

Caracterización morfológica e isoenzimática de nuevos híbridos de papaya

Morphological characterization and isoenzymatic of new hybrid of papaya

Elianet Ruiz Díaz, Maximiliano Wilfredo Caballero Alvares, María Isabel Román Gutiérrez, Sergio J. Rodríguez Morales, Mercedes Fernández Rivas y Euniel Jiménez Toledo.

Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, Villa Clara, CP. 53000, Cuba.

E-mail: eruiz@inivit.cu

RESUMEN. En el presente trabajo se realiza una caracterización morfológica e isoenzimática de cinco híbridos de papaya obtenidos a partir de variedades comerciales producto de un trabajo de mejoramiento genético llevado a cabo en el Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales con el objetivo de obtener híbridos que diversifiquen el mercado tanto para el consumo fresco como para la industria. Se realizaron diferentes evaluaciones como fueron altura de la planta (cm), perímetro de la base (cm), perímetro a los 50 cm de altura de la planta, número de hojas activas y cuajado del fruto en diferentes estadíos de la plantación, los datos fueron procesados estadísticamente mediante un análisis de varianza de clasificación simple y la comparación múltiple de medias según Tukey, lo cual nos demostró que el híbrido 4 reveló los mejores resultados en los parámetros evaluados y el análisis isoenzimático nos permitió diferenciar genéticamente a los híbridos de sus progenitores.

Palabrac clave: *Carica papaya*, híbridos, mejoramiento genético.

ABSTRACT. In this paper, a morphological and isoenzymathic characterization of five papaya hybrids obtained from commercial varieties was carried out.. A genetic breeding program was developed at the Research Institute of tropical root and tuber crops in order to obtain hybrids for marketing diversification as fresh consumption or as industrial raw material. Evaluations were performed on plant height (cm), base girth (cm), girth at 50 cm plant height, number of active leaves and fruit set at different planting stages. Data were statistically processed through variance analysis of simple classification and mean multiple comparisons according to Tukey, which showed the best results in the evaluated parameters for hybrid 4 and the progenitor hybrids were genetically differentiated according to the isoenzymathic analysis.

Keywords: *Carica papaya*, hybrids, plant breeding

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la papaya (*Carica papaya* L.) es de gran importancia por su comercialización en el ámbito mundial, siendo una planta de importancia excepcional en los trópicos, por su alto rendimiento y valor nutritivo, y por ser uno de los pocos frutales de producción continua durante todo el año. De él se extrae la papayina que es empleada en la producción de medicamentos, además nuestra población aprecia altamente sus frutos, a los que le da diversos usos. (Mederos, 1991)

La producción media en estos años está estimada en 16 millones de toneladas, siendo México el mayor exportador del mundo, seguido de Brasil y Estados Unidos y aumentando el número de países productores a más de 50. La demanda en el mercado mundial se ha incrementado con un ritmo ascendente, los mayores

importadores son: Estados Unidos, Unión Europea, Japón y Canadá. (FAO, 2005)

Hoy, el cultivar 'Maradol' es la principal variedad comercial cubana pero la susceptibilidad a plagas y enfermedades en este cultivo está sujeto a serios riesgos (Rodríguez y Rodríguez, 2000). Para ello, la solución de este problema es recurrir a la ampliación de la base genética del papayo a través de programas de mejoramiento utilizando hibridaciones (Pereira *et al.*, 2002). Por estas razones, el presente trabajo tuvo como objetivo obtener híbridos que diversifiquen el mercado tanto para el consumo fresco como para la industria lo que puede constituir una opción para satisfacer la demanda de los consumidores del cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el período comprendido entre mayo 2008 - febrero 2009, en áreas del Instituto de Investigaciones en Viandas Tropicales (INIVIT), ubicado en el municipio de Santo Domingo, Provincia de Villa Clara, sobre un suelo Pardo mullido medianamente lavado, según la clasificación genética de los suelos de Cuba. (Hernández *et al.*, 2005)

El material vegetal empleado en este estudio fueron cinco híbridos obtenidos por métodos tradicionales de mejoramiento (H-1, H-2, H-3, H-4 y H-5). El diseño empleado fue un bloque al azar con tres réplicas de 20 plantas por parcela, La distancia de siembra empleada fue de 3, 6 x 1,5 m. La plantación fue semiprotegida con barreras naturales de plantas de maíz (*Zea mays* L.)

A los 45 días se evaluaron los siguientes caracteres: altura de la planta (cm), perímetro de la base (cm), altura de la primera floración (cm) y número de hojas.

A los 90 días se evaluó: la altura de la planta (cm), perímetro de la base (cm), perímetro de la base a los 50 cm (cm), número de hojas, cuajado del fruto, distancia entre nudos (cm), largo del limbo (cm) y ancho del limbo (cm).

A los seis meses se valoró la altura de la planta (cm), perímetro de la base (cm), perímetro de la base a los 50 cm, número de hojas.

Los datos se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza de clasificación simple y la comparación múltiple de medias según Tukey. (Lerch, 1977)

Para la caracterización isoenzimática el material empleado fueron los híbridos obtenidos y sus progenitores. (Tabla 1)

Los extractos se obtuvieron a partir de un gramo de hojas de cada material macerados con 10 gotas de sacarosa al 20% y fueron conservados a -15 °C hasta su utilización.

Tabla 1. Material genético empleado para la caracterización isoenzimática

Variedades e híbridos	Nomenclatura
Naran	1
Nika-3	2
Criolla	3
Maradol amarilla	4
Maradol roja	5
Híbrido 1	6
Híbrido 2	7
Híbrido 3	8
Híbrido 4	9
Híbrido 5	10

Las corridas electroforéticas se realizaron el gel de poliacrilamida (PAGE) al 10%, utilizando una cámara de corrida en lámina vertical y sistema de tampones discontinuos de Tris-glicina 0.04M pH 8.3, con una intensidad de corriente de 50 mA.

Para cada sistema se aplicaron las tinciones específicas: Peroxidasas, Iglesias (1986); Polifenoloxidasas, Guedes y Rodríguez (1974); Esterasas González y González (1981); Anhidrasa carbónica Brewer y Singh (1971).

Se realizó el análisis cuantitativo de los zimogramas donde se determinó el total de bandas, el número de bandas comunes y el porcentaje de polimorfismo para cada sistema isoenzimático analizado.

Se aplicó el programa estadístico MAT-GEN para determinar los patrones de bandas de las isoenzimas para las variedades e híbridos estudiados según Sigarroa y Cornide (1995).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los caracteres morfológicos de los nuevos híbridos a los 45 días de sembrados (tabla 2), mostraron que no hubo diferencias significativas para los caracteres altura de la planta y perímetro del tallo en ellos. La altura de la primera flor presentó diferencia significativa, oscilando entre 64,40 cm-49,12 cm, correspondiendo el valor más alto al H-4 y perteneciendo el valor mas bajo al H-5, característica esta considerada muy positiva, ya que con ello se facilita la recolección y se disminuyen los costos de la mano de obra. Asimismo, la reducción de la altura de inserción de la primera flor en la papaya, es de gran importancia económica porque permite una mayor longevidad de la cosecha,

lo que unido a una fructificación precoz y vigorosidad de la planta, resultan caracteres de interés dentro de las perspectivas del mejoramiento de la papaya (Marin *et al*; 2006b). La comparación referida al número de hojas en este ciclo refleja que existe diferencia significativa entre los híbridos estudiados siendo el H-4 significativamente superior

al resto. De acuerdo con Storey (1969) y Mahouachi *et al*; (2005), el número de hojas producidas por año, servirá de base a la hora de seleccionar los cultivares que tienen mejor crecimiento vegetativo y a su vez, es un indicador claro de la productividad, al considerar que en la axila de cada hoja se forma al menos un fruto.

Tabla 2. Caracterización de los híbridos evaluados a los 45 días

Híbridos	Altura (cm)	Perímetro (cm)	Altura de la 1ra flor (cm)	N. de hojas
H-1	74,37 a	11,87 a	60,62 ab	13,25 ab
H-2	65,62 a	11,25 a	52,80 bc	13,78 ab
H-3	77,83 a	13,25 a	51,81 bc	10,32 b
H-4	72,80 a	10,40 a	64,40 a	15,80 a
H-5	57,50 a	12,25 a	49,12 c	12,12 ab
ES ±	4,48 NS	0,87 NS	2,32**	0,91**
CV (%)	17,63	19,38	11,20	18,65

Medias seguidas de una misma letra no difieren entre sí por la prueba de Tukey (p ≤ 0,05)

Las características morfológicas evaluadas a los 90 días en los híbridos se muestran en la tabla 3, donde se aprecia que en cuanto a la altura de la planta el híbrido H-1 alcanza el valor más alto (173,75 cm), significativamente superior al resto de los híbridos evaluados siendo el H-5 el que muestra el valor mas bajo (106,50 cm), característica esta importante según criterios de selección para el mejoramiento (Alonso *et al*. 2008). El carácter perímetro de la base del tallo, los híbridos H-3 y H-4 muestran los

valores más altos sin diferencias estadísticas entre ellos. Según lo señalado por Rodríguez y Rosell (2005), este parámetro indica, en cierto modo, el vigor de las plantas (> diámetro > vigor), el cual es considerado como un valor positivo a la hora de selección. Otro carácter evaluado fue el perímetro del tallo a los 50 cm, alcanzando el valor más alto el híbrido H-3 con 13,42 cm sin diferencias significativa con los híbridos H-4 y H-5 con 11,75 cm y 12,00 cm respectivamente.

Tabla 3. Caracterización de los híbridos evaluados a los 90 días

Híbridos	Altura de la planta (cm)	Perímetro de base (cm)	Perímetro a los 50 cm	N. de hojas	Cuajado del fruto	Distancia entre nudos (cm)	Largo del limbo (cm)	Ancho del limbo (cm)
H-1	173,75 a	12,85 b	9,65 c	10,80 bc	3,0 b	6,60 a	86,3 a	4,41 a
H-2	119,50 bc	14,37 ab	11,3 b	14,16 a	5,5 a	6,59 a	85,3 a	4,22 a
H-3	111,00 bc	15,23 a	13,2 a	13,24 a	5,4 a	6,19 a	74,7 b	4,18 a
H-4	127,00 b	15,25 a	11,75 ab	11,51 b	3,2 b	5,40 b	66,0 b	4,07 a
H-5	106,50 c	15,00 ab	12,00ab	9,51 c	2,5 b	6,35 a	68,75 b	3,17 b
ES ±	4,12 **	0,53*	0,36**	0,30*	0,35*	0,15**	1,91**	0,07**
CV (%)	8,9	7,34	6,22	5,14	13,31	6,7	6,84	4,13

Medias seguidas de una misma letra no difieren entre sí por la prueba de Tukey (p ≤ 0,05)

Al evaluar el número de hojas se observa que los híbridos H-2 y H-3 obtienen la mayor producción de estas, característica muy importante ya que está directamente relacionada con la productividad, al igual que el carácter cuajado del fruto coincidiendo estos dos híbridos con los de mayores valores con 5,5 y 5,4 respectivamente sin diferencias estadísticas entre ellos.

los híbridos H-1, H-2, H-3 y H-4 difieren significativamente del H-4 que alcanza el menor valor, aspecto negativo pues mayor cantidad de nudos indica mayor producción.

Por otra parte, de la observación de la tabla 3 se deduce que para el carácter distancia entre nudos,

En cuanto al carácter largo del limbo de la hoja se observa que los híbridos H-1 y H-2 alcanzan los valores más altos con 86,3 cm y 85,3 cm respectivamente, coincidiendo estos híbridos con los que más aportan a la media general del experimento

en el carácter ancho del limbo, caracteres estos estrechamente relacionados con el desarrollo vegetativo de la planta, aspecto positivo que evita que los frutos estén expuestos directamente al sol.

De la observación de la tabla 4 donde se muestran las características de las plantas de los híbridos evaluados a los 6 meses de edad, se deduce en cuanto al carácter altura de la planta que el H-2 alcanza el menor tamaño, aspecto muy importante para el mejoramiento, según Pereira *et al.* (2002), la productividad del cultivo es directamente influenciada por la altura de las plantas. Resulta que plantas muy altas son indeseables, por presentar generalmente, entrenudos de mayor longitud, frutos más distanciados y a su vez, se dificulta la recolección de los mismos.

Por otra parte, al evaluar el perímetro de la base del tallo en este estadio de la plantación, el H-4 fue el que más aportó a la media general del experimento con 41,85 cm sin diferencia significativa con los híbridos H-2 y H-3, aspecto importante para los criterios de selección, al igual que el carácter perímetro del tallo a los 50 cm, en el cual el H-4 presenta el mayor vigor significativamente superior al resto de los híbridos evaluados.

Para el carácter número de hojas se observa que hubo diferencias significativas en los híbridos evaluados. En el caso del H-4 alcanzó el mayor valor, característica importante por su relación directa con la productividad del cultivo.

Tabla 4. Caracterización de los híbridos evaluados a los 6 meses

Híbridos	Altura (cm)	Perímetro de la base (cm)	Perímetro a los 50 cm	N. de hojas
H-1	226,42 a	14,57 b	11,64 c	9,0 d
H-2	103,85 c	34,42 a	26,57 b	13,14 c
H-3	150,20 b	33,60 a	25,00 b	11,2 b
H-4	161,00 b	41,85 a	34,42 a	27,0 a
H-5	129,75 bc	15,62 b	12,87 c	5,5 e
ES ±	7,7*	1,89**	0,76*	0,53**
CV (%)	12,26	16,85	7,38	8,39

Medias seguidas de una misma letra no difieren entre sí por la prueba de Tukey (p ≤),05)

Los resultados del zimograma para el sistema isoenzimático peroxidasa se muestran en la figura 1, donde se presenta un total de cinco bandas, de ellas dos son monomórficas, lo que permite observar cuatro zimotipos uno propio para la variedad Nika-3 con cuatro bandas, otro que se corresponde de las variedades Naran y el híbrido H1 también con cuatro bandas, otro zimotipo que presenta todas las bandas del sistema, están incluidos las variedades Criolla, Maradol amarilla, Maradol roja y el híbrido H2 y en el cuarto zimotipo aparecen los híbridos H1, H3, H5 con tres bandas.

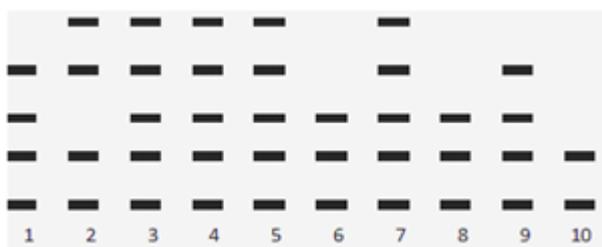


Figura 1. Zimograma de Peroxidasas para las variedades e híbridos. 1-Naran, 2- Nika-3, 3- Criolla, 4- Maradol amarilla, 5- Maradol roja, 6- Híbrido1, 7- Híbrido2, 8- Híbrido3, 9- Híbrido4, 10- Híbrido5

En el sistema isoenzimático polifenoloxidasas aparecen seis bandas (figura 2) y dos de ellas son monomórficas con tres zimotipos diferentes, uno con cinco bandas se encuentra la variedad Naran de forma independiente, al igual que la variedad Nika-3 pero con tres bandas, con cuatro bandas se encuentran agrupados las variedades Criolla, Maradol amarilla, Maradol roja con todos los híbridos analizados (H1, H2, H3, H4, H5).

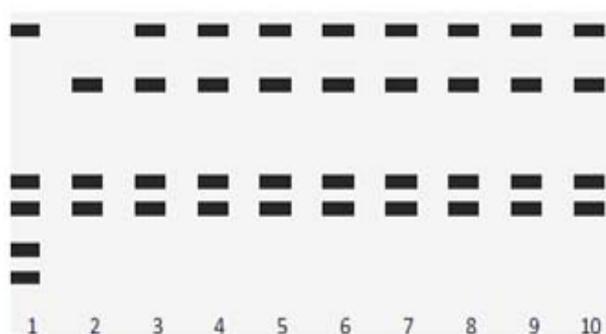


Figura 2. Zimograma de Polifenoloxidasas para las variedades e híbridos. 1-Naran, 2- Nika-3, 3- Criolla, 4- Maradol amarilla, 5- Maradol roja, 6- Híbrido1, 7- Híbrido2, 8- Híbrido3, 9- Híbrido4, 10- Híbrido5

Para las isoenzimas esterasas se observan siete bandas (figura 3) y dos de ellas son monomórficas, con las siete bandas del sistema se encuentran la variedad Nika-3, otro de los zimotipos con seis bandas aparecen la variedad Naran y el híbrido H4, con seis bandas también ubicadas en diferente posición se encuentra independiente el híbrido H1, otro de los zimotipos con cinco bandas se encuentran ubicados de forma independiente las variedad Criolla, también con cinco bandas están agrupadas las variedades Maradol amarilla, y los híbridos H2, H3, y H5 y con un patrón de cuatro bandas esta ubicada de forma independiente la variedad Maradol roja.

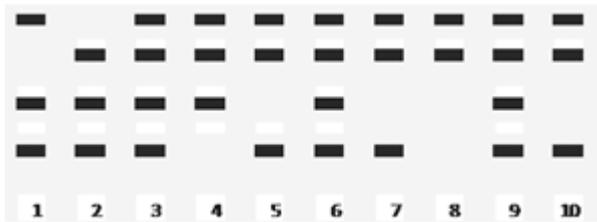


Figura 3. Zimograma de Esterasas para las variedades e híbridos. 1-Naran, 2- Nika-3, 3- Criolla, 4- Maradol amarilla, 5- Maradol roja, 6- Híbrido1, 7- Híbrido2, 8- Híbrido3, 9- Híbrido4, 10- Híbrido5

Estos sistemas isoenzimáticos son empleados en la caracterización especies vegetales en cuanto al número de isoformas que se presentan por ser altamente polimórficos y aportar resultados muy valiosos en dicha caracterización.

En el sistema isoenzimático anhidrasa carbónica (figura 4), se observan seis bandas y todas son polimórficas, donde se forman ocho zimotipos y cinco mantienen independientes a dos variedades (Naran y Nika-3) y tres híbridos (H3, H4, H5), en los tres zimotipos restantes están agrupados las variedades Criolla y el híbrido H1, Maradol amarilla, la variedad Maradol roja y el híbrido H2.

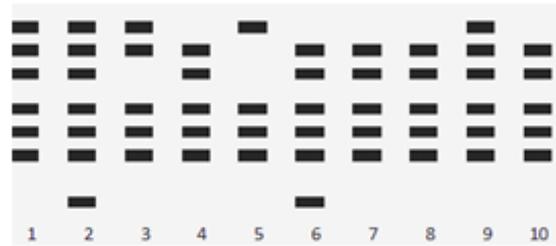


Figura 4. Zimograma de Anhidrasa carbónica para las variedades e híbridos. 1-Naran, 2- Nika-3, 3- Criolla, 4- Maradol amarilla, 5- Maradol roja, 6- Híbrido1, 7- Híbrido2, 8- Híbrido3, 9- Híbrido4, 10- Híbrido5

El análisis cuantitativo de los zimogramas de los cuatro sistemas isoenzimáticos empleados en la caracterización de las variedades y los híbridos se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5 Análisis cuantitativo de los zimogramas para las variedades e híbridos estudiados

Sistemas isoenzimáticos	Total de bandas	Total de bandas comunes	% de polimorfismo
Peroxidasas	5	2	60.0
Polifenoloxidasas	6	2	66.6
Esterasas	7	2	71.4
Anhidrasa carbónica	6	0	100
Total	24	6	75.0

Se aprecia un alto polimorfismo ya que de 24 bandas analizadas el 75% son polimórficas representados en los sistemas isoenzimáticos: anhidrasa carbónica y esterasas. Estos resultados nos indican que estas variedades e híbridos son cultivares con características propias que los identifican como variedades diferentes a pesar de que existen variedades e híbridos que comparten bandas comunes en algún sistema.

La tabla 6 (página XX) muestra los patrones electroforéticos para cada sistema isoenzimático al aplicar el paquete de programas MAT-GEN.

Mediante los sistemas isoenzimáticos analizados se logró diferenciar a todas las variedades e híbridos por lo que estos pueden ser considerados como variedades no duplicadas debido a que todas presentan patrones de bandas propios que los identifican como materiales diferentes, a pesar de que en algunos sistemas comparten zimotipos iguales para algunos de los sistemas analizados, como es el caso de la variedad Criolla con las variedades Maradol amarilla, Maradol roja y el híbrido H2, para los sistemas peroxidasas y polifenoloxidasas, entre la variedad Criolla y el híbrido H1 para los sistemas polifenoloxidasas y anhidrasa carbónica, así como

entre la variedad Naran y el Híbrido H4 para los sistemas peroxidasa y esterasa. Este resultado está relacionado con las afinidades genéticas de estas variedades y los híbridos obtenidos.

Tabla 6. Relación de patrones electroforéticos obtenidos en los sistemas isoenzimáticos analizados mediante el programa MAT-GEN para las variedades e híbridos estudiados

Peroxidasas		Polifenoloxidasas	
Patrón	Variedades e híbridos	Patrón	Variedades e híbridos
01111	Naran, H4	101111	Naran
11011	Nika-3	011100	Nika-3
11111	Criolla, Ma, Mr, H2, H6	111100	Criolla, Ma, Mr, H1, H2, H3, H4, H5
00111	H1, H3, H5		
Esterasas		Anhidrasa carbónica	
Patrón	Variedades e híbridos	Patrón	Variedades e híbridos
1111110	Naran, H4	111011	Naran
1111111	Nika-3	110111	Nika-3
1101110	Criolla	001111	Criolla, H1
0111110	Ma, H2, H3, H5	111110	Ma
1001110	Mr	111101	Mr, H2
0111111	H1	111100	H3
1110110		111111	H4
		101101	H5

CONCLUSIONES

1. La caracterización morfológica nos permitió diferenciar los híbridos evaluados. El híbrido H-4 mostró características positivas para criterios de selección.
2. Los cuatro sistemas isoenzimáticos empleados mostraron un alto polimorfismo para el material vegetal analizado, lo que evidenció diversidad genética entre las variedades e híbridos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso M., Tornet Y., Ramos R., Farrés E., Castro J., Rodríguez M.C. Evaluación de tres cultivares de papaya del Grupo Solo basada en caracteres de crecimiento y productividad. *Cultivos Tropicales* 29(2):59-64. 2008.
2. Brewer, G. J.; C. F. Singh. *Introduction to isozyme techniques*. Acad. Press. New York, p. 186. 1971.
3. Dantas J.L.L., Pinto R.M.S., Lima J.F., Ferreira F.R. Catálogo de germoplasma de mamão (*Carica papaya* Linn). Embrapa Mandioca e futeicultura, Cruz das Almas, BA, Brasil. 40 p (Em). 2000.
4. FAO. 2005. Estadísticas Agrícolas Mundiales. Disponible: <http://www.fao.org/> Febrero 10 de 2009.
5. González, C. T.; J. A. González. Estudio de patrones para la *Lima persa* III. Caracterización isoenzimática. *Cienc-Téc. Agric.* 4(2):102-108. 1981.
6. Guedes, M.; C. I. Rodríguez. Disc electrophoretic pattern of phenoloxidase from leaves of coffee cultivars. *Sep. De Portugal. Acta Biologica. Serie A, Vol XIII: 169-177.* 1974.
7. Hernández A., Ascanio, M.O., Morales D.M., Cabrera, R.A. Correlación de la nueva versión de clasificación genética de los suelos de Cuba con las clasificaciones internacionales y nacionales: una herramienta útil para la investigación, docencia y producción agropecuaria. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INCA) revisado en <http://www.rutas.ucf.edu.cu>. 2005.
8. Iglesias, L. Estudio de la variabilidad morfoagronómica y bioquímica en soya (*Glycine max* L. *Merril*). Tesis de Doctorado, p. 185. 1986.
9. Lerch G. La experimentación en las ciencias biológicas y agrícolas. La Habana. Ed Científico técnica, pp 327. 1977.
10. Mahouachi J., Pio A., Socorro R.A., Regalado C., Rodríguez M.C. Respuestas de la papaya (*Carica papaya* L.) frente al estrés hídrico: crecimiento vegetativo y contenido de elementos minerales. *Actas Portuguesas de Horticultura* 6:193- 199. 2005.
11. Marin S.L.D., Pereira M.G., Amaral Junior A.T., Martelleto L.A., Ide C.D. Partial diallel to travel evaluate the combining ability for economically important trait of papaya. *Sci. Agric.* 63(6):540-546. 2006.

12. Mederos, E. Fruticultura. Editorial Pueblo y Educación. La habana. Cuba. P 94 – 121. 1991

13. Pereira G.M., Marin L.S.D., Martelleto P.L.A., Ide D.C., Martins P.S., Pereira S.T.N. Melhoramento genético do mamoeiro (*Carica papaya* L.): Comportamento de híbridos no norte do Estado do Rio de Janeiro. In: XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura: Tecnologia, Competitividade, Sustentabilidade, 22 a 26 de nov/2002, Sta Catarina, Brasil. 2002.

14. Rodríguez Nodals, A.; Rodríguez Manzano, A. 2000. El papayo Maradol: Un aporte cubano a la fruticultura tropical. Revista Cubana de Agricultura. Vol. 1, N°. 1, 2000. Pp. 73-77.

15. Rodríguez M.C., Rosell P. Productividad y características fenológicas de los cultivares de papaya Sunrise y Baixinho de Santa Amalia en invernadero de malla en la zona suroeste de la isla de Tenerife. Actas Portuguesas de Horticultura 6:245-249. 2005.

16. Sigarroa, A.; M. T. Cornide .Manual MAT-GEN. Manual del usuario. Folleto, Facultad de Biología, p.37. 1995.

17. Storey B.W. Papaya, pp. 389-407. In: F.D. Ferwerda and F. Wit (eds), Outlines of perennial crop breeding in the tropics. Misc. Papers 4, Landbouwhogeschool, Wageningen. The Netherlands. 1969.

Recibido: 09/11/2011

Aceptado: 15/02/2012