,72 a	0,98 a
T7	23,48 abc	1,80 a	1,26 a
T8	25,76 ab	2,74 a	1,37 a

Letras iguales no indican diferencias significativas entre los tratamientos según test de LSD ps0.05

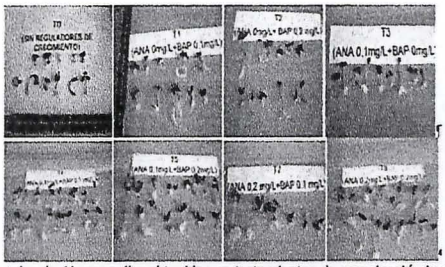


Figura2: Plántulas de *Vasconcellea* obtenidas en tratamientos de germinación in vitro.

Hojas: La aparición de las primeras hojas comenzó a partir de la cuarta semana. Los tratamientos T4, T5, T7 y T8 (con presencia de ambos reguladores) presentaron valores más alto del número de hojas. Los resultados del ancho de hojas fue similar para todos los tratamientos, en el largo de las hojas se registraron variaciones relacionadas con una diferenciación en su forma, distinguiendo entre hojas cordadas y levemente lobuladas (figura 3). En la mayoría de los tratamientos las primeras hojas se presenta como cordadas, las que se modifican al segundo o tercer par de hojas, o en algunos casos persiste esta forma.

Tabla4: Resultados en número y características de primeras hojas en plántulas de *Vasconcellea* en condición in vitro.

Tratamientos	Nº hojas	Ancho de hojas mm.	Largo de hojas mm.	Forma de la hoja (*)
T0	0,83 d	1,90 a	2,44 de	0,50 ab
T1	1,70 abc	3,41 a	4,02 bcde	1,70 ab
T2	1,46 bcd	8,91 a	4,10 cde	1,70 bc
T3	0,89 cd	0,82 a	1,18 e	0,89 bc
T4	2,33 a	5,34 a	7,34 abc	1,07 c
T5	2,00 ab	4,84 a	6,20 abcd	1,36 ab
T7	2,17 ab	6,68 a	8,95 a	2,00 ab
T8	2,31 a	5,86 a	8,64 ab	2,13 a

(*) Test de Kruskall- Wallis, formas asociadas a una clasificación numérica.

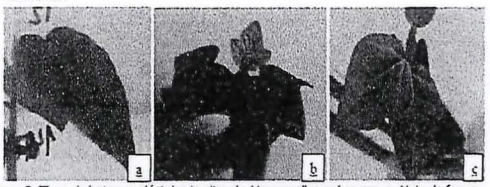


Figura 3: Tipos de hojas en plántulas in vitro de *Vasconcellea pubescens*. **a.** Hoja de forma cordada. **b.** Primer y segundo par de hojas con pequeños lóbulos. **c.** Hoja lobulada.

Raíz: El proceso de germinación comienza con la aparición de la radícula a los 5 días de establecida la semilla y luego desarrolla raíces laterales que le permiten estabilizar a la planta en el medio de cultivo para posteriormente desarrollar la parte aérea.

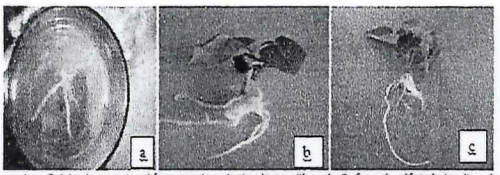


Figura 4: **a.** Inicio de germinación y enraizamiento de semillas. **b.** Raíces de plántula in vitro de un mes de cultivo. **c.** Desarrollo radicular in vitro a partir de semilla de dos meses de cultivo.

En todos los tratamientos se observó presencia de raíz en las plántulas, presentando un mayor desarrollo en número y longitud en los tratamientos T1 y T4.

Tabla 5: Caracterización del desarrollo de raíces en tratamientos para germinación in vitro de *Vasconcellea*.

Tratamientos	Presencia de raíces (*)	Nº de raíces promedio por plántula (**).	Suma longitud de raíces total (mm). (**).
T0 (sin reguladores)	1,17 a	1,33 c	24,90 abc
T1(0,1BAP)	1,00 a	2,60 ab	28,62 ab
T2(0,2 BAP)	1,15 a	1,23 c	6,90 c
T3(0,1 ANA)	1,11 a	2,89 ab	19,30 bc
T4(0,1ANA +0,1BAP)	1,00 a	3,33 a	40,28 a
T5(0,1ANA+0,2BAP)	1,21 a	1,86 bc	12,08 bc
T7(0,2ANA+0,1 BAP)	1,17 a	2,00 bc	28,07 abc
T8(0,2ANA+0,2BAP)	1,19 a	2,00 bc	20,62 bc

(*) Test de Kruskall- Wallis, parámetro asociado a una clasificación numérica .
(**) Test de Duncan .

Conclusiones

Aunque no se presentaron diferencias significativas entre la mayoría de los tratamientos con los mayores porcentajes de germinación, la incorporación al medio de cultivo de 0,1 mg/L de BAP y ANA para cada regulador (Tratamiento 4), con germinación del 75% favoreció a la obtención de plántulas con características aéreo y radicular bastante uniformes entre las repeticiones, con altura promedio de 27mm y desarrollo radicular de 40mm. Observando además en sus primeras hojas algunas formas diferentes del limbo, lo que podría inducir alguna diferenciación de las plantas. Por lo que estos resultados constituyen la base para estudios posteriores a partir de un protocolo de germinación in vitro de semillas de polinización dirigida, para la evaluación de estos caracteres a nivel de plántulas, generando más antecedentes para trabajos de propagación y mejoramiento genético en *Vasconcellea*.

Resumen de Trabajo

Propagación vegetativa de papayos (*Vasconcellea pubescens*) como alternativa de evasión para el polimorfismo sexual de las plantas.

Angélica Salvatierra G.[1], Constanza Jana A.[1], Roxana Gutiérrez[1], Lucía Martínez G[1].
1 INIA-Intihuasi,

El papayo presenta polimorfismo sexual y se propaga a partir de semillas provenientes de una polinización abierta. Dado que no es posible conocer, a nivel de semillas, el sexo de las plantas, la siembra se hace en unidades conformadas por 4 semillas, lo que permite, en floración, , eliminar aquellas plantas improductivas (machos), 6 meses después de plantación. Esa práctica lleva a un número aleatorio de plantas productivas (hembras y hermafroditas). La propagación vegetativa puede ser una opción para la masificación de plantas madres de sexo definido, seleccionadas con buenos atributos.

El objetivo de este ensayo fue evaluar dos tipos de propagación: enraizamiento de estacas e injertación. El enraizamiento se evaluó considerando tipo de estaca (basal y apical) y hormona ácido naftalen acético (ANA), con o sin aplicación. Estos tratamientos se realizaron con estacas de plantas hembras y hermafroditas bajo invernadero y al aire libre. Por otra parte, la injertación en 4 técnicas: montura, cuña e hendidura, aproximación y empalme inglés, se hizo en Octubre usando como patrón plantas propagadas de semillas, de aproximadamente 20 cm de altura.

El porcentaje de estacas enraizadas de hermafroditas, fue mayor para las estacas basales y en ausencia de hormona, tanto para las plantas creciendo en invernadero como aquellas al aire libre. Mientras que estacas de plantas hembras, presentaron un efecto positivo a la interacción estaca basal con ANA, bajo la condición de invernadero. Sin embargo, el largo de raíces, fue muy variable entre y dentro de los tratamientos. Por otra parte, la injertación tuvo un prendimiento sobre un 44 %, no habiendo diferencias estadísticas entre los diferentes tipos de injertos. A los tres meses de injertación se realizaron cortes histológicos para verificar a través de microscopio, el sellamiento de injertos.

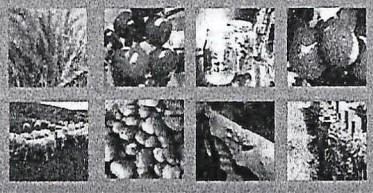
La propagación de estacas y la injertación son posibles de aplicar, pero se debe establecer un protocolo para la obtención y mantención de plantas madres, así como también determinar factores que influyen en calidad de raíces. El comportamiento de las plantas a partir de estacas enraizadas como las plantas injertadas debe ser evaluado.

Proyecto PYT 2011-0060, financiado por FIA y ejecutado por INIA-Intihuasi.

Propagación vegetativa de papayos (*V. pubescens*) como alternativa de evasión para el polimorfismo sexual de las plantas.

Angélica Salvatierra G., Constanza Jana A., Roxana Gutiérrez, Lucía Martínez G.

INIA
Ministerio de Agricultura
Gobierno de Chile



Introducción

Propagación vegetativa

- La propagación vegetativa puede ser una opción para la masificación de plantas madres de sexo definido, seleccionadas con buenos atributos.

✓ Enraizamiento de estacas.

✓ Injertación.

Materiales y Métodos

- **Ensayo de enraizamiento de estacas**

- Época de corta: Primavera
- Tipo de estaca : basal y apical
- Uso de ácido naftalen acético (ANA)
- Plantas hembras y hermafroditas bajo invernadero y al aire libre.

Materiales y Métodos

- **Injertación**

- Injertos: montura, cuña e hendidura, aproximación y empalme inglés.
- Época: Octubre
- Patrón: plantas propagadas de semillas, de aproximadamente 20 cm de altura.
- A 3 meses de injerto, se tomaron muestras de unión injerto y se hicieron cortes histológicos en dicha zona.
- Fijación Parafina, tinción toluideno 0.05 % en agua, observaciones en microscopio de luz.

Resultados

Propagación enraizamiento de estacas

Enraizamiento (%) de plantas hermafroditas (estacas colectadas en primavera)

	Condición	
	Aire libre	Invernadero
Tipo de estaca	Enraizamiento (%)	
apical	18.75b	21.85b
basal	84.37a	75 a
Hormona*		
Con	37.5 b	34.37b
Sin	65.62a	62.47a
CV (%)	47	46

* Acido 1 naftil acetico 0.4 %
Letras distintas entre filas implica diferencias

Estaca basal sin hormona al aire libre o invernadero

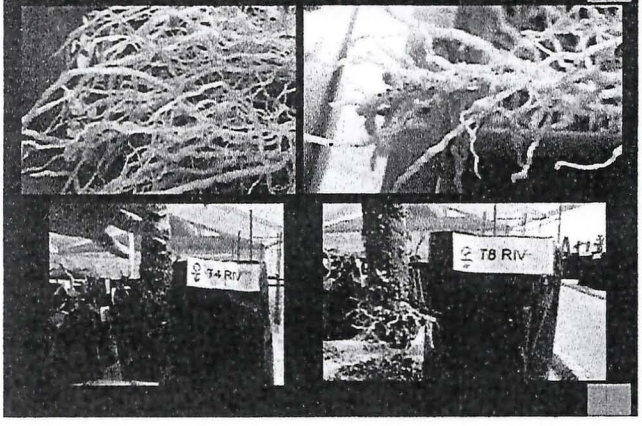
Enraizamiento (%) de plantas hembras

	Aire libre		Invernadero	
	Con Hormona	Sin hormona	Con Hormona	Sin hormona
apical	0 bB	37.5aA	0 bB	62.5bA
basal	62.5aA	56.2aA	68.75aB	87.5aA
CV(%)	52.2		13.0	

Letras minusculas entre filas y mayusculas entre columnas

Estaca Basal sin hormona bajo condiciones de invernadero

Calidad de enraizamiento



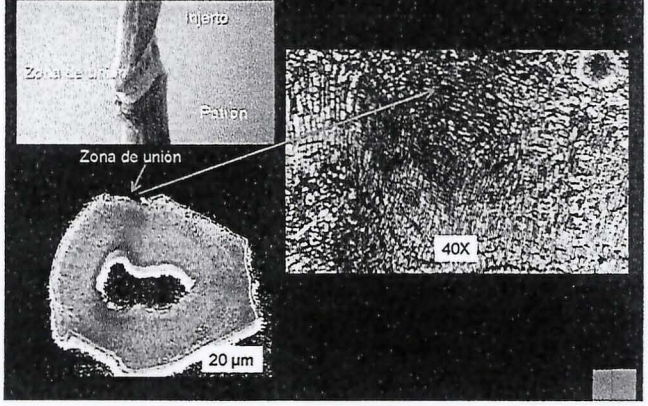
Resultados Ensayo técnicas injertación

Porcentaje de prendimiento de injertos en plantas propagadas por semillas (3 meses después)

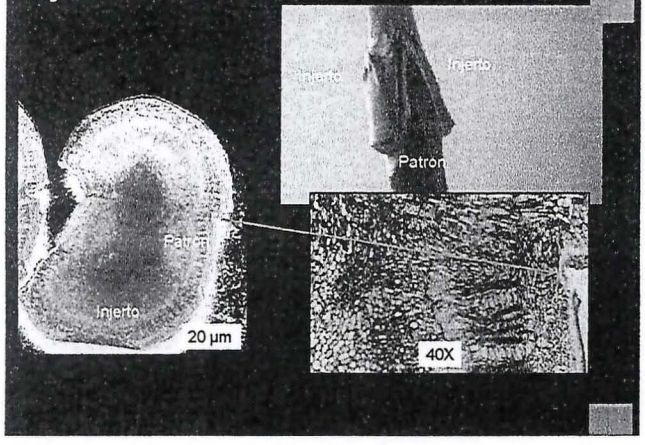
Tratamientos	Rango prendimiento de repeticiones (%)	Porcentaje de prendimiento (%)
Aproximación	25-100	62.5a
Montura	25-75	43.7a
Cuña o hendidura	50-75	68.7a
Lengüeta	25-75	43.7a

Valores de porcentaje transformados a $\sqrt{n}$ + 1.Test de Duncan p< 0,05 N= 16 plantas por repetición

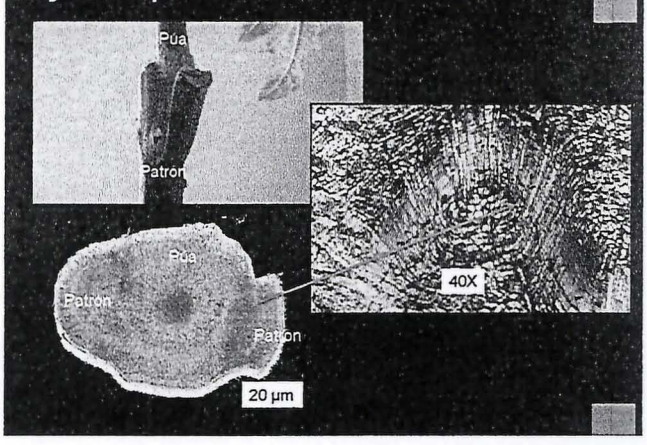
Injerto aproximación



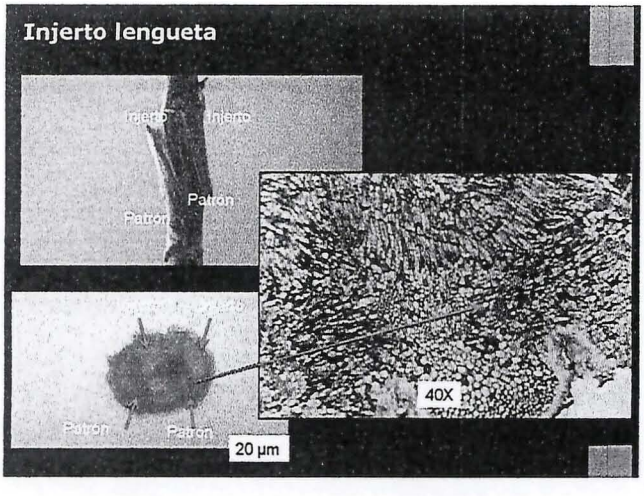
Injerto de montura



Injerto de púa



Injerto lengueta



Conclusiones

- La propagación de estacas y la injertación son posibles de aplicar, pero se debe establecer un protocolo para la obtención y mantención de plantas madres, así como también determinar los factores que influyen en la calidad de raíces.
- El comportamiento de las plantas en campo originadas a partir de estacas enraizadas como las plantas injertadas debe ser evaluado.

Gracias

Gobierno de Chile

www.gob.cl

Obtención de plantas de V. pubescens con sexo definido mediante un porotocolo de detección temprana del polimorfismo sexual y perfeccionamiento de la propagación agámica.

PYT-2011-0060, FIA.

63° CONGRESO AGRONÓMICO 2012
Contribuyendo a la sustentabilidad alimentaria

Resumen de Trabajo

Protocolo de desinfección *in vitro* de semillas de *Vasconcellea pubescens* Phil.

Roxana Gutiérrez López1,
1 INIA-Intihuasi,

Con el propósito de establecer un protocolo de germinación in vitro se realizo el presente trabajo cuyo objetivo fue determinar el mejor tratamiento de desinfección en semillas de *Vasconcellea* para su posterior establecimiento en condiciones in vitro. Para esto se utilizo semillas de un fruto maduro de papaya, a las que se les retiro el mucilago en forma manual, se lavaron con detergente y enjuagaron con abundante agua destilada. Luego se hidrataron por 15 horas y fueron llevadas a cámara de flujo laminar en donde se sometieron a 2 tratamientos de desinfección con hipoclorito de sodio al 1%, durante 5 y 10 minutos respectivamente y a un tratamiento control en inmersión en alcohol al 70% por 2 minutos. Considerando información recopilada para Carica y en ensayos preliminares relacionados con la testa relativos a la contaminación en el medio de cultivo, a estas semillas se les extrajo la testa y se establecieron en un medio de cultivo Murashige y Skoog al 100% de sus sales sin adición de hormonas. Se establecieron 30 repeticiones por tratamiento, realizando evaluaciones a los 10, 20,y 30 días evaluando porcentaje de sobrevivencia, mortalidad y contaminación. A los 30 días de cultivo en condiciones ambientales controladas, de acuerdo con las observaciones y al análisis estadístico de los resultados se determinó como mejor tratamiento aquel que utilizo solo alcohol al 70 % por 2 minutos de inmersión, registrándose sobrevivencia de un 90% de las semillas establecidas en comparación con los otros tratamientos con porcentajes de contaminación del 40% y 70% apareciendo como un exudado blanco alrededor de la semilla. Las semillas sin contaminación comenzaron a germinar pasada la primera semana de establecidas.

De acuerdo a las observaciones realizadas y al análisis estadístico el mejor tratamiento para la desinfección de las semillas es aquel que no utiliza hipoclorito de sodio como agente desinfectante, curiosamente dentro de los protocolos la acción del alcohol en esta concentración se utiliza principalmente para ayudar a romper la tensión superficial de las células para facilitar la acción posterior de otro agente, sin embargo en este caso basta solo la inmersión de las semillas con testa en alcohol al 70 % un par de minutos, sin duda que la eliminación de la testa contribuye en gran medida a eliminar posibles factores de contaminación asociada a las semillas para este tipo de trabajo.

Proyecto PYT 2011-0060, financiado por FIA y ejecutado por INIA-Intihuasi.

"Determinación de un protocolo de desinfección de semillas in vitro de *Vasconcellea pubescens*. Phil."

R. Gutiérrez , A. Salvatierra, C. Jana, L. Mártinez.
INIA-Intihuasi,

Introducción

Introducir material vegetal de campo a condiciones de cultivo in vitro tiene como principal problema la gran cantidad de agentes patógenos asociados, por lo que es importante realizar una adecuada desinfección con ayuda de agentes químicos. Dependiendo de la naturaleza del material vegetal a introducir es necesario realizar variadas pruebas de desinfección para determinar el agente, la concentración a utilizar y los tiempos de acción adecuados para lograr la eliminación o disminución a niveles muy bajos de estos patógenos y que a la vez no provoque daños en los tejidos, ni en la capacidad de regeneración de las células vegetales.

Objetivo

"Determinar el mejor tratamiento de desinfección en semillas de *Vasconcellea pubescens* para ser establecidas in vitro."

Metodología

A las semillas de un fruto maduro de papaya colectado en el mes de Noviembre del 2012, se les retiró el mucilago, se lavaron con detergente y enjuagaron con abundante agua destilada. Después de hidratarse por 15 horas fueron llevadas a cámara de flujo laminar para someterlas a 2 tratamientos de desinfección con hipoclorito de sodio al 1%, durante 5 y 10 minutos y a un tratamiento control en alcohol al 70% por 2 minutos. A las semillas se les extrajo la testa y se establecieron en un medio de cultivo Murashige y Skoog al 100% de sus sales sin adición de hormonas, manteniéndolas 30 días en cámara de crecimiento a 25°C, con un fotoperiodo de 16 horas y 3.000 lux. Se evaluaron a los 10,20 y 30 días; %sobrevivencia, %mortalidad y %contaminación. El diseño estadístico fue completamente al azar, realizando un ANDEVA y como separación de medias el test de Duncan.

Tratamientos desinfección semillas de papayo:
T0 (testigo): Sólo alcohol al 70%, por 2 minutos, sin hipoclorito de sodio.
T1: alcohol al 70% 2 minutos + Hipoclorito de sodio al 1% por 5 minutos.
T2: alcohol al 70% 2minutos + hipoclorito de sodio al 1% por 10 minutos

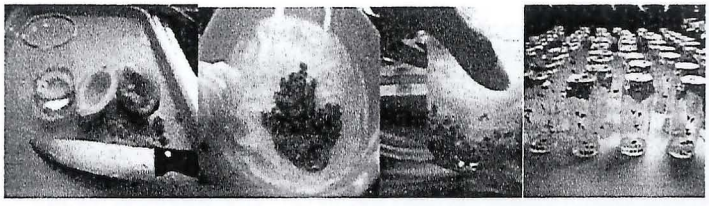


Figura1. Proceso de desinfección semillas de *Vasconcellea.*

Resultados

Después de 30 días de establecidas las semillas, el mejor porcentaje de sobrevivencia y menor porcentaje de contaminación se registró en el tratamiento T0 (solo inmersión en alcohol al 70%) con una tasa de sobrevivencia de 90% de las semillas a diferencia de los otros dos tratamientos que presentaron una tasa de contaminación más alta (cuadro 1).
El mayor porcentaje de contaminación se registró en el tratamiento T2 (inmersión en alcohol al 70% por 2 minutos + inmersión en hipoclorito de sodio al 1% por 10 minutos) con un 40% de contaminación.

Cuadro1. Análisis estadístico tratamientos de desinfección para establecimiento in vitro en semillas de *Vasconcellea.*

Evaluaciones	10 días		20 días		30 días	
Tratamientos	contaminación	sobrevivencia	contaminación	sobrevivencia	contaminación	sobrevivencia
T0	1 a	1a	0,1 a	0,9 a	0,1a	0,9 a
T1	0,1 a	0,9 a	0,2ab	0,8 ab	0,2ab	0,8 ab
T2	0,05 a	0,95 a	0,4b	0,55 b	0,4b	0,6 b

Letras distintas en una misma columna indican diferencia estadística significativa (p<0,05) , según test de Duncan

La contaminación asociada a este estudio fue de un 10 a 40 %, contaminación principalmente de tipo bacteriano, observándose como un exudado blanco alrededor de la semilla, apareciendo en aquellos tratamientos en que se utilizó hipoclorito de sodio como desinfectante (figura 2).

La mayor parte de las semillas sin contaminación comenzaron a germinar pasada la primera semana de establecidas en el medio de cultivo, al contrario de las semillas contaminadas, que no germinaron.

Figura 2. contaminación en semillas in vitro

Conclusión

El mejor tratamiento para la desinfección de las semillas, es aquel que utiliza alcohol al 70 % un par de minutos, para la disminución de agentes patógenos. En los protocolos establecidos para propagación in vitro, la acción del alcohol en esta concentración se utiliza para romper la tensión superficial de las células y facilitar la acción del agente desinfectante. La posterior eliminación de la testa también contribuyó a eliminar posibles factores de contaminación asociada a las semillas.

Bibliografía

Nava R., Vegas A., Marín C., y Villegas Z. 2011.Propagación clonal de plantas Elite de *Carica papaya*, usando microinjertación in vivo e in vitro. Interciencia.36:518-523.

Proyecto :Obtención de plantas de papayo con sexo definido mediante un protocolo de detección temprana del polimorfismo

64° Congreso Sociedad Agronomica de Chile

XXII Congreso Chileno de Fitopatologia

Resumen de Trabajo

Caracterización morfológica y molecular de plantas de papayo (*Vasconcellea pubescens*) de sexo diferente

Constanza Jana[1], Angélica Salvatierra[1], Andrés Zurita[2], Roxana Gitierrez[1], Lucía Martínez[1], Andrea Morales[2] y Marisol Herrera[2].

[1]Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA CRI Intihuasi

[2]Centro de Estudios Avanzados en Zonas áridas, CEAZA

Vasconcellea pubescens es una planta originaria de los Andes Sudamericanos que se extiende en forma silvestre desde Colombia hasta Bolivia y como planta cultivada se encuentra sólo en Chile. Sobre la base de caracteres morfológicos y genéticos, *Vasconcellea* ahora es considerada una planta diferente de *Carica papaya* (Badillo, 2000, 2001). En esta especie existen árboles masculinos con sólo flores masculinas; árboles hembras, sólo con flores hembras y árboles hermafroditas que, dependiendo de las condiciones climáticas, pueden presentar flores de los tres sexos en determinadas épocas del año, aun cuando mayoritariamente presentan flores masculinas y femeninas. A la fecha, estos 3 tipos de plantas no son distinguibles antes de la floración. Con el objeto de determinar caracteres morfológicos que permitan la detección temprana del sexo, se utilizaron 26 caracteres morfológicos y se evaluaron en plantas adultas, semillas y plántulas. Además se utilizaron 17 marcadores moleculares descritos para Carica, en plantas hembras, masculinas y hermafroditas de Vasconcellea, para asociarlos a los caracteres morfológicos. La evaluación morfológica permitió distinguir caracteres de una planta adulta (forma del ápice foliar, número de venas basales y grosor de las venas foliares) que permitirían separar plantas hembras y hermafroditas de masculinas en estado adulto. El color de la semilla puede ser el carácter que separe a plantas provenientes de fecundación dirigida, cuya descendencia es masculina de aquellas plantas cuya descendencia es sólo femenina y hermafrodita. Los 17 marcadores moleculares utilizados con éxito en Carica para separar diferentes sexos, no permitieron discriminar sexo en Vasconcellea.

Proyecto PYT 2011-0060, financiado por FIA y ejecutado por INIA-Intihuasi.

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE PLANTAS DE PAPAYO (*Vasconcellea pubescens*) DE SEXO DIFERENTE

Constanza Jana[1], Angélica Salvatierra[1], Andrés Zurita[2], Roxana Gutiérrez[1], Cornelio Contreras[1], Lucía Martínez[1], Andrea Morales[2] y Marisol Herrera[2].

[1]Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA CRI Intihuasi; [2]Centro de Estudios Avanzados en Zonas Áridas, CEAZA.

INTRODUCCIÓN

Vasconcellea pubescens es una planta originaria de los Andes sudamericanos que como planta cultivada, se encuentra sólo en Chile. En esta especie existen árboles masculinos, hembras y hermafroditas que no son distinguibles antes de la floración. Esto representa una ineficiencia en la cadena productiva de este cultivo, porque impide a viveristas y agricultores tener certeza del sexo de la planta antes del establecimiento, afectando finalmente los resultados de productividad. Debido a lo anterior, el objetivo de este estudio fue realizar una caracterización morfológica y molecular de plantas de *Vasconcellea* de sexo diferente, con el fin de desarrollar un protocolo de detección temprana del polimorfismo sexual.

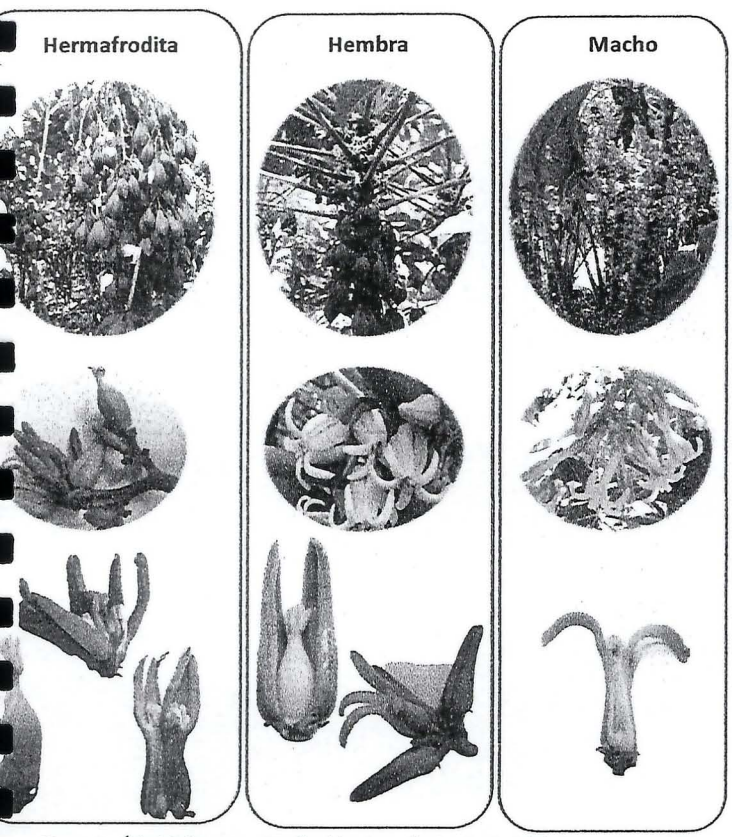


Figura 1. Árbol, inflorescencia y flor (desde arriba hacia abajo) de los tres sexos de *Vasconcellea*

MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó en base a 26 caracteres morfológicos (UPOV, 2010) para *Carica papaya*. Estos caracteres se evaluaron en plantas adultas de sexo conocido, semillas y plántulas. Por otro lado, se evaluaron 17 marcadores moleculares descritos para *Carica* (Liu et al., 2004; Wu et al., 2010), en plantas de los tres sexos de *Vasconcellea* y por último se diseñó un marcador molecular específico para *Vasconcellea*, obtenido del resultado de la secuenciación de productos de PCR de los amplicones generados con tres de los marcadores de *Carica*.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación morfológica permitió distinguir caracteres de una planta adulta (forma del ápice foliar, número de venas basales y grosor de las venas foliares) que permitirían separar plantas hembras y hermafroditas de masculinas. En estado de semilla y plántula, 12 caracteres, presentan diferencias significativas. Estos caracteres morfológicos separan a plantas macho de las plantas hermafroditas y hembras. Los 17 marcadores moleculares utilizados con éxito en *Carica* para separar diferentes sexos, no permitieron discriminar sexo en *Vasconcellea*, sin embargo, el marcador desarrollado denominado P212 contiene una secuencia no conservada y exclusiva correspondiente a una inserción de 18 pares de bases, presente sólo en las hembras.

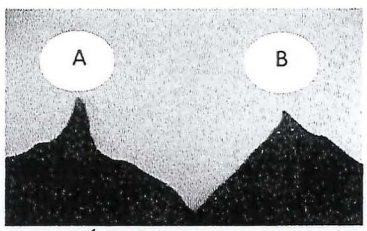


Figura 2. Ápice foliar en plantas macho (A) (acuminado) y en plantas hembras y hermafroditas (B) (cuspidado)

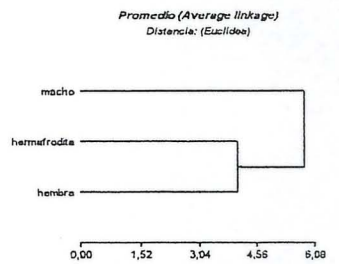


Figura 3. Dendrograma para caracteres morfológicos de *Vasconcellea* en plantas de tres sexos definidos: macho, hembra y hermafrodita

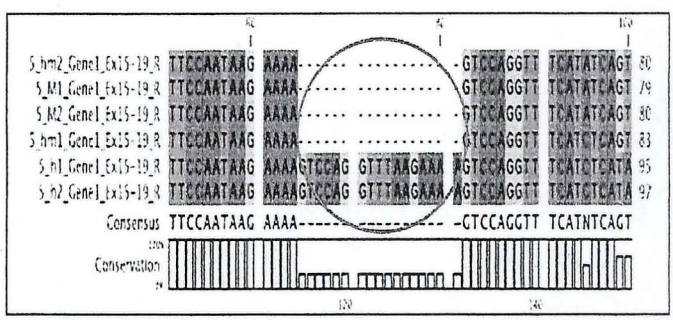


Figura 4. Alineamiento de secuencias correspondientes a la región 5' obtenidas desde amplicones provenientes de muestras de distinto sexo del marcador 5 (Gene1 Ex15-19).

CONCLUSIÓN

Plantas de *Vasconcellea* presentan diferencias morfológicas y moleculares entre sexos. Esto podría ser la línea base de un protocolo de detección temprana del sexo.

BIBLIOGRAFIA

Liu, Z., Moore, P., Ma, H., Ackerman, C., Ragiba, M., Yu, Q., Pearl, H., Kim, M., Charlton, J., Stiles, J., Zee, F., Paterson, A. and Ming, r. 2004. A primitive Y chromosome in papaya marks incipient sex chromosome evolution. Nature 427 : 348-352.

UPOV, 2010. Papaya. Código UPOV CARIC_PAP. Directrices para la ejecución del examen de la distinción, la homogeneidad y la estabilidad. Ginebra 28 p.

Wu X., Wang J., Na JK., Yu Q., Moore RC., Zee F., Huber SC., Ming R. 2010,. The origin of the non-recombining region of sex chromosomes in Carica and *Vasconcellea*. Plant J 63, 801–810.

Proyecto : "Obtención de plantas de papayos (*V. pubescens*) con sexo definido mediante un protocolo de detección temprana del polimorfismo sexual

Manuscritos de Publicaciones

- Observaciones preliminares de la expresión floral y germinación de polen en huertos productivos de papayos Vasconcellea pubescens A.DC. *Nota científica para Chilean Journal of Agricultural Research.*

- Injertación en papayos: Una forma de evadir el polimorfismo sexual de las plantas. *Publicación divulgativa Revista Tierra adentro.*

- Situación actual del cultivo de papayos en las principales zonas de producción de chile. *Publicación divulgativa Revista Tierra adentro, en revisión.*

OBSERVACIONES PRELIMINARES DE LA EXPRESION FLORAL Y GERMINACIÓN DE POLEN EN HUERTOS PRODUCTIVOS DE PAPAYOS *VASCONCELLEA PUBESCENS* A.DC.

María Angélica Salvatierra G. [1]*, **Constanza Jana Ayala**[1]

ABSTRACT

Key words: dioco, monoica, ambisexual, polen, *V. candamarcensis* Hook, *V.cundinamarcensis* Badillo o *Carica pubescens*.

RESUMEN

V. pubescens es un cultivo que concentra su producción en la Comuna de La Serena (30° S 70° W) y cuyo origen debe ser Ecuador, Colombia o Perú, donde se encuentra preferentemente en forma silvestre. En los centros de origen, esta planta es descrita como trioca, sin embargo bajo las condiciones de cultivo de la zona de estudio, esta especie se presenta como dioca y monoica (lo correcto sería andro y gino monoica??). El objetivo fue conocer la expresión floral de las plantas de papayos que se cultiva en Chile, ambisexuales y hembras, para lo cual se identificaron y cuantificaron las flores en las inflorescencias a lo largo de dos temporadas. También se evaluó la capacidad germinativa del polen in vitro considerando factores de localidad, estación y sexo de planta. Las inflorescencias de las plantas monoicas, son polígamas, observándose flores hembras, machos y raramente flores bisexuales generalmente deformes. La presencia de las flores en esta forma sexual es dependiente de la estación del año. Las flores hembras (de plantas hembras y ambisexuales) disponen siempre de una abundancia de flores macho de las plantas ambisexuales, no siendo necesaria la presencia de las plantas macho como polinizante. El polen de estas florestiene mayor poder germinativo en verano ($P \leq 0.05$). La floración de las plantas hembras, se encuentra cubierta por la presencia de flores machos de plantas ambisexuales, asegurando la polinización abierta Desde esta información básica, se proponen algunas prácticas de manejo y se definen posibles líneas de investigación paraesta especie.

INTRODUCCIÓN

[1] Instituto de Investigaciones Agropecuarias, INIA, La Serena, Chile. Corresponding autor

La familia Caricaceae incluye el género Carica, el género Vasconcellea, además de otros 4 géneros (Kyndt, 2005). *C. papaya* se considera como única especie representante del género Carica y es la especie más estudiada. El género Vasconcellea tiene 21 especies, donde la mayoría son diocas (19 spp.), pero también hay una especie monoica (*V. monoica*), y una especie trioica, *Vasconcellea pubescens* A. DC. sinónimo de *V. candamarcensis* Hook, *V.cundinamarcensis* Badillo o *C. pubescens*. Esta es la especie que se cultiva en Chile y que se conoce como papayo.

C. papaya, igualmente se clasifica como trioca. Esta forma sexual es considerada rara y se sugiere que se deriva de un ancestro dioco (Aryal y Ming, 2013). Badillo, citado por Aguirre, 2009, define la forma sexual de *V. pubescens* como polígama. Estudios genéticos en Vasconcellea han permitido sugerir la evolución de los cromosomas que determinan el sexo (Wu 2010) los que se habrían logrado separar en secuencias diferentes para hembras y machos a partir de secuencias únicas (Gschwend, 2013).

Los centros de mayor diversidad genética de Vasconcellea son: Ecuador, Colombia y Perú (Morales et al., 2004, Scheldeman ,2007). La historia biogeográfica de Caricacea, postula que Carica se aleja de Vasconcellea y que su diversificación se relaciona con el origen de la cordillera de Los Andes (Carvhalo y Rennes, 2012). Las plantas de *Carica papaya* poseen un polimorfismo sexual, donde se describen distintos tipos de flores (Storey, 1941, Minga et al., 2007). Por otra parte, Horovitz y Jiménez (1972) indican que V. *pubescens* tiene plantas hembras y plantas ambisexuales, término inclusivo de plantas con inflorescencias polígamas. Meza (2010) hace una descripción de flores de *V. cundimarcensis* de Colombia, donde sólo rescata flores femeninas y masculinos desde plantas silvestres, se asume la ausencia de otro tipo de flores. Por otra parte, el papayo cultivado en Chile se asume como planta trioca (Carrasco et al., 2008) y, como planta dioca (plantas machos y hembras) y planta monoica, con flores bisexuales escasas y que producen frutos deformes (Muñoz, 1988).

Otras especies de la familia Caricacea, como *Jacaratia mexicana,* presenta variaciones sexuales en los árboles machos, presentando flores pistiladas, estaminadas o perfectas (Aguirre et al., 2009). Asimismo las flores pistiladas de árboles hembras y árboles machos tienen diferencias en tamaño y las flores estaminadas tiene un pistilo rudimentario (Aguirre et al., 2009). En el caso de *C. papaya*, al igual que otras plantas (Aryal y Ming, 2013), la expresión floral puede verse afectada por condiciones climáticas, tales como temperatura y humedad relativa (Singh, 1990) y, por el manejo de riego (Terra de Almeida et al., 2003).

El polimorfismo sexual cobra relevancia dado que la producción comercial de los huertos está influida por el número y calidad de los frutos, determinado por el sexo de las plantas. Como una manera de sobrellevar esta característica del papayo, el viverista entrega una unidad constituida por 3 o 4 plantas originadas a partir de semillas, de sexo inidentificable y, el agricultor, ralea las plantas de sexo masculino, 8-10 meses después de plantadas en el huerto, a inicio de primavera. Sin embargo esta práctica se prolonga debido a que las plantas no se expresan simultáneamente, incidiendo aún más sobre los costos de manejo. Finalmente el huerto comercial, queda conformado por un número no definido de plantas hembras y ambisexuales que causa desuniformidad en los huertos de papayos. En La Serena, Chile, existen huertos con distinta composición de plantas de cada género, así en dos localidades cercanas (Altovalsol y Algarrobito), las proporciones hembra:ambisexual fueron de 6:1 y 1:1, respectivamente. Tanto las plantas ambisexuales como hembras inciden en la producción final, prefiriéndose las plantas hembras por presentar fruta de mejor calidad.

A la fecha, no existen reportes de la expresión floral de huertos de papayos en Chile, lo que lleva a basarse en formas de sexo asociadas a *C. papaya*. Esto puede llevar a prácticas agronómicas erróneas si no se considera la real expresión floral del material vegetal que crece en Chile.

Con el objetivo de conocer la expresión floral de las plantas de papayos, ambisexuales y hembras, se realizó un seguimiento a las flores de estos géneros, procediendo a identificar el sexo y cuantificar el número de ellas en cada registro, así como también evaluar la capacidad germinativa del polen en plantas ambisexuales y machos. Este conocimiento permitiría proponer recomendaciones agronómicas adecuadas para la zona de estudio

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en dos huertos de papayos en producción, ubicados en La Serena, localidades de Algarrobito (30°00' S; 70°48' W) y Altovalsol (30°00' S; 70°48' W), zonas típicas en producción de papayos. Las condiciones climáticas en ambas localidades fueron similares, con una temperatura media de 16,5° C y una humedad relativa media de 65 %, dentro del periodo de seguimiento en ambas localidades.

En estas dos localidades se seleccionaron tres plantas, con desarrollo similar, por cada sexo presente en los huertos. Las plantas fueron identificadas en el momento de su primera floración, en agosto de 2010, para iniciar la evaluación el año siguiente.

En cada una de estas plantas, se fue seleccionando una inflorescencia en un estado inicial, bajo la cual se instaló un canasto, colector de flores. El número total de flores desarrolladas se contabilizó, tres veces por semana y se identificó el sexo de ellas. Una vez terminada la floración de la inflorescencia marcada, se trasladaba el colector a una nueva inflorescencia axilar superior. Este seguimiento se realizó entre Enero de 2012 y junio de 2013.

Durante la segunda temporada de evaluación, se hizo una modificación, con el fin de colectar un mayor número de flores en cada inflorescencia. La colección semanal consistió en recolección de la inflorescencia axilar desarrollada, desde las mismas plantas marcadas en la temporada anterior. Luego, en el laboratorio se contabilizaron las distintas flores de acuerdo a su sexo. Este seguimiento se efectúo entre Septiembre de 2013 a marzo de 2014.

Las condiciones climáticas registradas durante el seguimiento del estudio se realizaron mediante un medidor de temperatura y humedad relativa (HOBO, H8 logger), programado para medir cada una hora las variables indicadas.

Germinación de polen

Se hizo un seguimiento de la germinación de polen, asumiendo que es una prueba confiable de viabilidad como ocurre en *C. papaya* (Pares et al., 2004), estableciéndose como hipótesis que la capacidad de germinación varía en función de la época de floración y de tipo de planta. El polen colectado fue obtenido en estado de flor con sépalos ligeramente curvados en las dos localidades.

El procedimiento se hizo sobre lo establecido por Pares et al. (2006), se colectaron 5 flores macho en cada estado, desde tres plantas ambisexuales y machos. Se extrajo el polen en un tubo de ensayo con 2 ml de sacarosa al 5% y se procedió a la incubación por 5 h en cámara de crecimiento a 24 °C y luz. Posteriormente, se extrajo una alícuota donde se contabilizó el número de polen germinados y sin germinar, en tres campos del lente de microscopio (4x*10). El porcentaje de germinación se definió como granos de polen con presencia de tubo polínico/ granos totales*100.

Procesamiento de datos y análisis estadístico

Los datos de las inflorescencias, tanto de la primera como de segunda temporada, provenientes de las plantas se promediaron por fecha de registro. El total de inflorescencias contabilizadas fue de 54 para las plantas de cada sexo. Durante el período de invierno el número de nuevas inflorescencias se reduce, por lo que prácticamente el registro fue cero y los datos no fueron considerados.

La información de las plantas hembras y ambisexuales se procesó en forma independiente para cada una de las localidades de estudio.

El análisis correspondió a una estadística descriptiva (promedio ± DS) para flores machos, hembras y ambisexuales, según correspondiera, en cada fecha de registro y localidad.

La germinación de polen, expresada como porcentaje y transformado como $\sqrt{(\%/100)}$ y fueron analizados a través de un Análisis de Varianza e interacción entre los factores de sexo de las plantas * estación, posteriormente localidad * estación. Para establecer las diferencias entre las medias se aplicó el Test de comparaciones múltiples de Duncan (p= 0.05) usando el programa estadístico Statgraphic .

RESULTADOS AND DISCUSSION

Tipos de plantas y de flores observadas

Las inflorescencias de las plantas ambisexuales tienen flores masculinas, flores femeninas y, raramente flores bisexuales, las cuales generalmente tienen un carpelo deforme, que otorga una forma curvada a la flor, esto concuerda con la descripción de Muñoz, 1988 (Figura 1 y 2).

Las flores masculinas siempre tienen un rudimento de pistilo (Figura 2) coincidente con lo descrito en cv. Maradol de *C. papaya* (Gil y Miranda, 2005) y en *Jacaratia mexicana* (Aguirre, 2009). Las flores masculinas, en la inflorescencia, sobrepasan ampliamente al número de flores hembras presentes en la inflorescencia. Las flores hembras, en planta ambisexual, difieren en tamaño y forma, siendo más angosta en la zona del ovario que la flor de planta hembra (Figura 3). Esto finalmente determina la forma del fruto. Por último, las plantas hembras sólo presentan flores hembras y las plantas machos sólo flores machos lo que no varía durante las estaciones del año.

Evolución floral de plantas ambisexuales

La mayor visualización de flores femeninas ocurre a inicios de primavera en ambas localidades, manteniéndose la aparición de ellas durante todo el período de seguimiento. Las inflorescencias, presentan diferencias en el número de flores hembras. En general, las flores hembras se encuentran entre 1 a 3 por inflorescencia.

Por otro lado, las plantas ambisexuales, presentan variaciones en su expresión sexual a lo largo de la temporada en las dos localidades en estudio (Figura 4 y 5). En las inflorescencias polígamas hay

una predominancia de flores machos a lo largo de la temporada y, las flores hembras y bisexuales se manifiestan principalmente durante el verano. En Algarrobito, se mantiene la expresión sexual de flores machos en primavera, pero hay un número mayor de flores hembras y bisexuales, que lo observado en Altovalsol, a lo largo del período evaluado. La expresión floral en plantas está influido por varios factores medio ambientales (Singh, 1990; Wu et al., 2010; Aryal y Ming, 2013) y podría explicar las diferencias dentro del año y entre localidades. También la expresión floral puede ser regulada por hormonas (Wu et al., 2010).

La floración de las plantas hembras, se encuentra cubierta por la presencia de flores machos de plantas ambisexuales, asegurando la polinización abierta (Figuras 4 y 5)

Hay épocas del año, primavera, en la que sólo se observan flores machos, presentándose las flores hembras, bisexuales en forma paulatina durante el periodo de seguimiento. Fenómeno similar al observado en *J. mexicana* (Aguirre et al., 2009).

Germinación de Polen

La germinación de polen fue dependiente de la estacionalidad y no del tipo de flor ni de la localidad (Cuadro 1 y 2). Esto se puede ser atribuido a la cercanía de las localidades y semejanza en sus condiciones climáticas. En cuanto al tipo de flores, tanto las que provienen de plantas machos como de ambisexuales, presentan igual germinación a diferencia de lo que ocurre en *C. papaya* cv. Cartagena donde la germinación de polen, aumenta en la medida que el tipo de flor se acerca a la masculinidad perfecta (Pares et al., 2006).

La estación es un factor que influye en la capacidad de germinación, atribuyéndose a las condiciones de temperatura y humedad.

La proporción de flores machos en las plantas ambisexuales, produciría polen viable suficiente, especialmente en la época de mayor temperatura, que es cuando además están presentes las flores hembras.

CONCLUSIONES

V. pubescens, bajo la zona de estudio, presenta plantas diocas (hembras y machos) y monoicas. Sin embargo, la planta monoica, tiene una inflorescencia polígama; es decir flores femeninas, masculinas y bisexuales. La expresión floral varía dependiendo de la época del año, lo que podría estar influido por algunas variables medioambientales. Las flores bisexuales, se encuentran en bajo número y se pueden observar principalmente en primavera y verano. Estas cuando son funcionales dan origen a frutos deformes. Las plantas ambisexuales, especialmente a inicio de la primavera,

pueden sólo presentar flores machos, de manera que la eliminación de plantas indeseables (machos) se debería hacer a inicios de verano, cuando se observen las flores hembras.

El polen de las flores machos de plantas ambisexuales, presenta igual capacidad germinativa que aquellas de plantas machos y, en verano, el porcentaje de germinación del polen es mayor que en primavera. Ambas situaciones implicaría que se puede prescindir de plantas machos en los huertos productivos en la zona en estudio.

Se requiere profundizar en la investigación en esta especie. Sería importante estudiar la expresión genética de las plantas ambisexuales del papayo cultivado en Chile, así como evaluar posibles respuestas epigenéticas en ellas. Del mismo modo, un estudio comparativo entre la *V. pubescens* presente en Chile en relación con Vasconcellea en su centro de origen, podría indicar si la naturalización de esta especie sometida a endogamia es la causa de la diferenciación floral reportada en las plantas ambisexuales.

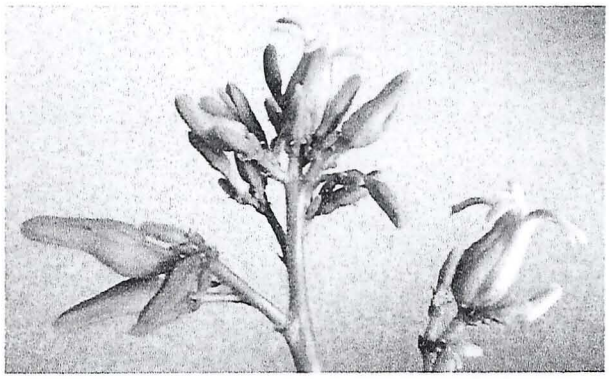
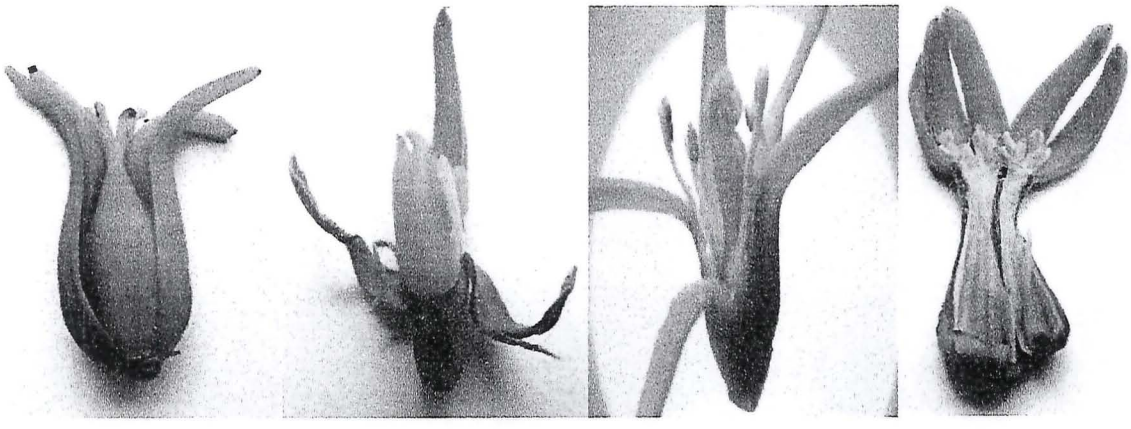


Figura 1: Inflorescencia polígama, con tres tipos de flores.



Flor femenina	Flor pistilada carpeloide o bisexual	Flor masculina o estaminada
Corola con pétalos libres, pistilo bien desarrollado, estilo corto y estigma con cinco ramas	Estilo corto y estigma con número variable de ramas, carpelo deforme. Presenta estambres fusionados a las paredes del ovario. Produce Frutos deformes	Estambres libres presenta un rudimento de pistilo

Figura 2. Tipos de flores comunes en inflorescencias polígamas presentes en huertos de La Serena

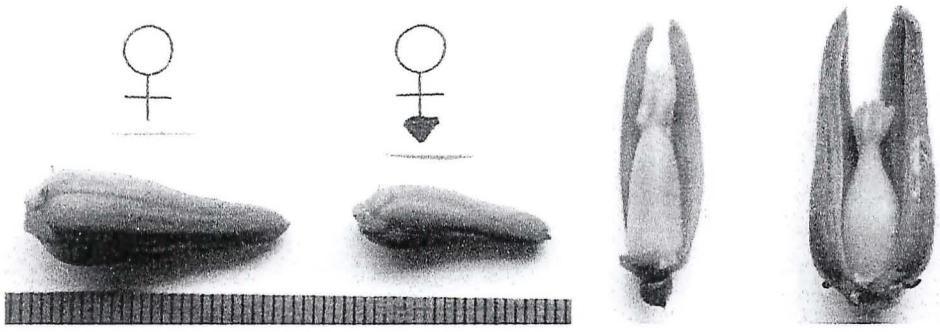


Figura 3. Flores femeninas de planta hembra y ambisexual

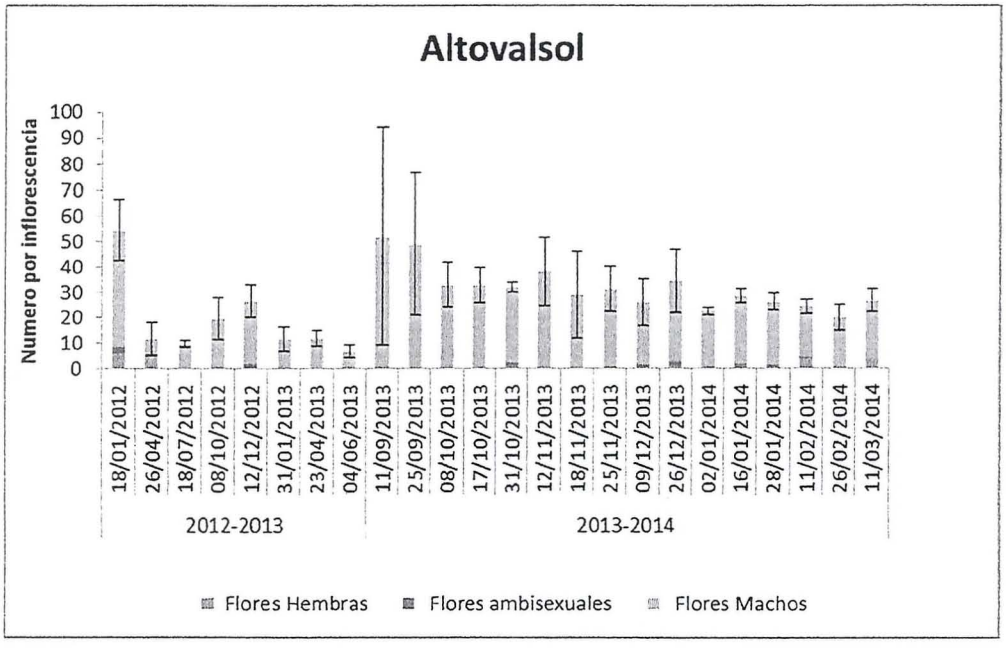


Figura 4. Variaciones estacionales en la expresión sexual de las inflorescencias de plantas ambisexuales en Altovalsol.

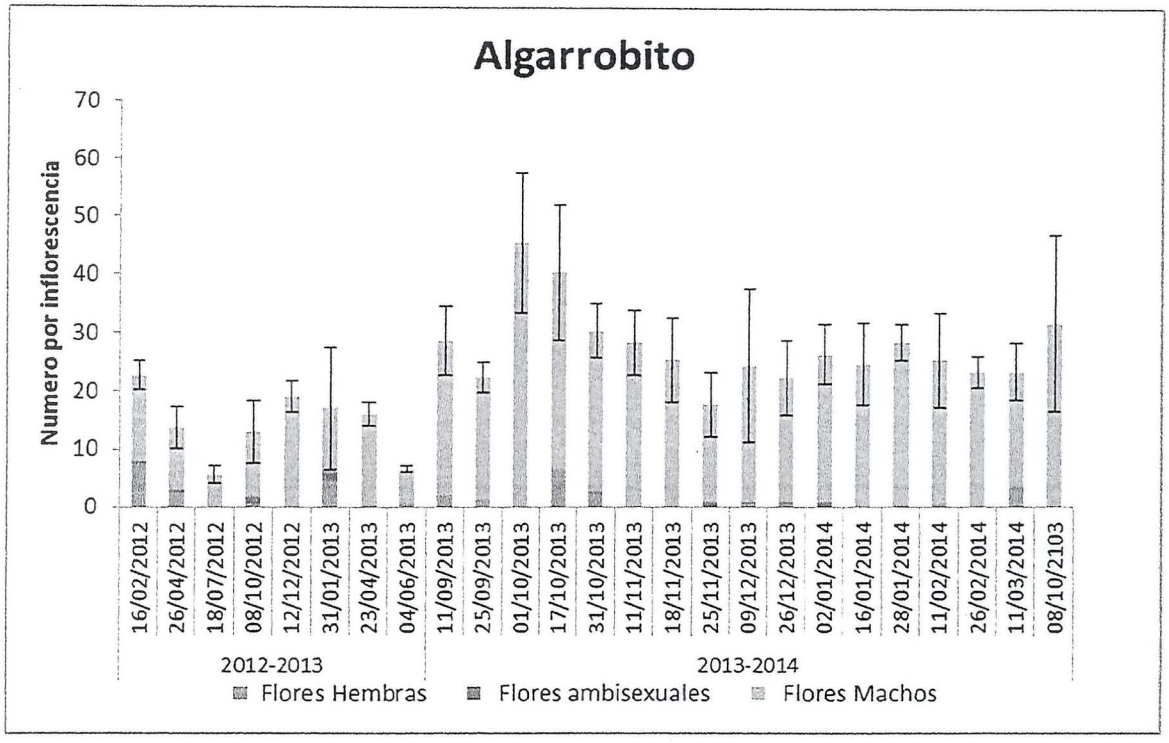


Figura 5. Variaciones estacionales en la expresión sexual de las inflorescencias de plantas ambisexuales en Algarrobito.

Cuadro 1. Porcentaje de Germinación de polen de flores masculinas, provenientes de plantas ambisexuales y machos, colectadas durante dos estaciones en dos localidades

Factores		Algarrobito	Altovalsol
		% Germinación de polen	
Estación del año	Primavera	56,08b	59,74b
	Verano	75,32a	75,42b
	Pr>F	0	0
Sexo de planta	Ambisexual	66,11a	66,89a
	Macho	64,85a	70,03a
	Pr>F	0,4845	0,1429
Estación*Sexo	Pr>F	0,063	0,15
	C.V.(%)	8,31%	7,36%

Letras distintas en la columna son significativamente diferentes de acuerdo a Test de Duncan ($P \leq 0.05$)

Cuadro 2. Porcentaje de Germinación de polen de flores masculinas, colectadas en primavera y verano en dos localidades

Factor		% Germinación
Estación	Primavera	58,09b
	Verano	75,38a
	Pr>F	0
Localidad	Algarrobito	64,85a
	Altovalsol	67,56a
	Pr>F	0,3207
Estación*Localidad	Pr>F	0,366
	C.V. (%)	7,79%

Letras distintas son significativamente diferentes de acuerdo a Test de Duncan ($P \leq 0.05$)

Agradecimientos

Las autoras agradecen a Fundación Innovación Agraria (FIA) por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto "Obtención de plantas de papayos (*V. pubescens*) con sexo definido mediante un protocolo de detección temprana del polimorfismo sexual usando herramientas biotecnológicas y caracteres morfológicos asociados e identificables por los usuarios y a través del perfeccionamiento de la propagación agámica". Código FIA PYT-2011-0060; a Lucía Martínez G. por su asistencia en el registro de datos en campo, a Cornelio Contreras S. por sus aportes en el análisis estadístico de información. A Raúl Meneses R. por sus aportes en el manuscrito.

LITERATURE CITED

Aguirre, A., M. Vallejo-Marín, E. M. Piedra-Malagón, R. Cruz-Ortega and R. Dirzo. 2009. Morphological variation in the flowers of *Jacaratia mexicana* A. DC. (Caricaceae), a subdioecious tree. Plant Biology, 11: 417–424. http://dx.doi: 10.1111/j.1438-8677.2008.00154.x

Aryal, R., R. Ming. 2013. Sex determination in flowering plants: Papaya as a model system, Plant Sci. (2013), http://dx.doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.10.018

Carrasco, B., P. Ávila, J. Pérez-Díaz, P. Muñoz, R. García, B. Lavandero, A. Zurita-Silva, J.B. Retamales, P. D. S. Caligari.2008. Genetic structure of highland papayas (Vasconcellea pubescens (Lenne´ et C. Koch) Badillo) cultivated along a geographic gradient in Chile as revealed by Inter Simple Sequence Repeats (ISSR). Genet Resour Crop Evol. DOI 10.1007/s10722-008-9367-1.

Carvhalo F.A y S. Rennes. 2012. A dated phylogeny of the papaya family (Caricaceae) reveals the crop's closest relatives and the family's biogeographic history. Molecular Phylogenetics and Evolution 65:46–53.

Gil, A. I. y D. Miranda. 2005. Morfología de la flor y de la semilla de papaya (*Carica papaya* L.): variedad Maradol e híbrido Tainung-1. Agronomía Colombiana 23(2): 217-222.

Gschwend, A. R., C. M. Wai, F. Zee, A. K. Arumuganathan, R. Ming. 2013. Genome size variation among sex types in dioecious and trioecious Caricaceae species. Euphytica 189:461–469.DOI 10.1007/s10681-012-0815-9.

Horovitz, S. and H. Jiménez .1972.The ambisexual form of *Carica pubescens* Lenné at Koch analized in interspecific crosses. Agronomía Tropical 22(5): 475-482.

Kyndt, T., E. Romeijn-Peeters, B. Van Droogenbroeck, J. P. Romero-Motochi, G. Gheysen and P. Goetghebeur.2005. Species relationships in the genus *Vasconcellea* (Caricaceae) based on molecular and morphological evidence. American journal of botany 92(6): 1033–1044.

Meza, S.D., K.Osorio G., T. Lagos B.2010. Evaluación de crecimiento, la morfología floral y el fruto de Chilacuán (*Vasconcellea cundimarcensis* B.). Revista de Ciencias Agrícolas V28(1):9-23.

Muñoz, M.1988.Nomenclatura del papayo cultivado en Chile. Agricultura Técnica 48(1):39:42.

Parés-Martínez, J., Linárez, R., Arizaleta, M., & Meléndez, L. 2004. Aspectos de la biología floral en lechosa (*Carica papaya* L.) cv.«Cartagena roja», en el estado Lara, Venezuela.Rev. Fac. Agron. (LUZ),21, 116-125.

Parés-Martínez, J., Basso, C., Jáuregui, D., & Meléndez, L. 2006. Cantidad, viabilidad y germinabilidad de los granos de polen de *Carica papaya* L. Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia, 23(2), 172-180.

Minga, R. Q. Yu, P. H. Moore. 2007. Review: Sex determination in papaya. Seminars in Cell & Developmental Biology 18: 401–408. Available online 24 November 2006.

Scheldeman, X., L. Willemen, G. Coppens d'Eeckenbrugge, E. Romeijn-Peeters, M. T. Restrepo, J. Romero Motoche, D. Jiménez, M. Lobo, C. I. Medina, C. Reyes, D. Rodríguez, J. A. Ocampo, P. Van Damme, P. Goetgebeur.2007.Distribution, diversity and environmental adaptation of highland papayas (*Vasconcellea* spp.) in tropical and subtropical America. Biodivers Conserv 2007. 16:1867–1884.DOI 10.1007/s10531-006-9086-x.

Singh, I.D. 1990. Papaya. Oxford and IBH Publishing, New Delhi. 224 pp.

Storey, WB. 1941. The botany and sex relations of the papaya. Hawaii Agr Exp. Sta Bul. 87:5–22.

Terra de Almeida, F., C.S. Marinho, E. Fernandes de Sousa and S. Grippa. 2003. Expressão sexual do mamoeiro sob diferentes lâminas de irrigação na região Norte Fluminense. Rev. Brasil. Frutic. 25:383-385.

Wu, X., J.Wang, Jong-Kuk Na, Q. Yu, R. C. Moore, F. Zee, S. C. Huber, and R. Ming. 2010. The origin of the non-recombining region of sex chromosomes in *Carica* and *Vasconcellea*. The Plant Journal 63: 801–810. doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04284.x.

Injertación en papayos: Una forma de evadir el polimorfismo sexual de las plantas.

El papayo (Vasconcellea *pubescens*) es una frutal tradicional que se encuentra preferentemente en la comuna de La Serena, región de Coquimbo, dando una identidad local.

Esta especie se caracteriza por presentar tres formas sexuales en sus plantas: planta hembra, que sólo producen flores hembras durante todo el año; planta macho que solo producen flores masculinas funcionales todo el año y; las plantas ambisexuales que tienen inflorescencias ambisexuales, es decir tiene flores hembras, flores machos en gran número y flores bisexuales, es decir tienen ambos sexos, pero generalmente producen frutos deformes.

Esto se conoce como polimorfismo sexual, y cobra relevancia dado que la producción comercial de los huertos, proviene desde las plantas hembras y ambisexuales. El número y calidad de los frutos está determinado por el sexo de las plantas. En el caso del papayo, las plantas hembras producen un fruto de mejor calidad que las plantas ambisexuales. Por ello, el agricultor prefiere dejar un mayor número de plantas hembras que plantas ambisexuales.

No hay manera de diferenciar a simple vista los sexos de las plantas sino hasta 8 a 10 meses después de plantada. Como una manera de sobrellevar esta característica del papayo, el viverista entrega una unidad constituida por 3 o 4 plantas, originadas a partir de semillas, de sexo inidentificable y, el agricultor, ralea las plantas de sexo masculino, después de plantadas en el huerto, a inicio de primavera, cuando la planta comienza su primera floración. Sin embargo, esta práctica se puede prolongar debido a que las plantas no se expresan simultáneamente, incidiendo aún más sobre los costos de manejo.

Finalmente el huerto comercial, queda conformado por un número variable de plantas hembras y ambisexuales, más aún después de la práctica de raleo en post plantación. En La Serena, Chile existen huertos con distinta composición de plantas ejemplo; un huerto de Altovalsol y Algarrobito, está conformado en una proporción de plantas hembras: plantas ambisexuales de, 6:1 y 1:1 respectivamente. No se sabe cuál puede ser la proporción ideal, pero dada las características de la fruta de planta hembra, el agricultor prefiere una mayor proporción de éstas en el huerto.

Una manera de mantener una mayor y mejor distribución de plantas en el huerto podría ser la injertación de aquellas plantas machos que se eliminan, injertando estacas provenientes de plantas productivas.

La injertación es una práctica recomendada para papayos, es así que en el manual de papayos de propagación de papayos (INIA, 1974), se propone como una técnica posible, sin embargo no es una práctica que se utilice actualmente.

En este contexto, mediante un proyecto financiado por FIA donde uno de sus objetivos fue lograr un perfeccionamiento de la propagación agámica en la especie, se realizaron pruebas de 4 tipos de injerto sobre plantas provenientes de semilla en dos temporadas.

Ensayo de Técnicas de Injertación

Plantas, originadas a partir de semillas, puestas en bolsas de 1.5 L en sustrato arena, se injertaron con púas de igual diámetro de no más de 10 cm de longitud con dos yemas, provenientes de plantas de vivero. Este ensayo se hizo en dos temporadas. Los injertos fueron: Injerto de aproximación; Injerto de Montura; Injerto de Cuña o hendidura y de Lengüeta o inglés (Foto 1).

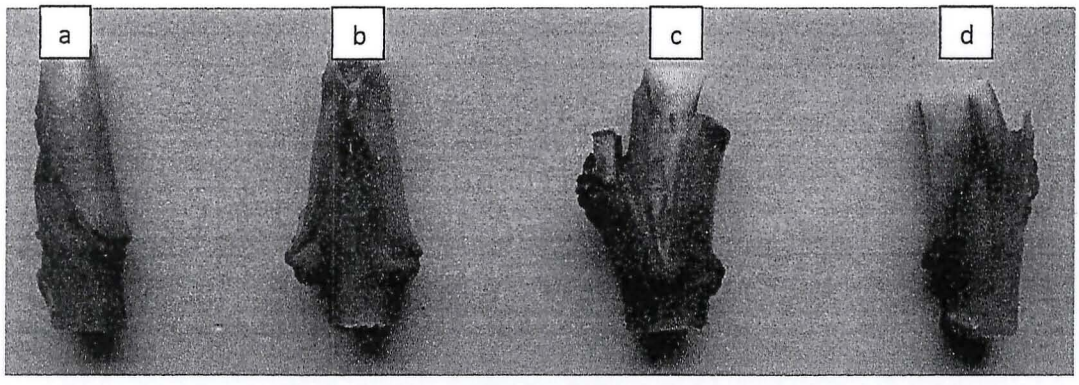


Foto 1: Injerto de aproximación (a); Injerto de Montura (b); Injerto de Cuña o hendidura (c) y de Lengüeta o inglés (d)

Las estacas en estado activo con hojas, fueron podadas dejando sólo yemas axilares y parte de las hojas activas (Foto 2).

Foto 2: Plantas injertadas y mantenidas los primeros días en invernadero.

El prendimiento, generalmente se relaciona con el sellamiento de las partes de un injerto, reflejándose en la brotación de yemas y crecimiento de estacas. Los porcentajes de prendimiento indican que el injerto de aproximación parece mejor que en los otros injertos sin embargo, no presentan diferencias estadísticas con los otros tipos de injertos. Aunque el rango de prendimiento de las repeticiones de injerto de aproximación, fue entre 83 y 100 %, indicaría que esta forma tiene mayor posibilidad de éxito que las otras. Por el contrario, el injerto de montura presenta entre 33 y 80 % de prendimiento, lo que llevado a una escala masiva de injertos, puede ser menos eficaz. En general los porcentajes son reconocidos como satisfactorios por el viverista. Los resultados de las dos temporadas de injertación se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Porcentaje de prendimiento a los tres meses de la injertación. 2011 y 2012.

Tratamientos	Rango de % prendimiento de las repeticiones	Porcentaje de prendimiento (%)	Rango de % prendimiento de las repeticiones	Porcentaje de prendimiento (%)
	2011		**2012**	
Aproximación	25-100	62.5a	83-100	91
Montura	25-75	43.7a	33-83	62
Cuña o hendidura	50-75	68.7a	66-100	83.3
Lengüeta	25-75	43.7a	66-100	79.1

El sellamiento de la zona de corte, después de 30 días de injertación, podía verse reflejado por el callo visible entre ambas partes de la unión. El grado de sellamiento fue comprobado a los tres meses de realizado el injerto a través de la observación vía microscopio de la zona de unión del injerto (Foto 3, 4, 5 y 6).

Comportamiento de plantas injertadas en campo.

La incertidumbre frente a las técnicas de injertación es, si los injertos en general especialmente aquellos de menor superficie de contacto entre partes, como el de aproximación, pueden ser más débiles frente a condiciones de campo (viento) que otro como un injerto de lengüeta o de cuña e hendidura.

Después de 6 meses de plantación, las plantas se ven bien establecidas y las zonas de injerto se encuentran bien selladas, casi invisibles y, sin malformaciones, excepto para el injerto de lengüeta como se muestra en la figura 6.

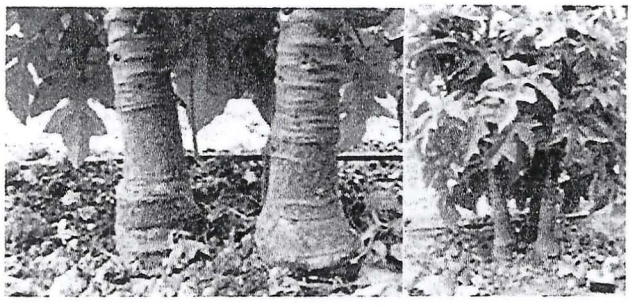


Foto 3. Injerto de aproximación.

Foto 4. Injerto de montura

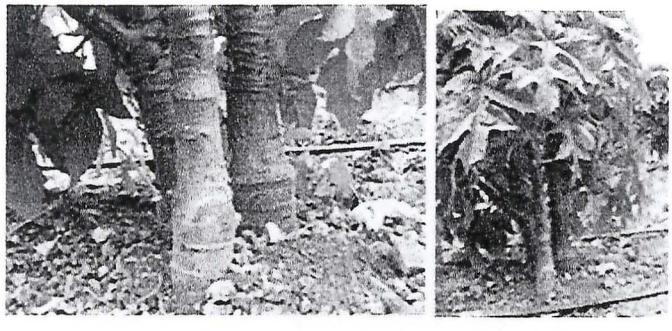


Foto 5. Injerto de cuña e hendidura

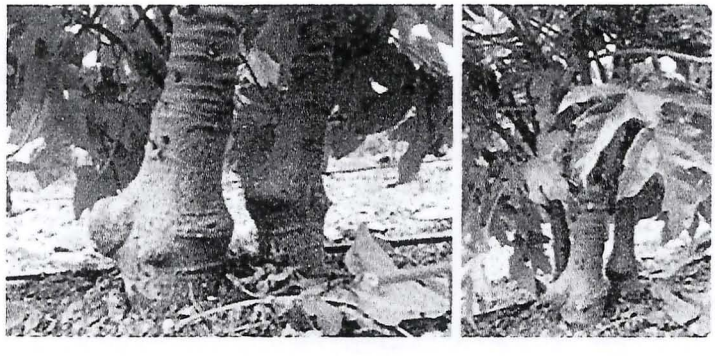


Foto 6. Injerto de lengüeta

En cuanto al crecimiento, las plantas de los distintos tratamientos de injerto, 6 meses después de plantación, presentan un patrón similar. Las plantas se muestran con un crecimiento activo, algunas comenzando floración.

Cuadro 2: Variables de crecimiento de los tratamientos de injerto, 6 meses después de plantación.

Injerto	Diámetro promedio de patrón (*)	Diámetro de injerto(*)	Altura de planta(*)	% de plantas con floración
Aproximación	62.4±4.8	48.6±4.4	88.8±4.6	41.6
Montura	61.1±4.8	44.8±4.4	83.0±4.6	53.8
Cuña e Hendidura	65.6±5.3	50.0±4.6	89.2±5.1	70.0
Lengüeta	64.3±4.8	48.5±4.4	92.0±4.6	58.0

(*)No hay diferencias significativas $p \leq 0.05$. Valores promedios ± E.S, n=12 plantas

Conclusiones y recomendaciones generales

Dado los resultados obtenidos, esta práctica de injertación podría ser recomendada para realizarse en el momento en que se ralean las plantas machos, a los 8 a 10 meses desde plantación, hacia fines de primavera, injertándolas con estacas de plantas hembras o ambisexuales seleccionadas y, que tengan similar diámetro al árbol que hará de patrón.

Agradecimientos

A Fundación de Innovación Agraria, FIA, por el financiamiento del proyecto "Obtención de plantas de papayos (*V. pubescens*) con sexo definido mediante un protocolo de detección temprana del polimorfismo sexual usando herramientas biotecnológicas y caracteres morfológicos asociados e identificables por los usuarios y a través del perfeccionamiento de la propagación agámica". Código FIA PYT-2011-0060. Al Sr. Elisio Moraga Quintana, viverista, por su aporte de plantas y a Lucía Martínez G. por su valioso trabajo en el campo.

SITUACIÓN ACTUAL DEL CULTIVO DE PAPAYOS EN LAS PRINCIPALES ZONAS DE PRODUCCIÓN de CHILE.

El papayo, *Vasconcellea pubescens* A. DC., Badillo (sinonimia *V. candamarcensis* Hook, *V.cundinamarcensis* o C. pubescens), es un frutal símbolo de la región de Coquimbo, el cual está fuertemente arraigado al turismo y gastronomía de la comuna de La Serena, dándole una identidad local propia. Además genera empleo y sustento, principalmente a pequeños y medianos empresarios del área agrícola e agroindustrial y turística, a pesar de que no es un frutal importante, en términos de superficie, como otras especies frutales de exportación de la zona.

Esta especie se encuentra bajo cultivo sólo en Chile; aunque no se cuenta con variedades, ya que el material vegetal proviene de semillas, muestra cierta homogeneidad genética entre las plantas ubicadas en las distintas zonas del país.

El papayo que se cultiva en Chile, es nativo de Sud américa y se encuentra en las zonas andinas desde Colombia a Bolivia. La introducción de esta especie se habría producido por la internación de semillas en el extremo norte antes de la llegada de los españoles. A la región de Coquimbo no se tienen antecedentes de su ingreso. En los centros de origen de las especies de Vasconcellea, ésta crece en forma silvestre y en huertos caseros. Ecuador se describe con el más alto número de especies pertenecientes al género Vasconcellea.

Dentro de Sudamérica *V. pubescens* se conoce con distintos nombres vernaculares. En Chile, papaya; en Colombia, papayuela o papaya de altura; en Ecuador, chilhuacán, chiglacón, chamburu, papaya de olor; en Bolivia huanarpu hembra, y en Perú, papaya arequipeña.

En Chile existe una única especie endémica de Vasconcellea, la que se encuentra en peligro de extinción y es conocida como palo gordo que crece en escasos sectores de la región de Coquimbo y que corresponde a *Vasconcellea chilensis* ex.A.DC.

Vaivenes de la superficie nacional plantada

Las plantaciones de papayo, en la región de Coquimbo, son cada vez más difíciles de encontrar, y curiosamente los productos de papayas son corrientes en las ferias y centros turísticos donde siempre hay una oferta de distintos tipos de mercancías, siendo un producto altamente valorado por los turistas.

Las superficies plantadas con esta especie han mostrado importantes variaciones, así, de acuerdo a la información proporcionada por los dos últimos Censos Agropecuarios, la superficie plantada en el país se redujo en un 41% entre 1997 y el 2007. Se estima que al año 2013 el cultivo del papayo tiene una superficie nacional de alrededor de 220 ha.

Cuadro 1. *Superficie productiva nacional de papayo según región y comunas más importantes en la década 1997-2007.*

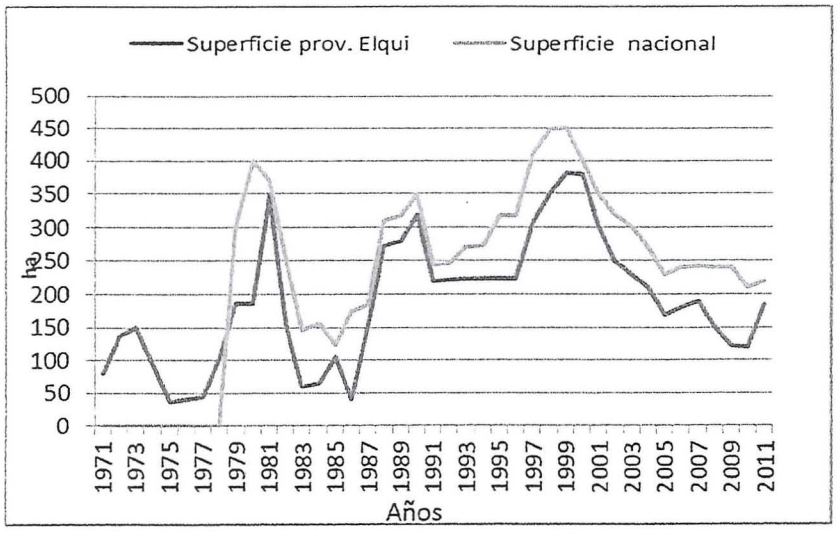
Región	Comuna (*)	Superficie (ha)		% Cambio
		1997	2007	
I	Arica	0,93	3,28	253%
	TOTAL	**0,93**	**3,28**	253%
IV	Coquimbo	89,6	25,7	-71%
	La Serena	150,8	90,2	-40%
	TOTAL	**307,8**	**190,2**	**-38%**
V	La Ligua	77,4	32,3	-58%
	TOTAL	**95,2**	**34,12**	**-64%**
VII	Pelluhue	3,1	1	-68%
	Vichuquén	1	8,6	760%
	TOTAL	**4,3**	**14,2**	**230%**
VIII	Cobquecura	2,1	1,2	-43%
	TOTAL	**2,1**	**1,2**	-43%
Total general		**410,33**	**243,0**	**-41%**

Fuente: INE 1997-2007 (*) Comuna con mayor superficie del cultivo

La distribución de las plantaciones muestra que la región de Coquimbo concentra un 70% de las plantaciones, y en específico es la comuna de La Serena, la que concentra alrededor de un 50% de la superficie plantada en el país.

A nivel nacional, en los últimos años, se ha incorporado la zona costera de la región del Maule, donde se ha visto un repunte de las plantaciones, reanimadas por el turismo, siendo la superficie aún muy baja comparada con la de comuna de La Serena.

Las variaciones en la superficie plantada han sido la constante en esta especie, así, el papayo en la provincia de Elqui, entre la década del 70 al 80 se mantuvo bajo las 185 ha siendo la menor superficie entre los años 1975 a 1977 con 40 ha. La superficie nacional del cultivo, está marcada por las variaciones que se producen principalmente en la región de Coquimbo; así en 1999, alcanzó la mayor superficie de las últimas dos décadas, con 380 ha (Figura 1).



Elaborado a partir de diversas estadísticas y publicaciones. Años 1971-1978 no se encontraron estadísticas nacionales. Entre los censos del 1999 y 2005, la superficie se infirió a partir de los volúmenes en mercado mayorista

Figura 1: Registro de la superficie nacional y de la provincia de Elqui plantadas con papayos.

Período 1970-2011

En el caso de la Región de Coquimbo, más que las fluctuaciones de superficie, el número de agricultores ha disminuido drásticamente, pasando de 78 explotaciones a sólo 28. Predominado por agricultores con superficies de alrededor de 7 ha (cuadro 2).

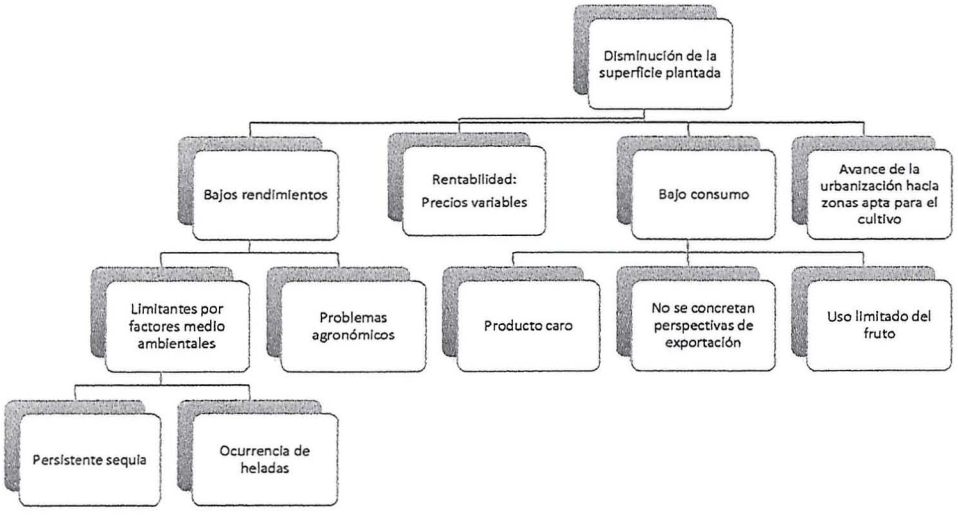
Cuadro 2. Evolución de la superficie, Nº de explotaciones y tamaño promedio de la explotación dedicada al papayo en las principales regiones de cultivo.

Año	Superficie	Nº explotaciones	Tamaño promedio (ha)	Rendimiento t/ha
Región de Coquimbo				
1992	222	78	2,84	
1999	381	51	7,47	18
2005	169	24	7,04	17
2011	183	28	6,54	16
Región de Valparaíso				
1995	88,6	15	5,9	
2002	43,7	2	21,9	25
2008	33,8	3	11,3	50

Fuente: Fuente: Catastros Frutícolas IV Región y V Región, Ciren.

Causas de la fluctuación de superficie

La fluctuación en la superficie plantada con papayos es atribuible a múltiples causas, algunas de las cuales se aprecian en el esquema siguiente:



Rendimientos. Es uno de los factores que contribuye a la pérdida de competitividad del cultivo. El rendimiento promedio en la Región de Coquimbo, ha ido descendiendo, alcanzando actualmente en promedio 16 ton /ha, lo que se explica en parte a la existencia de huertos en producción decreciente y poca renovación de ellos. Según ODEPA-CIREN durante el 2011 el 43 % (78 ha) de las plantaciones en la región de Coquimbo se encontraba en etapa decreciente y un 30 % (55 ha) en producción creciente.

La producción promedio de la Región de Valparaíso de 50 T /ha se explica por el menor número de explotaciones bajo un manejo estándar más alto, edad de huerto similares y la mayor densidad de plantas por ha (Cuadro 2).

También el rendimiento es afectado por falta de tecnologías apropiadas y/o en la innovación de prácticas agronómicas. Durante la década del 70, los rendimientos declarados eran de 21 t/ha. Lejos de lo que se indicaba en la literatura, un rendimiento potencial de 55 t /ha al quinto año promedio de la producción acumulada durante el ciclo del cultivo (7-8 años).

Es importante destacar que el papayo tiene una curva de producción que alcanza su máximo al 4-5 año para luego decrecer rápidamente. Es por esto que los agricultores, para estimar sus rentabilidades, se refieren al rendimiento acumulado más que al rendimiento anual.

En la zona de cultivo de la región Coquimbo y Valparaíso, el rendimiento de algunos huertos al quinto año de producción es de 38 t /ha, considerándose muy bueno, mientras que para lograr una buena rentabilidad se estima que el rendimiento promedio de la producción acumulada en el ciclo del cultivo debiera ser superior a 25 t/ha.

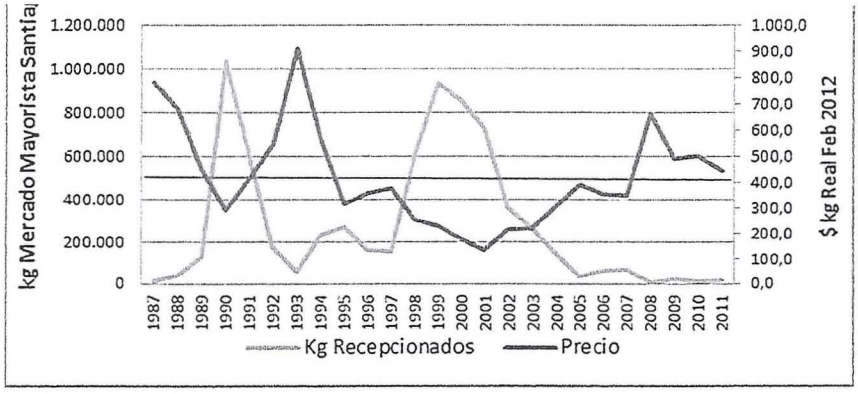


Figura 3. Variaciones de volúmenes y precios en mercado mayorista en Santiago. 1987-2011

Expectativas de consolidación de exportación, durante la década del 90 al 2000, se generaron expectativas de exportación que harían aumentar la demanda, se estimaba que de ser posible el mercado externo se requerirían alrededor de 500 ha a 25 t/ha, lo que produjo un alza en el área plantada. Siempre se ha pensado que la demanda por esta fruta no es posible aumentarla a no ser que se incluya la exportación, ya en 1975 y 1978 una empresa local estuvo exportando a Italia, luego en 1983 también se hicieron exportaciones a USA, pero no continuaron en este negocio por la escasez de materia prima (en la década del 70 se producía 700-800 t). Después en 1990, sólo

se registraron ventas aisladas a través de envíos de muestras y en 1996 se exporta a España y se envían muestras a Japón y USA. Estas iniciativas provocaron un aumento de la superficie, pero ante el fracaso de continuidad de las exportaciones, el mercado nacional se saturó provocando arranques de huertos con menores rentabilidades. En la actualidad, 2011 se exportó un volumen transado en U$ 164.804.

Eventos climáticos como las heladas y sequias son fenómenos que continuamente cada cierto período produce daños en algunos sectores provocando mermas momentáneas en la superficie como la observada en el 2008, a causa de las heladas del 2007, que se vio reflejado en los bajos volúmenes en mercados mayoristas y en la nula oferta en el verano 2007-2008. Por otra parte, la sequía actual, que afecta a la región y que es comparable a la de 1968, posiblemente provoque una merma en la producción y si continúa causará también una pérdida de la superficie.

Avance de urbanización. Esta causa es nueva, dentro de los factores del cultivo de papayos, especialmente en la provincia de Elqui. El clima favorable para el desarrollo de este frutal sub tropical es aquel presente en sectores cercanos a la costa, principalmente en los alrededores de la ciudad, como Alfalfares, San Ramón y Altovalsol, lugares que también son altamente apreciados para el desarrollo inmobiliario y de parcelas de agrado.

Falencias a nivel de investigación, apoyo estatal y transferencia de tecnologías, que por ser un frutal de menor superficie, ha sido olvidado por los distintos actores. Esta percepción no es nueva ya en los años 80 se estimaba que había cierto descuido, lo que se reflejaba en la baja de la producción. Últimamente, se han realizado investigaciones en relación a genética, enfermedades como virus, propagación *in vitro* y tecnologías de post cosecha, todas ellas entregan elementos interesantes de innovar sin embargo aún no se han adoptado por los agricultores. A pesar de algunos avances en tecnología de postcosecha, éstos no han sido incorporados dentro de los protocolos de manejo. Prácticas culturales, en la región de Coquimbo, son básicas, realizándose muchas de ellas sin muchos antecedentes validados.

Demanda. La demanda prácticamente no aumenta especialmente de la fruta fresca aunque en los últimos años se puede decir que los productos industriales ha tenido un leve aumento, generado por la incorporación de esta fruta en otros alimentos como yogurt y bebidas además de una demanda estacional dada por el turismo en las regiones de cultivo.

La papaya, es una fruta que se consume preferentemente procesada, y el precio de los productos elaborados por lo general es más alto que de otras frutas alternativas tanto fresco como procesadas, por lo tanto se considera como un producto suntuario, que antes cualquier crisis económica, la demanda baja y por ende los precios de la fruta ofertada, llevando a los agricultores de menores recursos a tomar decisiones de disminuir o arrancar los huertos. Mientras que aquellos que se manejan dentro de la cadena productiva, es decir producen y procesan tienen mayores elementos conque contrarrestar los tiempos malos.

La producción regional actual genera materia prima destinada al sector agroindustrial, conformado por medianas a pequeñas industrias, así como a una cadena de microempresarios formales e informales que abastecen de productos preparados de papayas.

Cuadro 3. Antecedentes de agroindustrias en la región de Coquimbo y Valparaíso.

Tamaño Agroindustrias	Superficie procesada (ha)	Total procesado anual (ton/año)	Abastecimiento	mercado	Principales productos con potencial
micro	10	192	Terceros	Turistas	tradicionales
pequeña	35	700	Propia	Turistas, Santiago supermercados	Néctar y jugo
mediana	99	2200	Propia	Supermercados o terceros Fresco a supermercados	Productos gourmet Helados, jugos naturales y bebidas
Grandes	45	900	terceros	Supermercados	jugo

Sistemas productivos de papayos. Este cultivo tiene una producción inestable y de calidad variable. Esto está dado por las características productivas propias de plantas de semillas, por el polimorfismo sexual de ellas, que otorga una variabilidad riesgosa en la producción, por condiciones adversas de algunos sectores agroecológicos y el manejo agronómico actualmente utilizado.

Comentarios finales

La vulnerabilidad del cultivo se puede asociar al conjunto de las causas mencionadas anteriormente. Todo esto impide el aprovechamiento de nuevas oportunidades como el crecimiento en la demanda de los productos gourmet; aumento del mercado turístico que da un respaldo al desarrollo de esta industria; apertura de nuevos mercados, externos e internos, que buscan productos diferentes, más saludables y consumidores dispuestos a pagar un mayor precio por ellos. De poder revertir algunas de las causas de la disminución de la superficie se podría contribuir a fortalecer una identidad territorial, específicamente de la ciudad de La Serena, con este fruto considerado por el turismo, como un símbolo de la región.

Agradecimientos

A FIA por el financiamiento del proyecto "Obtención de plantas de papayos (*V. pubescens*) con sexo definido mediante un protocolo de detección temprana del polimorfismo sexual usando herramientas biotecnológicas y caracteres morfológicos asociados e identificables por los usuarios y a través del perfeccionamiento de la propagación agámica". Código FIA PYT-2011-0060.