



UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA
"Fructuoso Rodríguez Pérez"



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas

Caracterización del papayo silvestre (*Carica papaya* L.) en la cuenca Almendares-Vento.

Autor: Ing. Jesús Rodríguez Cabello MSc.

Mayabeque, 2017





UNIVERSIDAD AGRARIA DE LA HABANA
"Fructuoso Rodríguez Pérez"



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas

Caracterización del papayo silvestre (*Carica papaya* L.) en la cuenca Almendares-Vento

Autor: Ing. Jesús Rodríguez Cabello MSc.

Tutores: Dra.C. María Esther González Vega

Dr.C. Pedro Rodríguez Hernández

Asesores: Dr.C. Guillermo Gálvez Rodríguez

Dr.C. Alejandro Casas Fernández

Mayabeque, 2017

“Hemos iniciado apenas el estudio sistemático de los recursos vegetales del mundo y descubierto enormes reservas intactas, desconocidas para los mejoradores científicos anteriores. Hay una tremenda fuente potencial de especies y variedades que exige una investigación minuciosa en que se empleen todos los métodos más modernos...”

Nikolai I. Vavilov

*A mis preciados tesoros
por darme fuerzas para alcanzar mis objetivos
Claudia, Camila, Lionel y Aymara*

Agradecimientos

Muchas personas contribuyeron a la culminación de este documento. Hoy llegó el momento de pasar la página y cerrar el capítulo, no sin antes agradecerles a todos los que me apoyaron durante tanto tiempo, cada quien a su forma y posibilidades pero que valoro y agradezco sinceramente.

Primero, el agradecimiento más profundo y sentido a mi familia, especialmente a Aymara y a los niños por su apoyo, colaboración e inspiración a lo largo de este trayecto.

A mis directores de tesis por decir “Sí” cuando los necesité: Dra.C. María Esther González Vega, por guiar mis ideas, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigador. Al Dr.C. Pedro Rodríguez Hernández, Dr.C. Guillermo Gálvez Rodríguez y Dr.C. Alejandro Casas Fernández, por confiar en mí, por todo el apoyo y sabios consejos brindados. Gracias

A mis amigos de Murcia, especialmente al Dr. Pedro Martínez Gómez por acogerme en el Departamento de Marcadores Moleculares del CEBAS. Por su atención y colaboración desinteresada que me permitió realizar los estudios moleculares y siempre estar dispuesto a colaborar. Muchas gracias por permitirme vivir una experiencia tan importante para mi formación como investigador. A Rubén y Acen por su amistad, por poder contar siempre con ustedes y sentirme parte de la familia. A la Dr. Daymi Camejo por sus consejos y apoyo incondicional.

Le agradezco inmensamente a Pucho, que fue mi mano derecha en la investigación de campo. A Caridad, su esposa, por su amabilidad y atenciones.

A la Dra.C. Ramona Oviedo y Dra.C. Iralis Ventosa de Ecología y Sistemática por su colaboración en las expediciones y por toda la información y apoyo brindado. A los compañeros del área protegida Escaleras de Jaruco y a los campesinos de la CCSF Orlando Cuellar por toda la colaboración en la investigación de campo.

Al colectivo de investigadores, especialistas, técnicos y trabajadores del departamento de Fisiología por su preocupación, apoyo y ánimo. Especialmente a Yusnier, Dell'Amico, Jerez, Donaldo, Humberto, Yeni, Daymí y Yoyi.

A los investigadores y amigos del INCA que se preocuparon y apoyaron; especialmente al Dr.C. Mario Varela por su enseñanza y siempre disposición en los análisis estadísticos; Ma. Margarita, Franko, Marta Álvarez, Marilyn, Leyva, Blanca, Soto y Castillo. Sus criterios y sugerencias se ven reflejados en los resultados presentados. También, a Alexis Lamz, Luís Roberto, Corbera, José Luís, Zoilo, Salomón, Alberto Hernández y Pepe.

Mi agradecimiento al maravilloso colectivo de profesores de la facultad de Biología por toda su atención y colaboración: Dr.C. Vicente Berovides, Dr.C. Eduardo Ortega, Dra.C. Marlyn Valdés y Dra.C. María Isabel, con ustedes siempre se puede contar, gracias.

A los investigadores y amigos del INIFAT: Dr.C. Adolfo Rodríguez, Dr.C. Noel Arosarena, Dra.C. Lianne Fernández, Dra C. Amelia Capote e Ing. Pedro Luis la Fe, por la colaboración, consejos, ánimo.

Le agradezco infinitamente a mis amigas de la UNAH: Dra.C. Daymara Rodríguez, Dra.C. Mayra Artiaga y Dra.C. Miriam Isidró, siempre dispuestas a colaborar.

Mi agradecimiento a la Dra.C. Juliette Valdés-Infante por sus sugerencias, preocupación y consejos, que fueron de alto valor para la confección de la tesis.

Al Dr.C Benedicto Martínez, por su preocupación y sugerencias.

A mis amigos de Madrid: Lic. Anakarelia y Dr. Fernando por preocuparse y ocuparse. Por poder contar siempre con ustedes.

A la dirección y miembros del Concejo Científico del INCA por todo el apoyo y facilidades.

A todos los que a través de discusiones de carácter científico, me obligaron a profundizar en el tema. Espero que en el futuro la vida nos de otras oportunidades de compartir impresiones.

Gracias a todos

Citación correcta Norma ISO 690

Según Sistema de Referencia Numérico

1. Rodríguez-Cabello, J. Caracterización del papayo silvestre (*Carica papaya* L.) en la cuenca Almendares-Vento. [Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas] Mayabeque: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, 2017. 100 p.

Según Sistema de Referencia Apellido, año

Rodríguez-Cabello, J. 2017. Caracterización del papayo silvestre (*Carica papaya* L.) en la cuenca Almendares-Vento. [Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Ciencias Agrícolas] Mayabeque: Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. 100 p.

SÍNTESIS

La papaya es la tercera fruta tropical de mayor producción a nivel mundial. En Cuba, la erosión de cultivares locales provocó la disminución del fondo genético y conllevó a niveles inferiores de producción en comparación con otros países de la región. Para contribuir a solucionar este problema, se identificaron, caracterizaron y evaluaron plantas de papayo silvestre en la cuenca Almendares-Vento. Estas plantas no cuentan con un programa específico de conservación y pudieran ser promisorias para su explotación en programas de mejoramiento. Los resultados *in situ* evidenciaron aceptación de los frutos para consumo y características favorables para que el área prospectada sea considerada zona núcleo para la investigación, propagación y conservación del papayo silvestre, sin embargo revelaron riesgos de erosión genética. Los estudios morfoagronómicos y moleculares demostraron que las plantas identificadas constituyen una población con alta variabilidad fenotípica y genética. La calidad del fruto, rendimiento, características morfológicas y fisiológicas indicadoras para la tolerancia al estrés biótico y abiótico, evidenciaron en el genotipo silvestre cualidades promisorias para su empleo en programas de mejoramiento. Se recomienda la inclusión del genotipo silvestre en el banco de germoplasma y su explotación en áreas aledañas a sus hábitats naturales, para contribuir a su conservación *in situ*.

Lista de acrónimos y abreviaturas

ACP- Análisis de Componentes Principales

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AFLP- Polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción

CEBAS-CSIC- Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Murcia, España.

CTAB- Bromuro de Amonio Trimetil Cetil

DI- Descriptores de interés

FAO- Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

GD- Grados días

IBPGR- Oficina internacional para recursos fitogenéticos en plantas

IIFT- Instituto de Investigaciones de Fruticultura Tropical

INIFAT- Instituto de Investigaciones Fundamentales de Agricultura Tropical

INIVIT- Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales

MINAG- Ministerio de la Agricultura

PCR- Reacción en cadena de la polimerasa

PIC- Contenido de información polimórfica

RAPD- Amplificaciones al azar del ADN polimórfico

RFAA- Recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura

RRFF- Recursos fitogenéticos

SST- Sólidos solubles totales

TB- Temperatura base

UC- Unidades de calor

UC d⁻¹- Unidades de calor diarias acumuladas

UPGMA- Método de las medias aritméticas por grupo no ponderadas

ÍNDICE GENERAL	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
2.1 Generalidades de la especie <i>Carica papaya</i> L	6
2.1.1. Origen, distribución y domesticación	6
2.1.2. El papayo en Cuba.....	7
2.1.3. Taxonomía	8
2.1.4. Características botánicas y morfoagronómicas	10
2.1.4.1. Formas sexuales	12
2.1.4.2. Calidad de los frutos	13
2.1.4.3. Incidencia de plagas de mayor importancia económica	15
2.1.4.4. Importancia, producción y comercialización	17
2.2. Fenología de la especie <i>Carica papaya</i> L.	19
2.3. Fisiología de la especie <i>Carica papaya</i> L.	20
2.4. Conservación de los recursos fitogenéticos de <i>Carica papaya</i> L.....	22
2.4.1. Conservación <i>in situ</i>	24
2.4.2. Conservación <i>ex situ</i>	25
2.5. Caracterización de los recursos fitogenéticos de <i>Carica papaya</i> L.	26
2.5.1. Descriptores morfoagronómicos	27
2.5.2. Marcadores moleculares	29
3. MATERIALES Y MÉTODOS	31
<i>Aspectos generales</i>	31
3.1. Investigación de campo y colecta <i>in situ</i> de plantas de <i>Carica papaya</i> L. silvestre	31
3.2. Caracterización molecular de las plantas de papayo silvestre colectadas <i>in</i>	

<i>situ</i> mediante el marcador molecular tipo RAPD	33
a) Selección de los cebadores RAPDs	35
b) Amplificación del ADN de los genotipos en estudio mediante los cebadores RAPDs seleccionados	36
3.3. Caracterización <i>ex situ</i> del genotipo papayo silvestre.	37
3.3.1. Caracterización morfoagronómica mediante descriptores cualitativos...	38
3.3.2. Caracterización morfoagronómica mediante descriptores cuantitativos...	39
a) Variabilidad de los descriptores evaluados	40
b) Caracterización del genotipo papayo silvestre con el empleo de los descriptores de mayor contribución a la variabilidad	40
c) Observaciones y diagnóstico prescriptivo de plantas afectadas por el Virus de la mancha anular del papayo (PRVS) y Cogollo arrepollado (PBT)	40
3.4. Estudio fenológico del genotipo papayo silvestre	41
3.5. Estudio fisiológico del genotipo papayo silvestre	42
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	44
4.1. Investigación de campo y colecta <i>in situ</i> de plantas de <i>Carica papaya</i> L. silvestre	44
4.2. Caracterización molecular de las plantas de papayo silvestre colectadas <i>in situ</i> mediante marcadores moleculares tipo RAPD	50
a) Selección de los cebadores RAPDs	50
b) Amplificación del ADN de los genotipos en estudio mediante los cebadores RAPDs seleccionados	51
4.3. Caracterización <i>ex situ</i> del genotipo papayo silvestre	56
4.3.1. Caracterización morfoagronómica mediante descriptores cualitativos...	56
4.3.2. Caracterización morfoagronómica mediante descriptores cuantitativos..	72
a) Variabilidad de los descriptores evaluados	72
b) Caracterización del genotipo papayo silvestre con el empleo de los descriptores de mayor contribución a la variabilidad	74

c) Observaciones y diagnóstico prescriptivo de plantas afectadas por el virus de la mancha anular del papayo (PRVS) y cogollo arrepollado (PBT)	88
4.4. Estudio fenológico del genotipo papayo silvestre.....	90
4.5. Estudio fisiológico del genotipo papayo silvestre	95
<i>Consideraciones generales</i>	97
5. CONCLUSIONES	99
6. RECOMENDACIONES	100
<u>7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	
<u>8. ANEXOS</u>	

I. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La diversidad biológica comprende el conjunto de seres vivos y ecosistemas en que estas habitan, y contribuye a la diversificación y productividad de los sistemas agrícolas (Badii *et al.*, 2015; Bermúdez *et al.*, 2015). Sin embargo, pese a su dimensión es vulnerable. Numerosas especies se han extinguido y otras se encuentran en proceso de erosión genética debido, fundamentalmente, a su sobreexplotación e impactos antrópicos, que afectan sus áreas de reproducción natural y favorece la disminución de la diversidad genética (Hernández, 2014; Tapia *et al.*, 2015).

Ante la situación planteada, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas del inglés *Food and Agriculture Organization of the United Nations*), recomendó conservar los recursos fitogenéticos (RRFF), mediante una red mundial de bancos de germoplasma (FAO/IBP, 1967). Gracias a ello, en la actualidad existen diferentes estrategias que permiten la conservación de los mismos en áreas naturales o fuera de ellas.

Las variedades silvestres deben conservarse *in situ*, en óptimas condiciones en la naturaleza y los cultivares en agroecosistemas, para que continúen los procesos biológicos y generen nueva diversidad (Justiniano *et al.*, 2006). También es factible conservar una fracción de las variedades silvestres fuera de su ambiente natural para uso actual o futuro. Generalmente, para conservar los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura (RFAA) se combinan ambos ambientes (Baena *et al.*, 2003).

El papayo (*Carica papaya* L.), es originario del trópico americano y constituye la tercera fruta tropical de mayor importancia a nivel mundial (Sañudo y Báez, 2014). Esta es una de las especies de interés para la conservación, dado su valor ecológico, así como en la alimentación y economía. Sus frutos son apreciados en la industria por los variados usos y

para el consumo fresco por ser una fuente importante de antioxidantes, vitaminas y minerales (Granado *et al.*, 2015).

El 70 % de la producción mundial de este cultivo en los últimos años procede de la India, Brasil, Indonesia, Nigeria y México (FAOSTAT, 2015a). En el año 2014 la producción de papaya fue 13 millones de toneladas, de las cuales más de la mitad provinieron de América Latina (Bañero, 2015).

En Cuba, el papayo se cultiva a escala comercial desde 1906 (MINAG, 2004). En esta etapa predominó el genotipo 'Criollo' hasta que en 1963 se introdujo en el mercado 'Maradol Roja', que ocupa las principales áreas destinadas a la siembra de este frutal, debido a la calidad y aceptación de sus frutos (Rodríguez, 2008). Esto contribuyó a la disminución de la diversidad genética de la especie en los sistemas tradicionales de cultivo (Alonso *et al.*, 2009a), lo que unido a la insuficiente variabilidad genética en el banco de germoplasma, conlleva a la vulnerabilidad del cultivo frente a cambios ambientales o incidencia de plagas (de la Cuadra, 2013).

Lo anteriormente expuesto pudiera ser una de las principales causas del bajo rendimiento del papayo en el país con valores entre 17,1 y 30 t ha⁻¹ (Cabrera, 2014), en comparación con otros países de la región, como Belice, Brasil, México y Costa Rica, que a finales de la década pasada alcanzaron 89,6; 44,4; 43,4 y 37,7 t ha⁻¹, respectivamente (González *et al.*, 2012). De ahí la necesidad de incrementar y conservar la variabilidad genética del germoplasma de papayo utilizable en la isla, mediante la identificación y caracterización de genotipos locales promisorios.

En este sentido, las variedades silvestres que se encuentran dentro de su ámbito de distribución original, que contengan información genética de valor o utilidad real o potencial y que no están caracterizadas son promisorias (Ospina y Vanegas, 2012; Vidal *et al.*, 2012). Sin embargo, estos RRFF en la mayoría de las especies corren riesgos de erosión genética, lo que coincide con lo señalado por González (2002). Es por esto que se hace

necesario su conservación y caracterización para su empleo en la alimentación y la agricultura (Engels y Visser, 2007).

En ecosistemas cubanos mayormente pertenecientes a cuencas hidrográficas, habitan plantas de papayo silvestre en pequeñas y aisladas poblaciones, aspecto que también destacaron Oviedo *et al.* (2008). Estas plantas, además de su valor ecológico en la conservación y equilibrio de los ecosistemas, poseen características que le permiten vivir en ambientes adversos; sin embargo, aún no se han caracterizado o evaluado, y pudieran ser promisorias para los programas de mejoramiento y para incrementar la diversidad en las áreas de producción de este cultivo.

El estudio de la diversidad genética de las especies es significativo para su conservación y distinción genética y fenotípica, debido a que permite conocer la variación morfológica, fisiológica y la estructura genética de sus poblaciones (Wen y Hsiao, 2001). En este sentido, la identificación a través de la caracterización de genotipos que muestren adecuado comportamiento ante la incidencia de factores bióticos y abióticos que afectan a un determinado cultivo, y que además posean aceptación en el mercado, proporciona un material de partida valioso para programas de mejoramiento genético

Existen diferentes métodos para caracterizar y clasificar las accesiones, los niveles de diversidad y las relaciones entre los individuos (Delgado *et al.*, 2016). El empleo de descriptores en caracteres morfoagronómicos constituye el principal método para estimar la variabilidad entre genotipos (Hernández, 2012). A través de estos descriptores se caracterizó la diversidad de *C. papaya* en Nigeria (Aikpokpodion, 2011) y en Brasil (Pereira *et al.*, 2011). En Cuba, se caracterizó el genotipo 'INIVIT FB 2000 Enana' (Ramos *et al.*, 2000) y accesiones del banco de germoplasma (Alonso *et al.*, 2008a y 2009b). Sin embargo, estos caracteres son influenciados por el ambiente (Nieto *et al.*, 2015).

En relación con lo anteriormente planteado, los marcadores de ácido desoxirribonucleico (ADN) ofrecen grandes ventajas en la caracterización de accesiones para el banco de germoplasma (Martínez *et al.*, 2007). Estos marcadores complementan la caracterización

basada en caracteres morfológicos, mediante estudios de diversidad genética y su distribución entre regiones geográficas (Valdés-Infante *et al.*, 2008). Además, permiten la identificación de posibles duplicados en el banco de germoplasma (Fernández, 2004).

Mediante marcadores moleculares tipo RAPD (por sus siglas del inglés *Random amplified polymorphic DNA*), se estudió la diversidad genética de la colección venezolana de la familia Caricácea (Vegas *et al.*, 2013). También, se caracterizaron accesiones en el banco de germoplasma cubano con el empleo de marcadores AFLP (Alonso *et al.*, 2009a).

Asimismo, los estudios fenológicos y fisiológicos contribuyen a la caracterización morfológica, a través de ellos se establecen diferencias entre genotipos, se brinda información de utilidad para el manejo del germoplasma y con respecto a las respuestas y etapas críticas de las plantas cultivadas en diferentes ambientes (Vázquez *et al.*, 2008). Se refleja así, la interrelación de factores genéticos y no genéticos de forma tal que para diferentes caracteres, el comportamiento relativo de los genotipos puede variar de acuerdo a las condiciones ambientales (Gálvez y Sigarroa, 2010).

Es por ello, que en consideración a los anteriores planteamientos se identificó **el problema científico**: ¿Cómo contribuir a la conservación del papayo silvestre e incremento de la diversidad genética de *C. papaya* en el banco de germoplasma de Cuba y en los sistemas tradicionales de cultivo con recursos fitogenéticos promisorios?

Para dar respuesta al problema se formuló la siguiente **hipótesis de trabajo**: La caracterización y evaluación de plantas silvestres de *Carica papaya* L. en la cuenca Almendares-Vento, contribuye a su conservación y utilización para programas de mejoramiento genético.

Para aceptar o refutar la hipótesis de trabajo se propusieron los siguientes objetivos:

Objetivo general

Identificar plantas de papayo silvestre (*Carica papaya* L.) en la cuenca Almendares-Vento. Caracterizarlas y evaluarlas *in situ* y *ex situ*.

Objetivos específicos

1. Realizar investigaciones de campo para identificar y evaluar plantas de papayo silvestre en la cuenca Almendares-Vento.
2. Determinar la variabilidad genética de las plantas de papayo silvestre identificadas *in situ*, con el empleo de marcadores moleculares
3. Caracterizar y evaluar el papayo silvestre en un sistema tradicional de cultivo, mediante descriptores morfoagronómicos, observaciones fenológicas e indicadores fisiológicos.

Novedad Científica

Los resultados constituyen un aporte al conocimiento y a la conservación de los recursos fitogenéticos de *C. papaya* en Cuba. Por primera vez, se realizan estudios en plantas de papayo silvestre mediante marcadores moleculares, descriptores morfoagronómicos, observaciones fenológicas y estudios fisiológicos.

Valor Práctico

La caracterización y evaluación del papayo silvestre en la cuenca Almendares-Vento, así como la información con respecto a la percepción de la población humana local, contribuye a su conservación y empleo de la diversidad de estos caracteres en los programas de mejoramiento genético del cultivo. Esto unido a la identificación del área de colecta como zona núcleo, contribuye a establecer estrategias de restauración y conservación del ecosistema de reproducción natural del papayo silvestre en la provincia. Los nuevos cebadores RAPDs identificados y el listado de descriptores mínimos propuesto, pueden emplearse para la caracterización y estudios de relaciones filogenéticas de las accesiones de papayo en los bancos de germoplasma.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Generalidades de la especie *Carica papaya* L.

2.1.1. Origen, distribución y domesticación

La especie *Carica papaya* L. es originaria de América Tropical (Chaterlán *et al.*, 2012; Granados *et al.*, 2015); sin embargo, aún se desconoce su área de origen exacta debido a la diseminación de las semillas por el hombre (Manshardt, 1992). El conquistador español Hernán Cortés la halló en el sur de los estados de Tabasco y Yucatán de México en 1519, pero fue descrita por primera vez por el cronista español Fernández de Oviedo en 1526, quien la encontró en las costas de Panamá y Colombia (Jiménez, 2002).

Los viajeros y botánicos del siglo XVIII relataron que las semillas de papaya se llevaron desde el Caribe a las Molucas y desde allí a la India, Asia y al sur de la región del Pacífico Sur. Se informa que el crédito de llevar las semillas a Hawai, a principios de 1800, se le debe a Don Francisco Marín, explorador y agricultor español, quien las obtuvo en las Islas Marquesas (Jiménez, 2002).

En la región de Centroamérica existe alta diversidad de *C. papaya*, con predominio de las poblaciones silvestres (Jiménez, 2002). Sin embargo, en el área comprendida entre México y Costa Rica solo se han encontrado especies del género *Carica* L., las que tienen flores estaminadas y pistiladas en proporciones 1:1, como *Carica peltata* Hook. y Arn. y otras formas primitivas de frutos pequeños, que se cruzan fácilmente con el papayo cultivado (Gil y Miranda, 2008). Estas plantas aparecen en poblaciones espontáneas ubicadas desde el sur de América Central hasta el Noreste de América del Sur (Trujillo y Cubillas, 2011), en la vertiente oriental de los Andes comprendida entre Brasil, Bolivia, Colombia y Venezuela, donde se localiza la mayor diversidad de *C. papaya* (MINAG, 2004).

En México, *C. papaya* disminuyó su diversidad genética y riqueza alélica en áreas transformadas a diferencia de lo observado en la selva primaria. Este resultado es relevante, si se considera que las poblaciones de papayo silvestre constituyen una fuente potencial de genes de importancia para el mejoramiento genético de la especie (Núñez *et al.*, 2011).

Posiblemente, *C. papaya* fue domesticada por alguna civilización antigua en la región de Centroamérica y se cultiva en la actualidad en países tropicales y en muchas regiones subtropicales del mundo (Pulido, 2012). Se considera que las variedades silvestres están estrechamente relacionadas con los cultivares (Gutiérrez *et al.*, 2003a).

Las plantas silvestres crecen también en lugares sometidos a la actividad permanente del hombre, en las proximidades de las casas o en los cercos de los sistemas tradicionales de cultivo, y sus frutos son aprovechados por los pobladores en su alimentación (Zapata, 2007). En estas plantas a diferencia de las cultivadas, se observa la incidencia de importantes procesos como la selección natural, pues evolucionaron para sobrevivir a grandes cambios climáticos, tales como, las temperaturas extremas o desastres naturales, sequías e inundaciones (Hoyt, 1988).

La fuerte presión de selección durante el proceso de domesticación de las especies cultivadas, permitió la preservación de muchas variantes, las cuales posiblemente, hubieran desaparecido en condiciones naturales (Franco e Hidalgo, 2003). Al respecto, Ladizinsky (1985) refirió que en *C. papaya* solamente una parte reducida del acervo genético silvestre se utilizó en la domesticación. Por ello la importancia de desarrollar trabajos relacionados con la colecta, caracterización y conservación de genotipos locales, en aras de incrementar la variabilidad genética del germoplasma del papayo en el país.

2.1.2. El papayo en Cuba

Los primeros indicios de *C. papaya* en Cuba, los cronistas se los atribuyen a los conquistadores españoles, quienes la describieron al llegar a la isla (Torres, 2006). Se plantea que fue introducida a través de semillas dispersadas por los nativos y las aves al seguir las rutas migratorias (Cuba, 1996). Se registró de forma oficial como *Carica posoposa* L. (Linneo, 1753) y luego *Carica cubensis* Solms (Solms y Grafen, 1889). Significa entonces, que debería tener prioridad el epíteto *Carica posoposa* L.; sin embargo, el autor no se personó en Cuba. Los primeros autores en describir las plantas de papayo silvestre *in situ* fueron Solms y Grafen (1889), por lo que debe prevalecer el epíteto *Carica cubensis* Solms.

Al referirse a las poblaciones de papayo silvestre en Cuba, los autores las mencionan como *Carica posopora* L., *Carica prosoposa* L., *Papaya cimarrona* Sint. ex Kuntze, o *Papaya cubensis* (Solms) Kuntze (Hermann, 1911; Sturrock, 1940; Cañizares, 1944; Roig, 1965; Cuba, 1996). Esto puede estar dado por la alta diversidad de especies en la familia, que favoreció numerosos sinónimos semejantes en diferentes países. En México, el papayo silvestre es conocido comúnmente como Papayo de monte o Papayo cimarrón (Romero *et al.*, 2013).

En Cuba el taxón silvestre “papayo cimarrón” es considerado nativo del país, y su valor taxonómico no está definido (Roig, 1965), posiblemente es un pariente silvestre de las cultivadas (Matos *et al.*, 2012). Estas plantas se cruzan con facilidad con genotipos cultivados (Rodríguez, 2013, comunicación personal) por lo que es poco probable que pertenezca a otra especie del género *Carica* L. Sin embargo, pudieran ser subespecies formadas por una o más poblaciones poco diferenciadas y con una distribución regional concreta. En la actualidad las plantas de papayo silvestre se consideran sinónimos de *C. papaya* L. (*National Genetic Resources Program*, 2015).

El Caribe constituye una zona de diversificación secundaria del papayo, donde las poblaciones locales presentan adaptaciones a las condiciones regionales (Alonso *et al.*, 2009b). Es por ello que resulta necesario desarrollar diferentes estudios que permitan establecer relaciones entre las poblaciones de papayo silvestre locales que habitan en los ecosistemas cubanos. Además, comparar este recurso fitogenético con las poblaciones de papayo silvestre de países de Centroamérica y el Caribe para establecer las relaciones genéticas de estas poblaciones entre sí. La información derivada de estos estudios facilitaría las tareas relacionadas con el mejoramiento del cultivo y la conservación y explotación del papayo silvestre en Cuba.

2.1.3. Taxonomía

Hasta hace poco se pensaba que la familia *Caricaceae* comprendía cuatro géneros: *Carica* L., *Jacarilla* Rusby, *Jacaratia* A. DC. y *Cylicomorpha* Urban, los cuales abarcaban 71 especies. En la clasificación de la familia, Badillo (1971) señaló que se había revisado para

agrupar *Cylicomorpha* y cinco géneros de Sur y Centroamérica (*Carica*, *Jacaratia*, *Jarilla*, *Horovitzia* y *Vasconcellea*).

Luego de la revisión taxonómica, se propuso que algunas especies, anteriormente asignadas a *Carica* L., debían pasar al género *Vasconcellea* St. Hil, debido a su imposibilidad de producir híbridos naturales entre ellas (Badillo, 2000). Por otra parte, las pruebas filogenéticas con el ADN cloroplástico mostraron poca afinidad entre *Carica papaya* L. y 12 especies de *Vasconcellea* St. Hil, las cuales presentaron similitud genética. *Carica* L. se relacionó con *Jarilla*, considerándose ambas como hermanas (Aradhya *et al.*, 1999).

El número de especies a finales del siglo pasado se redujo a 31. De ellas, 22 se adjudicaron a *Carica papaya* L., una a *Jacarilla* Rusby, seis a *Jacaratia* A. DC. y dos a *Cylicomorpha* Urban (Nakasone y Paull, 1998). Como se ha escrito, el género *Vasconcellea* St. Hil. se restableció recientemente, quedando *Carica papaya* L. como única especie dentro del género *Carica* L. (Carrasco *et al.*, 2009). En la actualidad, la familia *Caricaceae* está formada por seis géneros y 35 especies distribuidas de la siguiente forma: una pertenece a *Carica* L., una a *Horovitzia cnidoscoloides* (D.H. Lorence y R. Torres Colín) Badillo, dos a *Cylicomorpha* Urban, tres a *Jarilla* Rusby, siete a *Jaracatia* A. DC y 21 pertenecen a *Vasconcellea* St. Hil. (Romero *et al.*, 2013; Carvalho y Renner, 2014). La taxonomía de la especie *Carica papaya* L. es la siguiente (Cronquist, 1988).

Reino:	Plantae
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Violales</i>
Familia:	<i>Caricaceae</i>
Género:	<i>Carica</i> L.
Especie:	<i>Carica papaya</i> L.

2.1.4. Características botánicas y morfoagronómicas

El conocimiento sobre la morfología de las plantas es importante para realizar de forma adecuada las prácticas de manejo del cultivo y las labores de comercialización (Olmos, 2006). En *C. papaya* las plantas silvestres son perennes y de crecimiento acelerado, pueden alcanzar hasta 1 000 cm de altura en corto período de tiempo (MAG, 2011). El tallo es recto, cilíndrico, hueco y gris, con diámetro entre 10 y 30 cm, generalmente, sin ramas y con cicatrices que dejan las hojas al caer (Figura 1).

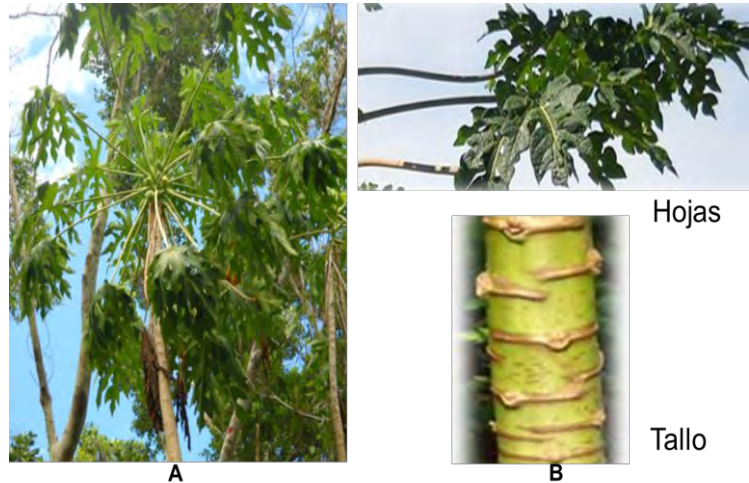


Figura 1. Plantas de *C. papaya* L. silvestres *in situ* (A). Vista ampliada del tallo y las hojas (B).

El sistema radical: está compuesto por la raíz pivotante, que puede alcanzar más de 1 m de profundidad y por raíces grandes y tuberosas que se desarrollan superficialmente, provistas de gran cantidad de raicillas que abarcan un radio de hasta 1,80 m (Jiménez, 2013).

Área foliar: muestra la copa abierta y redondeada con hojas grandes, alternas, erectas, extendidas las superiores y colgantes las inferiores (Figura 1). Los pecíolos son largos y huecos, con longitud que puede alcanzar más de 80 cm. La lámina del limbo es palmeada y de siete a 11 lóbulos, aunque el número constante es nueve. Puede medir hasta 80 cm de ancho por algo más de 70 cm de largo (Rodríguez, 2006).

Flores: son blanco-crema y amarillo-anaranjado y aparecen en las axilas que forman los pecíolos y el tallo. Estas pueden ser pistiladas, estaminadas o bisexuales (Figura 2), las cuales dan origen a plantas femeninas, masculinas o hermafroditas, respectivamente (Cruz y Portal, 2010).

Las flores femeninas están dispuestas en racimos cortos, menos de cinco flores de forma oval alargada (Thais *et al.*, 2002). Tienen el cáliz corto, de cinco sépalos. La corola posee cinco pétalos

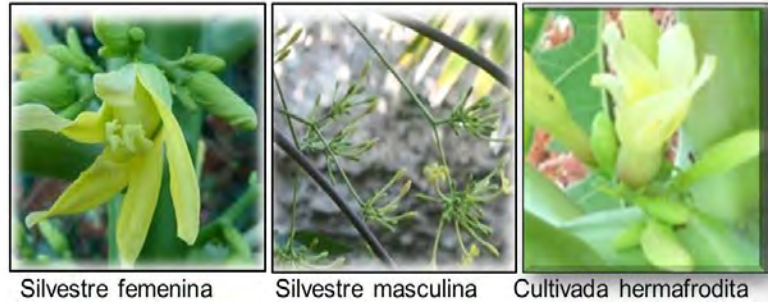


Figura 2. Flores de *Carica papaya* L.

separados, sin estambres y el gineceo está compuesto por cinco carpelos fusionados sobre la inserción de los pecíolos, lo que da lugar a un ovario grande, liso y elipsoidal, unilocular de placentación parietal (Nar, 2003). El estilo posee cinco estigmas lobulados a modo de cornamenta de venado (Correa *et al.*, 2009).

Las flores masculinas se encuentran dispuestas en racimos colgantes, con gran número de inflorescencias y flores estaminadas. Son delgadas y largas con el tubo alargado y de cinco pétalos cortos, 10 estambres y un pistilo rudimentario. En las mismas pueden aparecer algunas flores hermafroditas, sobre todo en períodos fríos o lugares altos, que llegan a formar frutos pequeños sin valor comercial (Vargas, 1993). La flor bisexual es de una estructura semejante a la flor estaminada, pero el tubo de la corola es de mayor tamaño y más ancho. Al final del mismo poseen 10 estambres en dos series de cinco (Pulido, 2012).

Frutos: son bayas de pericarpio carnoso y succulento, provenientes de ovario súpero, que están apiñados alrededor del tronco (Figura 3). Su color varía desde amarillo hasta rojo o tonalidades desde verde hasta anaranjado en la madurez, con mesocarpio blando y jugo lechoso (Guzmán, 1998). El fruto del papayo silvestre mide de 4 a 6 cm de largo y de 3 a 4,5 cm de ancho (Linneo, 1753; Roig, 1965). En Venezuela los frutos llegan a medir hasta 7 cm de largo y masa entre 25 y 112 g (Vegas *et al.*, 2013).



Figura 3. Planta de papayo silvestre (*Carica papaya* L.) con frutos.

Semillas: son esféricas, con longitud entre 3,7 y 4,5 mm y de 2,0 a 2,8 mm de diámetro, cubiertas por una capa mucilaginosa (sarcotesta o endotesta), parda negruzca y arrugada. Se desarrollan en cinco hileras adheridas a la pared interior del ovario (Guzmán, 1998).

2.1.4.1. Formas sexuales

La especie *C. papaya* es polígama debido a los tres tipos sexuales que presenta (Aspeitia *et al.*, 2014). Su identidad sexual se debe a una serie de genes fuertemente ligados que se heredan como un solo locus con tres alelos que codifican para caracteres sexuales, tales como, presencia o ausencia de estambres, presencia o ausencia de ovario, así como para el carácter secundario sexual longitud de pedúnculos de las inflorescencias (Mora y Bogantes, 2005). Se designó el genotipo sexual M para las plantas masculinas, MH para las plantas hermafroditas y m para las plantas femeninas.

En el cromosoma Y existe un pequeño sector incipiente no recombinante, que agrupa a los genes que codifican para los caracteres sexuales masculinos. También comprende un gen mutado e inactivo para el desarrollo del embrión, por lo que todas las combinaciones de alelos dominantes, tales como MM, MHMH y MHM son letales (Saalau *et al.*, 2009; Pulido, 2012). Las plantas masculinas y hermafroditas son heterocigotas obligadas y en consecuencia, los genotipos viables son Mm para plantas masculinas, MHm para plantas hermafroditas y mm para las femeninas (Aspeitia *et al.*, 2014). Es de destacar que no existen diferencias embriológicas y morfológicas entre los tres tipos sexuales en prefloración (Sánchez y Núñez, 2008).

El sexo de las flores del papayo está determinado genéticamente; sin embargo, es influenciado por el ambiente (Guzmán, 1998). La temperatura y humedad del suelo provocan la manifestación de muchas formas florales de transición. Las temperaturas inferiores a 20 °C, el exceso de agua, entre otras, producen variaciones a nivel de la expresión de los caracteres sexuales, que se traducen en fenómenos temporales de cambio de sexo (Rodríguez *et al.*, 1995). Sin embargo, las temperaturas altas, el déficit hídrico y las deficiencias de nitrógeno favorecen la esterilidad femenina (Mora y Bogantes, 2005). De aquí la importancia de evaluar estos aspectos en el papayo que habita silvestre

en ecosistemas heterogéneos, con el propósito de identificar plantas con mejor comportamiento en los diversos ambientes referidos.

2.1.4.2. Calidad de los frutos

El tamaño de los frutos del papayo, desde el punto de vista comercial, es una de las características más importante (Almeida *et al.*, 2011). Para la papaya hawaiana el rango para frutas pequeñas oscila desde 260 a 300 g, las medianas de 360 a 500 g y para las frutas grandes entre 570 y 1 000 g (Villareal, 2010). En el comercio internacional la demanda de papaya se concentra, preferentemente, en frutas con masa fresca promedio entre 200 y 600 g (Asociación Naturland, 2000).

El estado de madurez de los frutos del papayo al momento de la cosecha es fundamental para su manejo, transportación y comercialización, debido a que es un fruto climatérico y su maduración ocurre rápidamente poco después de la cosecha, lo que repercute directamente en su calidad y conservación (Kays, 1991). Las pérdidas poscosecha de la papaya pueden alcanzar hasta un 30 % (Martins y Farías, 2002). Por esta razón, los frutos deben recolectarse cuando alcancen la madurez fisiológica. Este es el momento en que la textura es más firme y por tanto los daños mecánicos durante la manipulación se minimizan (Hernández *et al.*, 2007).

La corteza del fruto es la característica más utilizada para evaluar su estado de madurez, la que está directamente relacionada con su color (Benito *et al.*, 2016; Ortiz *et al.*, 2016). Estos autores destacaron que el proceso de maduración de la papaya involucra la degradación de la clorofila y la síntesis de carotenoides o licopeno, que aumentan los valores positivos del color rojo y amarillo. La cosecha de este frutal se debe realizar cuando ocurre el cambio de verde oscuro a verde claro y la aparición de tonos amarillos en el extremo distal (Kader, 2009). Se estima como índice de madurez para realizar la cosecha para el consumo, cuando la corteza del fruto está amarilla entre el 55 y el 80 % (Paull y Chen, 1997).

La determinación del color puede realizarse por evaluación sensorial o instrumental, donde este último es el más usado porque permite obtener medidas con mayor precisión. La

Comisión Internacional de Iluminación (CIE–“*Commission Internationale de l’Eclairage*”) propone diversos sistemas que permiten definir el color. El más reciente es el espacio CIELAB, que se representa en coordenadas rectangulares como claridad o luminosidad: L^* y cromaticidad: a^* y b^* (Yam y Papadakis, 2004).

Otro carácter relacionado con la calidad de los frutos del papayo es su firmeza. La comercialización es por unidad de masa fresca y la pérdida de la misma implica menor rendimiento (Almeida *et al.*, 2011). En frutos del papayo en diferentes estados de madurez se encontró pérdida de la masa fresca, pero en menor medida, en frutas cosechadas semimaduras, relacionándolo con la mayor firmeza, porque al presentar la corteza mejor estructura, disminuye la pérdida de agua (Dánger *et al.*, 2007).

La progresiva pérdida de firmeza en los frutos es consecuencia de la maduración normal, debido a cambios en la pared celular en polisacáridos como pectinas, celulosas y hemicelulosas, debido a la acción enzimática. En este sentido las pectinas solubles son modificadas y despolimerizadas bajo la acción de enzimas pectinolíticas como: pectinesterasas, pectatoliasas, poligalacturonasas, entre otras (Shaw *et al.*, 1998).

La firmeza en frutos almacenados se reduce a medida que transcurre el tiempo, afectándose la consistencia del mesocarpio y por tanto su calidad (Acosta *et al.*, 2001). Es por ello necesario determinar el momento adecuado para la cosecha. En frutas de cultivares de papaya comerciales cosechados en estado de madurez fisiológica, se obtuvo valores de 3,73 kgf cm⁻² de firmeza (Muñiz *et al.*, 2011).

En este mismo sentido, es de destacar que en evaluaciones realizadas en frutos de mango (*Mangifera indica* L.), se encontró que el comportamiento de la actividad enzimática difirió para los tejidos de la piel y la pulpa, donde la actividad de la Pectinesterasa en la piel fue 10 veces menor con respecto al tejido de la pulpa (Aina y Oladunjoye, 1993). Uno de los indicadores de mayor relevancia en la determinación de la calidad comercial de la papaya es la concentración de azúcares totales, debido a que le confiere especial consideración como índice de calidad en la maduración de los frutos (Abbas *et al.*, 2003).

En frutos de 'Maradol Roja' cosechados en diferentes estados de madurez, se apreció que el contenido en sólidos solubles totales (SST) descendió ligeramente (8,7°Brix), pero sin diferencias entre estados de madurez durante los días de conservación (Hernández *et al.*, 2007). El descenso en los niveles de SST durante el almacenamiento se justificó por el consumo de sustratos en el metabolismo respiratorio de la fruta, que juega un papel importante en el contenido de azúcares totales, considerándose favorable entre los 25 y 30°C (Bhattarai *et al.*, 2004).

Los ácidos orgánicos y los azúcares son los principales componentes solubles de los frutos maduros y tienen un marcado efecto sobre el sabor de los mismos, debido a que son responsables de su acidez (Famiani *et al.*, 2015). Dentro de los principales se encuentran el ácido ascórbico, el ácido cítrico y el ácido málico (Ford, 2012; Etienne *et al.*, 2013).

La acidez de las frutas puede disminuir debido a la reducción de la actividad respiratoria (Almeida *et al.*, 2011). Esta a su vez se puede incrementar por la formación de ácido galacturónico, durante el proceso de degradación de la pared celular, cuando tiene lugar la maduración de la papaya (da Costa y Balbino, 2002). Este proceso se produce por el consumo de ácidos orgánicos, ya que la fruta no tiene reservas de almidón (Draetta *et al.*, 1975). Por lo anteriormente expuesto es importante profundizar en estos aspectos en frutos de papayo silvestre, para valorar el momento idóneo de recolección y de este modo establecer los procedimientos postcosecha adecuados para que, en la maduración, la calidad de los frutos sea óptima.

2.1.4.3. Incidencia de plagas de mayor importancia económica

La protección sanitaria en el papayo se considera uno de los aspectos de mayor importancia en este cultivo (MINAG, 2004). Es afectado por virus, bacterias, hongos, ácaros e insectos, y el nivel de incidencia se asocia con las medidas fitosanitarias puesta en práctica.

Dentro de las plagas más importantes se encuentran el Virus de la Mancha Anular del papayo (PRSV por sus siglas del inglés *Papaya Ringspot Virus*) y el cogollo arrepollado

(PBT por sus siglas del inglés *bunchy top Papaya*), que afectan al cultivo con grandes pérdidas económicas (Cabrera *et al.*, 2011).

El PRSV es un potyvirus que no se transmite por semilla, solamente se transmite de plantas de papaya u otras plantas huéspedes infectadas a plantas sanas, por medio de insectos, fundamentalmente por áfidos (Hemíptera: *Aphididae*). Este virus causa una de las enfermedades más destructivas en el papayo a nivel mundial (Tripathi *et al.*, 2008), que constituye la principal limitante de la producción de papaya en México y en Cuba (García y Cabrera, 2012).

Las plantas afectadas por el PRSV presentan síntomas visuales de mosaico, deformación foliar, amarillamiento, manchas aceitosas anulares en el fruto, los pecíolos y el tallo (Rivas *et al.*, 2008). Frecuentemente, las cosechas no se extienden más allá de cuatro meses (Cabrera *et al.*, 2010).

Debido a la amplia diseminación del PRSV en los países productores de papaya, es común encontrar plantas que manifiestan infecciones concomitantes de este virus con otros patógenos que infectan las plantas del papayo, como la necrosis apical y bunchy top (Arocha *et al.*, 2003). En estos casos, generalmente, se observa la manifestación de síntomas más severos que los inducidos por cada uno de los patógenos concomitantes de forma aislada, o la omisión de síntomas de algunos de los patógenos involucrados (Peña, 2008). Las pérdidas producidas por el PRSV se relacionan con la edad de la planta al momento de la infección y la velocidad de dispersión viral por insectos vectores (Hernández *et al.*, 2003).

El PBT se asocia con la *Rickettsia Bellii* (Jiménez, 2002), es transmitido principalmente por el saltahojas (*Empoasca papayae* Oman). El primer síntoma del PBT es un ligero moteado de las hojas superiores, que muestran una ligera apariencia rugosa en las últimas tres hojas formadas del ápice de la planta. La lámina de las hojas infectadas se torna poco a poco clorótica, especialmente en las áreas internerviales. En los casos más agudos se presenta la clorosis de las hojas más tiernas (esta clorosis afecta toda la lámina con igual

intensidad), lo que permite muchas veces diagnosticar la enfermedad desde gran distancia (Pérez y Luis, 2012).

Los pecíolos de las plantas enfermas debido al PBT, son rígidos y se extienden más horizontalmente que los de plantas sanas. En ocasiones las sintomatologías no son exactamente iguales a las descritas por los fitopatólogos, debido a la incidencia combinada de dos o más virus en una misma planta (Vásquez *et al.*, 2015).

Las plantas afectadas por el PBT raramente florecen o fructifican, pero cuando lo logran dan frutos pequeños y deformes que al ser cosechados no liberan látex. Estos frutos cosechados de las plantas enfermas son de mala calidad, porque el contenido de °Brix y la consistencia disminuyen, maduran precoz o tardíamente y no de modo uniforme, además el sabor puede llegar a ser amargo (Webb y Davis, 1987).

En Cuba, en el 2003 se conoció la presencia de fitoplasmas en plantas de papayo con síntomas de PBT (Arocha *et al.*, 2003). También se informó la presencia de Rickettsias en plantas con síntomas de esta enfermedad en el 2009 (Luis *et al.*, 2009).

La obtención de cultivares resistentes al PRSV y PBT, mediante el mejoramiento genético, parece ser una vía idónea para lograr un control efectivo, sobre todo cuando con otras medidas no se han logrado resultados satisfactorios. Aunque, pese a los esfuerzos realizados los cultivares obtenidos aún no muestran resistencia a los diferentes aislados del PRSV.

Es conocido que *Vasconcellea* spp. posee resistencia al PRSV y que a través de cruzamientos se puede transferir resistencia al PRSV; sin embargo los híbridos de papaya obtenidos presentan problemas de incompatibilidad (Peña, 2008). Es por esto que se sugiere evaluar el comportamiento de genotipos locales de papayo silvestre y cultivado frente a las principales plagas que afectan al cultivo, a fin de identificar aquellos con mejor respuesta ante estos patógenos de interés.

2.1.4.4. Importancia, producción y comercialización

La papaya es rica en vitaminas y una importante fuente de minerales que generalmente se consume en estado fresco y maduro, debido a que el contenido de azúcares le confiere un

sabor agradable (Santamaría *et al.*, 2015). En la industria este fruto goza de alta demanda para jugo, vino, vinagre, mermelada, jalea, conserva en almíbar (sola o en combinación con otras frutas), confitada, deshidratada, encurtidos, para clarificar la cerveza y con amplio empleo como farmacéutico (MAG, 2011).

A nivel internacional el papayo se considera un frutal de importancia económica por su alta rentabilidad y aceptación de sus frutos en el mercado (Mirafuentes y Azpeitia, 2008). Se produce en más de 60 países, pero su producción se concentra en naciones en vías de desarrollo. En el año 2014 la producción de papaya fue 13 millones de toneladas, de las cuales más de la mitad provinieron de América Latina (Bañero, 2015). Los primeros 10 países productores de papaya en el mundo durante el período 2002-2010 concentraron el 86,3 % de la producción de este cultivo (FAOSTAT, 2015b).

En regiones de Asia los niveles de producción de papaya han crecido de manera considerable, con el 52,6 % de la producción global entre los años 2008 y 2010 (FAOSTAT, 2015 a), seguido de Suramérica (23,1 %), África (13,1 %), Centroamérica (9,6 %), el Caribe (1,4 %), Norteamérica (0,1 %) y Oceanía (0,1 %). La India fue responsable del aumento en la producción mundial, al incrementar la producción desde 2 millones de toneladas en 2005 a 4,7 millones de toneladas en 2010. Este notable aumento en la producción del cultivo se debió a varios factores, tales como incremento del área de siembra, resultados de los programas de mejoramiento genético y el empleo de prácticas de manejo más eficientes (Edward y Ballén, 2012).

En Cuba, la carencia de una tecnología integral y el mal manejo de la existente, unido a problemas fitosanitarios provocó que la producción de papaya sea baja, con altos costos de producción, en comparación con otros países (Cabrera *et al.*, 2013). En el año 2004 se obtuvo 119 000 t, pero luego hubo un descenso durante el período de 2005 al 2007, con 91 797, 90 309 y 92 000 t, respectivamente (Cruz y Portal, 2010). El rendimiento en el 2005 fue de 15,6 4 t ha⁻¹; 20,2 t ha⁻¹ en el 2006 y 20,4 t ha⁻¹ en el 2007 (Pérez *et al.*, 2009).

A partir del 2007 el cultivo se fomentó notablemente, debido a la importancia y al valor en el mercado internacional. Sin embargo, a pesar de que en el año 2011 se plantaron alrededor

de 7 920 ha, la producción fue de 135 700 t, con un rendimiento de 17,1 t ha⁻¹ (González *et al.*, 2012).

Las plantas silvestres del género *Carica*, además de la potencialidad de servir para el consumo y el mejoramiento del cultivo, contienen papaína, que es una enzima de alto valor en el mercado internacional (Pinto *et al.*, 2015). Asimismo, son de alto valor como plantas ornamentales, para la regeneración de selvas tropicales, restaurar terrenos degradados y rehabilitar sitios donde hubo explotación minera (Asociación Naturland, 2000). Además, hay que destacar la importancia de las flores para la apicultura, sobre todo las masculinas, que producen abundante néctar. Este está constituido por sacarosa y abundantes aminoácidos, en comparación con las flores femeninas, que no contienen nectarios (Linneo, 1753; Romero *et al.*, 2013; Cauich *et al.*, 2015).

De acuerdo con lo anteriormente planteado, la presencia del papayo silvestre en los ecosistemas, constituye un aspecto de sumo interés dado los beneficios que representa. Por todo ello, es necesario trazar estrategias que favorezcan la propagación y conservación de los recursos fitogenéticos de papayo silvestre locales en áreas donde se reproducen naturalmente y su entorno.

2.2. Fenología de la especie *Carica papaya* L.

Los estudios fenológicos contribuyen a entender las respuestas de las plantas ante los factores ambientales (Nuez, 1995). Estos constituyen una herramienta útil para su manejo, por lo que es importante estudiar el comportamiento de las plantas en diferentes ambientes y períodos de siembra.

Para evaluaciones relacionadas con la incidencia de factores ambientales en las plantas, se debe conocer el patrón de crecimiento y desarrollo del cultivo. Esto se puede lograr a través del estudio de los estados fenológicos que permiten predecir, ante determinada situación meteorológica, la duración de las fases y detectar los períodos críticos del cultivo (Andrade, 1995). La adecuada consideración de estos aspectos, permite la ejecución de las actividades agrotécnicas en los momentos de máxima eficiencia del cultivo para lograr mayor rendimiento.

En estudios del papayo realizados en Hawaii se observó que desde la polinización hasta la maduración del fruto, el tiempo osciló entre 168 y 182 días, con temperaturas de 30°C durante el día y 20°C en la noche, con diferencias en dos semanas de retraso durante el invierno (Reyes, 1996). Es conocido que el calor acumulado, que involucra la combinación adecuada de grados de temperatura y el tiempo cronológico, es siempre el mismo (Soto *et al.*, 2009), o sea, que la cantidad de calor acumulado se mantiene en cada fase y ciclo en un rango aproximado, con independencia del período de siembra (Pino *et al.*, 2003).

En relación con este último aspecto, los autores plantearon, que las unidades de calor (UC) para la madurez (índice de madurez) consisten en la cantidad de calor que la planta debe acumular desde la siembra hasta alcanzar la madurez del fruto. Después de la germinación y de forma gradual, la temperatura del aire resulta importante para las etapas vegetativas.

En estudios relacionados con el tema, el crecimiento del papayo disminuyó cuando el calor acumulado fue inferior a 4,8 unidades de calor diarias (UC d⁻¹), y se incrementó al aumentar a 6,6 UC d⁻¹ (Vázquez *et al.*, 2008). Los frutos del papayo alcanzan dimensiones próximas a su tamaño máximo a partir de los 800 grados días (GD) acumulados; sin embargo, el tiempo puede variar cuando el cultivo se establece en diferentes períodos de siembra (da Silva *et al.*, 2007).

El verano, en comparación con invierno, se caracteriza por días largos y altas temperaturas, lo que permite a la planta acumular los GD en menor tiempo. En este sentido, se observó que papayas del grupo Formosa de meses calurosos, presentaron mayores dimensiones que las obtenidas en igual tiempo de cultivo en los meses fríos (Yamasnishi *et al.*, 2006). De aquí que los aspectos relacionados con la fenología del cultivo del papayo resulten interesantes en estudios de este tipo, tanto para investigaciones básicas como para su aplicación en la práctica productiva.

2.3. Fisiología de la especie *Carica papaya* L.

La ruta metabólica C₃ caracteriza a la mayoría de las plantas vasculares, las que presentan hojas cuya anatomía carece de la formación de la celda del margen en los fascículos vasculares (Buisson y Lee, 1993). El papayo está clasificado como una planta con

metabolismo C₃, que bajo condiciones ambientales favorables pierde a través de los estomas aproximadamente 100 moléculas de agua por cada molécula de dióxido de carbono (Badger y Price, 1994). En zonas con aporte constante de agua esto no representa un problema, pero en regiones áridas y semiáridas sí llega a serlo (Leegood, 1993; SAGARPA, 2013).

La respuesta fotosintética del papayo está vinculada a las condiciones ambientales, a través del comportamiento estomático. El aparato fotosintético del papayo puede adaptarse a cambios de iluminación que limitan la pérdida de agua e incrementan la eficiencia de su uso durante los períodos de baja luminosidad (Reis *et al.*, 2005). Este cultivo es sensible a la luz (Hueso *et al.*, 2015). Las hojas pueden reaccionar con el cierre de los estomas a la intermitente cubierta de las nubes en las regiones tropicales, como respuesta rápida a la baja luminosidad (Clemente y Marler, 1996).

En las plantas, cuando la temperatura es superior a los 30°C, la asimilación máxima de carbono decrece linealmente, lo que ocasiona que cuando se alcanzan 41°C, el valor de este parámetro es apenas la mitad que cuando se estaba a 30°C. La temperatura actúa indirectamente por el incremento del déficit de presión de vapor, que provoca la caída de la conductancia estomática (Chaves y Gutiérrez, 2017).

Variables del crecimiento

Los análisis del crecimiento son herramientas útiles para la comparación entre genotipos. A pesar de que la metodología del análisis clásico se utilizó extensamente en estudios ecológicos y fisiológicos básicos (Di Benedetto *et al.*, 2013, 2015; Di Matteo *et al.*, 2015), también se considera una disciplina relacionada con la agronomía, con sus propios conceptos, términos y herramientas de cálculo (Poorter y Sack, 2012).

Las variables del crecimiento ofrecen la ventaja de proveer medidas precisas relacionadas con el funcionamiento de la planta en el tiempo, para analizar su crecimiento o el de una población, bajo condiciones ambientales naturales o controladas (Gil y Miranda, 2007). Estas herramientas permiten cuantificar la relación existente entre el crecimiento de la planta, la producción de masa seca y la expansión del área foliar, y van a estar

influenciadas por múltiples factores propios del genotipo, del ambiente y por las condiciones de manejo (Poorter *et al.*, 2014; Körner, 2015).

El crecimiento de la planta del papayo se refleja por su altura, área foliar, diámetro del tallo y masa seca total (Acevedo y Pire, 2004; Granados *et al.*, 2015). Permite implementar acciones que superan, en alguna medida, las pérdidas ocasionadas en el rendimiento y otras afectaciones en el cultivo (Cayón *et al.*, 1998). Es por esto que el análisis de la respuesta fisiológica de las plantas, sometida a diferentes condiciones para su normal desarrollo, es una variable de interés para conocer su comportamiento ante disímiles condiciones.

Para el análisis de la eficiencia fisiológica de una planta, en función de sus parámetros de crecimiento, es necesario cuantificar el material vegetal existente en la planta con relación a su sistema asimilador, en intervalos de tiempo sucesivos (Carranza *et al.*, 2009). A partir de estas evaluaciones se obtienen mediciones directas, como masa seca y el área foliar total en el tiempo e índices derivados de las mismas, que se deben obtener por cálculos, denominados análisis funcional del crecimiento (Sedano *et al.*, 2005).

En el papayo silvestre de Cuba, se debe profundizar en el estudio fenológico y del crecimiento y desarrollo, de forma tal que facilite su explotación en áreas de siembra, pues la existencia de una tecnología integral y el buen manejo del cultivo favorecen el incremento del rendimiento y la disminución de los costos de producción. Este aspecto es significativo, dado que muchos productores no cuentan con sistemas de riego y siembran en diferentes períodos para aprovechar las lluvias durante el crecimiento y desarrollo de las plantas de papayo. Además, en muchos casos los productores carecen de insumos de modo que la información sobre las etapas fenológicas y el hábito de crecimiento facilitaría las atenciones culturales del cultivo.

2.4. Conservación de los recursos fitogenéticos de *Carica papaya* L.

Los RRFF comprenden la diversidad genética correspondiente al mundo vegetal, que se considera poseedora de valor para el presente o el futuro. Se incluyen las variedades cultivadas, tanto tradicionales como comerciales, variedades silvestres o asilvestradas

afines a las cultivadas o con valor actual o potencial, y materiales obtenidos en trabajos de mejora genética (FAO, 1998; Abos et al., 2016).

La pérdida de los RRFF es un proceso irreversible, con grave amenaza para la estabilidad de los ecosistemas, el desarrollo agrícola y la seguridad alimentaria del mundo (Esquinas-Alcázar, 1993). A principios del pasado siglo, los agricultores perdieron un gran número de cultivares tradicionales debido a la implantación generalizada de la agricultura comercial moderna o industrializada, la que aún continúa vigente (Casas y Parra, 2007).

Es de destacar que la mayoría de las especies del género *Carica*, se encuentran en estado silvestre y amenazadas, con alto grado de erosión genética (Justiniano *et al.*, 2006). En *C. papaya* se agravó esta situación por la erosión de cultivares locales y variedades silvestres, debido a procesos como la deforestación masiva y la degradación o la contaminación de los ambientes naturales (de la Cuadra, 2013). De aquí la importancia de desarrollar estudios que faciliten la conservación de esta especie y permitan un uso más eficiente en los programas de mejoramiento genético y en áreas de producción.

Con el objetivo de conservar los RRFF, incluidos los de *C. papaya*, en América se crearon a principios del presente siglo dos redes, la Red Mesoamericana de Recursos Fitogenéticos (REMERFI), y la Red Amazónica de Recursos Fitogenéticos (TROPIGEN). La primera red está compuesta por instituciones nacionales de los países Mesoamericanos: Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua y Panamá. La segunda red la integran Bolivia, Brasil, Colombia, Ecuador, Guyana, Perú, Surinam y Venezuela.

Sin embargo, en la región del Caribe no existe ningún establecimiento dedicado a la conservación a largo plazo del germoplasma de papayo, que evolucionó en un ambiente de islas volcánicas, relativamente aisladas (Knudsen, 2000). No obstante, en Cuba se creó un pequeño banco de germoplasma con accesiones introducidas y nacionales (Alonso *et al.*, 2005). Además, se tomaron medidas para la conservación de los RRFF a través de las áreas protegidas (SNAP, 2016). En este sentido, la protección del papayo silvestre se favoreció, sin embargo aún no es suficiente, debido a que las áreas de reproducción natural

se encuentran bajo amenaza constante de erosión genética a causa de desastres naturales o actividades humanas relacionadas con la urbanización y el desarrollo turístico.

La conservación de los RRFF puede ser *in situ* y *ex situ* (Bellon *et al.*, 2009). Estas dos modalidades son complementarias y no excluyentes, en la preservación del patrimonio genético de las especies y sus poblaciones a mediano y largo plazo (Medina y Hernández, 2015).

2.4.1. Conservación *in situ*

La conservación *in situ* es la conservación de ecosistemas y de hábitats naturales, así como el mantenimiento y la recuperación de poblaciones viables de especies en su ámbito natural. En el caso de especies domesticadas o cultivadas, es en el ámbito donde éstas desarrollaron sus características distintivas (Astorga *et al.*, 2007).

En el continente americano, desde México hasta Argentina, así como en las Antillas mayores, existen plantas de papayo silvestre conservados *in situ* (Guzmán 1998). En Cuba, a pesar de que en las últimas décadas las áreas protegidas favorecen la conservación *in situ* del papayo silvestre, no es suficiente si no se establece un programa específico con este objetivo, debido fundamentalmente, a impactos antrópicos que inciden en las áreas de reproducción natural (Pérez, 2015).

A principios del pasado siglo se introdujeron en el país diferentes cultivares de papayo, algunos de ellos a través de la antigua Estación Nacional de Frutales (Fuentes, 2003), hoy perteneciente al Instituto de Investigaciones Fundamentales de Agricultura Tropical (INIFAT). Los cultivares introducidos y otros obtenidos en el país mediante cruzamiento y selección, se conservaron en centros de investigaciones o sistemas tradicionales de cultivo. En este sentido, los agricultores y las comunidades juegan un papel fundamental (Agüero, 2014).

Dentro de las actividades que se deben fomentar para la conservación del papayo en sistemas tradicionales de cultivo, está la promoción de su aprovechamiento, preservar el ecosistema e impedir la introducción de cultivares comerciales hacia las zonas destinadas a la conservación (Mayor *et al.*, 2002). Para ello, los RRFF locales a conservar deben

presentar características de calidad organoléptica en cuanto a diversidad de sabores, aromas, color, entre otros, los que son cada vez más valoradas por el consumidor (Abos *et al.*, 2016).

Hasta el momento, el papayo silvestre permanece en sus áreas de reproducción natural sin ser suficientemente explotado. Es por ello que resulta necesario prospectar, coleccionar y caracterizar a este recurso fitogenético en diferentes regiones, con el fin de contribuir a su conservación e incrementar la diversidad genética del papayo utilizable en el país.

2.4.2. Conservación *ex situ*

La conservación *ex situ* tiene como objetivo principal apoyar la supervivencia de las especies y recursos genéticos fuera de sus hábitats naturales (Jossue, 2001). Esta estrategia constituye el método principal de conservación para la agricultura a escala mundial (Gutiérrez *et al.*, 2003b). La erosión a la que está sometida la diversidad genética de los cultivos y sus parientes silvestres en los últimos años, constituye la principal razón para recolectar RRFF y generar ideas para la conservación del germoplasma (Engels y Visser, 2007).

Existen diferentes técnicas para la conservación *ex situ*, las que dependen del tipo de germoplasma y de los objetivos de conservación que se persiguen (Aragón y de la Torre, 2015). Una de las técnicas consiste en colecciones vivas en bancos de germoplasmas o en sistemas tradicionales de cultivo de agricultores. Con respecto a este tema, diversas actividades se desarrollan para promover la actividad de conservación por parte de los agricultores en el mundo (Rodríguez, 2014). Para ello, realizan intercambios de conocimiento con especialistas, promueven el intercambio de germoplasma y la identificación de especies y cultivares entre ellos (Barrios, 2010).

A pesar de lo anteriormente planteado, alrededor de las tres cuartas partes de la diversidad genética de los cultivos utilizados en la agricultura se perdió en el siglo pasado, con una marcada erosión genética que continúa su curso (Schröder *et al.*, 2007). La prospección, recolección, caracterización, evaluación y utilización sostenible del germoplasma, es el paso inicial para la conservación *ex situ* de los RRFF (Astorga *et al.*, 2007).

En América existen colecciones en más de 15 bancos de germoplasma, donde se destacan Brasil, Colombia, Perú y Ecuador. En Cuba, para contribuir a disminuir la erosión de la diversidad genética del papayo, el Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical (IIFT) estableció en la provincia de Artemisa un genofondo de cultivares introducidos, cultivares comerciales de Cuba y cultivares locales prospectados en distintas localidades de nuestro país. Sin embargo, el alto índice de plagas que incide negativamente en este cultivo y los desastres meteorológicos, no hicieron posible la permanencia del banco en esa provincia, por lo que se trasladó a Jagüey Grande, Matanzas (Alonso *et al.*, 2005).

Resulta oportuno destacar, que antes del presente siglo no existía un banco de germoplasma de papayo en Cuba. Los materiales se conservaron en centros de investigaciones, empresas estatales, en sistemas tradicionales de cultivo de productores, entre otros. No obstante, en los centros citados y en el reciente banco de germoplasma establecido en el 2005, no se incluyó el papayo silvestre debido, entre otras causas, a que se le dio prioridad a cultivares comerciales introducidos y algunos nacionales de alta demanda en el mercado, por ser de interés para los productores. Además, influyó el desconocimiento del potencial genético y agronómico del papayo silvestre por no estar caracterizado.

En el INIFAT y en el Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), se sembraron semillas de papayo silvestre colectados *in situ*, en la región central de la isla, con el fin de realizar cruzamientos con 'Maradol Roja'. Sin embargo, los cruzamientos no se realizaron y las semillas no se conservaron (Rodríguez, 2013 comunicación personal), por lo que no existe evidencia, según la investigación realizada, de la conservación *ex situ* del papayo silvestre y su explotación en programas de mejoramiento o sistemas tradicionales de cultivo. Es por esto el interés y la necesidad de caracterizar y evaluar el papayo silvestre en el país.

2.5. Caracterización de los recursos fitogenéticos de *Carica papaya* L.

El incremento en el uso y conservación de los recursos genéticos en las plantas, hace necesario la caracterización y clasificación detallada de la diversidad existente en ellos

(Gutiérrez y Rincón, 2011). El valor de las colecciones reside en la utilización que de ellas se haga para producir nuevos cultivares o domesticar genotipos para el beneficio humano. Para la caracterización de las accesiones, en el ámbito internacional existen descriptores, de los cuales se deben seleccionar aquellos que faciliten el intercambio de información y material en dependencia del centro o banco de germoplasma y sus objetivos. Usualmente, se utilizan descriptores morfoagronómicos, observaciones fenológicas y marcadores bioquímicos y moleculares (Azofeifa, 2006).

En tal sentido, el desarrollo de metodologías para la caracterización de las accesiones constituye un desafío importante, debido a que son pocos los genotipos de diferentes especies que al reproducirse por semillas de polinización abierta conservan sus características. En el papayo tiene lugar una alta diversidad de prototipos que hace necesario la caracterización para su mejor manejo agronómico y empleo en los bancos de germoplasma (Rodríguez *et al.*, 1995).

La correcta caracterización de genotipos de papayo resuelve problemas de duplicados, muy frecuentes en todas las colecciones; además, proporciona información imprescindible para otros bancos de germoplasma e instituciones interesados en el material disponible. La descripción debe basarse en caracteres cuya determinación sea objetiva, su expresión esté muy ligada al genoma y sean lo más discriminantes posible (Unda, 2013). Uno de los problemas fundamentales que se afronta en la producción de papaya, es el bajo número de materiales promisorios con características morfoagronómicas de calidad para su explotación comercial, así como la accesibilidad a los mismos (Moreira y Párraga, 2015).

2.5.1. Descriptores morfoagronómicos

La caracterización morfológica fue el primer método en utilizarse para la descripción del material vegetal presente en los bancos de germoplasma (Rodríguez, 2014; Villarreal, 2013). Esta unido a la caracterización agronómica, en genotipos de importancia, es trascendental para establecer programas eficientes en la mejora genética del cultivo (Asare, *et al.*, 2011; Turyagyenda *et al.*, 2012).

En Brasil, se realizaron diversos estudios en cultivares híbridos y locales de papayo, para identificar los descriptores morfoagronómicos de mayor contribución a la variación, debido a la falta de información relacionada con el número mínimo de descriptores que permiten la caracterización de los genotipos (Oliveira *et al.*, 2011). También, mediante descriptores morfoagronómicos se caracterizaron 21 materiales promisorios de *C. papaya* en Ecuador, lo que demostró la existencia de genotipos diferentes, por lo que recomendaron repetir la caracterización en distintos ambientes para conocer su comportamiento ante la influencia de diversos factores abióticos y bióticos. Además, realizar estudios moleculares para establecer diferencias genéticas entre las plantas colectadas (Moreira y Párraga, 2015).

En Cuba, se utilizaron los marcadores morfológicos para caracterizar accesiones de papayo en el banco de germoplasma, con el objetivo de poder evaluar la diversidad de las accesiones (Alonso *et al.*, 2007; 2008a; 2008b; 2008c).

En este caso, los resultados mostraron adaptación de las accesiones a las condiciones de cultivo, en base a las características descriptivas de las plantas, lo que representó un gran avance para el desarrollo de futuros programas de mejora en papayo y para su utilización con fines comerciales. Ruiz *et al.* (2012), también caracterizaron híbridos y cultivares de papayo que permitieron demostrar la diversidad genética existente y diferenciar híbridos con características positivas para criterios de selección.

Los marcadores morfológicos, a pesar de su utilidad, presentan la desventaja de que su expresión está influenciada por las condiciones ambientales y la interacción génica (epístasis). Con frecuencia, estos marcadores solo es posible evaluarlos a nivel de la planta, cuando esta llega al estado adulto (Fernández, 2004). De ahí que para la mayoría de los frutales tropicales esto implica una demora de varios años en tareas relacionadas con la caracterización (Azofeifa, 2006).

No obstante, los marcadores morfológicos resultan útiles en la identificación de materiales, dado que representan un conjunto de genes que pueden ser evaluados con métodos sencillos y a bajo costo. Es de señalar, que las limitaciones de estos marcadores se revierte con el uso de los marcadores moleculares (Cornide, 2002).

2.5.2. Marcadores moleculares

En las últimas décadas, debido a los avances en la biología molecular, se desarrollaron métodos de identificación y caracterización basados en el uso de marcadores moleculares, de alta relevancia para la caracterización de las especies (Rodríguez, 2014). A través de estos marcadores se solucionaron algunos inconvenientes que surgen cuando se emplean únicamente descriptores morfológicos, en la caracterización de las accesiones, como la influencia ambiental, etapa de desarrollo de la planta, época del año, entre otras.

La caracterización molecular es de mayor sensibilidad para detectar cambios en el genotipo, y de este modo eliminar errores que pueden ocurrir durante la colecta, el transporte, la propagación y la conservación de los materiales (Fernández, 2004). Además, permite identificar posibles duplicados dentro de las colecciones y establecer las similitudes entre las entradas que forman las mismas, información a considerar al crear las estrategias para futuras colectas e intercambio de germoplasma.

Los marcadores moleculares, además de utilizarse para complementar los estudios donde los marcadores morfológicos proporcionan resultados limitados, se emplean para acelerar los programas de mejoramiento, estudios dentro de las diferentes especies y la distribución de esa diversidad entre regiones geográficas (Fernández, 2004; Valdés-Infante *et al.*, 2008).

Existen diferentes tipos de marcadores moleculares. Dentro de estos, los RAPD que amplifican regiones anónimas, se definen como marcadores dominantes. En este caso, cada fragmento corresponde a un locus bi-alélico, que es leído como presencia o ausencia de un producto amplificado.

Las primeras evaluaciones con marcadores moleculares en caricáceas, se realizaron en la segunda mitad de la década de los 90 del pasado siglo, cuando Morshidi (1996), en base al análisis de electroforesis de aloenzimas, informó acerca de los bajos niveles de variación genética en papayo cultivado, en Centro y Sudamérica. Los resultados se confirmaron mediante isoenzimas y marcadores moleculares RAPDs, encontrándose significativas diferencias entre *C. papaya* cultivada y las silvestres de Sudamérica. Estos estudios

constituyeron los primeros de las relaciones genéticas entre *C. papaya* y *Vasconcellea spp.* (Jobin-Décor *et al.*, 1997).

En esta misma especie, los marcadores RAPD se utilizaron además, para la caracterización de 29 materiales de *Caricaceae* colectados en Ecuador, así como en poblaciones silvestres de esta familia evaluadas en Venezuela (Morales *et al.*, 2004; Vegas *et al.*, 2006). También a través de los marcadores RAPD se caracterizaron 73 accesiones de dos géneros de *Caricaceae* (*Carica* L. y *Vasconcellea* St. Hil), conservadas en campo y colectadas en zonas del centro occidental y oriental de Venezuela (Medina *et al.*, 2010).

Es por ello que la técnica de RAPD constituye una herramienta confiable para la caracterización molecular de plantas silvestres de *C. papaya*, para determinar si existe variabilidad genética, evitar duplicados en el banco de germoplasma, además de conocer si se erosionaron mediante cruzamientos con cultivares comerciales.

Los marcadores moleculares RAPDs se emplearon también, en estudios del Virus de la mancha anular del papayo y del Cogollo arrepollado en accesiones cubanas de papayo (Rodríguez *et al.*, 2013; Hernández *et al.*, 2014), así como, en estudios relacionados con el sexo de las plantas (Aspeitia *et al.*, 2014; Posada, 2016). Estos marcadores genéticos son los más utilizados en *C. papaya* (Vegas *et al.*, 2015).

No obstante, en Cuba el genotipo 'Enana FB 2000' obtenido a partir de radiaciones aplicadas a semillas de 'Maradol Roja', se caracterizó a través de marcadores de Polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLP por sus siglas del inglés *Amplified Fragment Length Polymorfism*) y descriptores morfológicos (MINAG, 2004). Asimismo, cebadores AFLP fueron utilizados para evaluar la diversidad de las accesiones de papayo existentes en el banco de germoplasma cubano (Alonso *et al.*, 2009b). Estos autores recomendaron prospectar y seleccionar accesiones locales, así como introducir nuevos genotipos foráneos como vías fundamentales para aumentar la diversidad genética existente en el banco de germoplasma de *C. papaya* en el país.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Aspectos generales

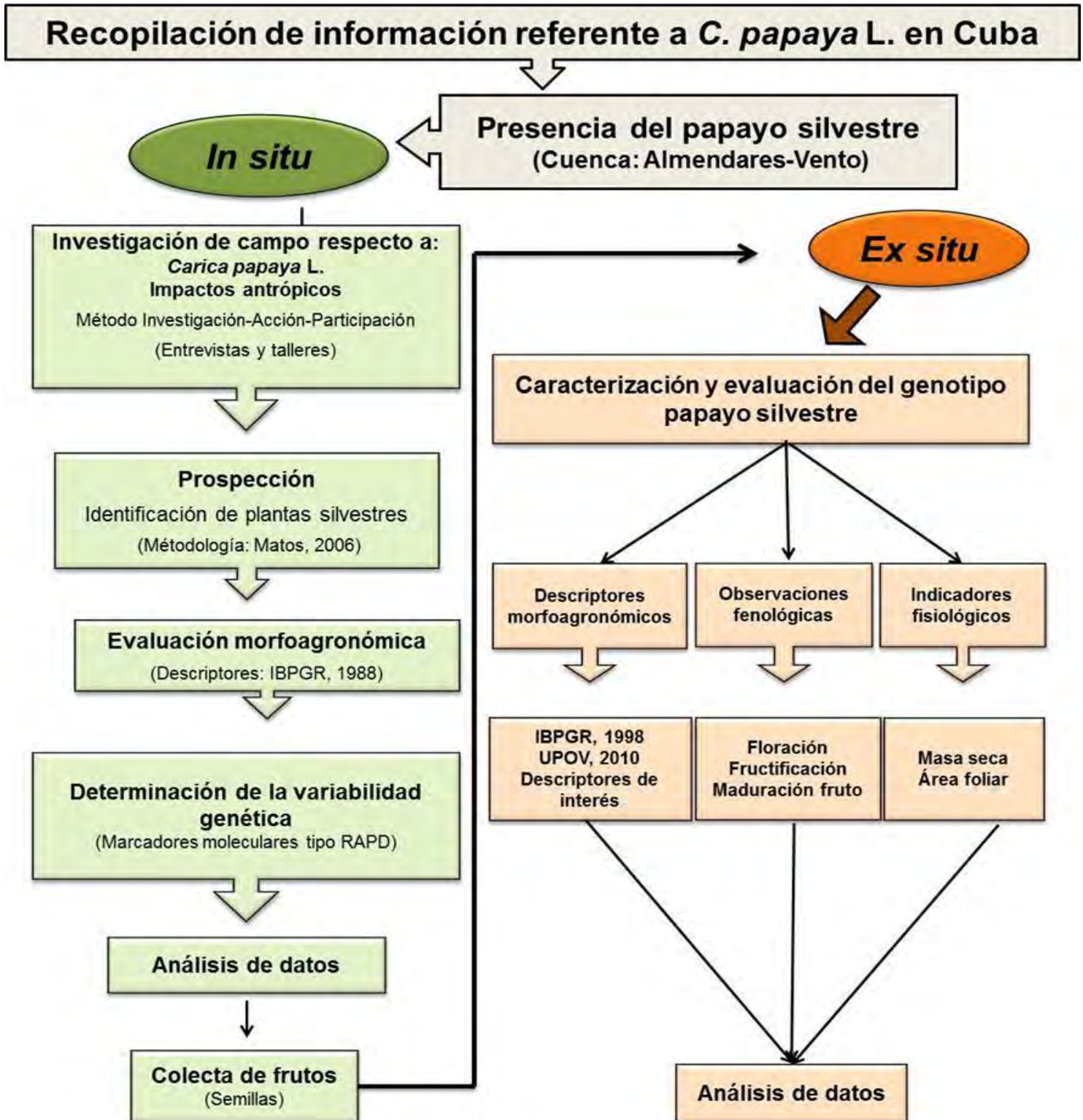
La investigación se desarrolló en el período comprendido entre 2008 y 2013, y consistió en un programa que contó de dos fases **(i) *in situ***: investigaciones de campo, prospección de plantas de papayo silvestre, evaluación morfoagronómica, determinación de la variabilidad genética mediante marcadores moleculares y colecta de frutos de las plantas identificadas. **(ii) *ex situ***: caracterización del genotipo papayo silvestre colectado, a través de descriptores morfoagronómicos, observaciones fenológicas e indicadores fisiológicos. En la figura 4 se muestra el esquema general de trabajo desarrollado durante las investigaciones.

3.1. Investigación de campo y colecta *in situ* de plantas de *Carica papaya* L. silvestre

La investigación de campo tuvo como objetivo conocer criterios acerca del uso, distribución y amenaza del papayo silvestre en el área de estudio. Para ello se utilizó el método de Investigación-Acción-Participación (Santos *et al.*, 2011; Rodríguez, 2014). El mismo consistió en recopilar la información con respecto al papayo silvestre en la cuenca y retribuir la información a los actores locales mediante la ejecución de talleres y un informe de proyecto.

La prospección del papayo silvestre se realizó en la cuenca Almendares-Vento, perteneciente a la provincia Mayabeque, que ocupa un área de 179 km² (45 %) de su área total (Anexo 1). La cuenca referida es una de las ocho priorizadas por el Consejo Nacional de Cuencas Hidrográficas (CNCH) en Cuba, por el interés nacional en proteger sus recursos naturales, económicos, sociales y urbanísticos, dado el predominio de la fuerte actividad industrial, agropecuaria, residencial y paisajística en la provincia (CNCH, 2003).

Se consideraron los criterios emitidos en los talleres y las entrevistas a 75 actores locales, representantes de más del 10 % del personal vinculado a las áreas prospectadas, reconocidas por su conocimiento referente a la especie *C. papaya* en el territorio. Las opiniones se registraron mediante la conformación de un total de 15 preguntas (Anexo 2),



Leyenda: UPOV-Unión Internacional para la Protección de las Obtenciones Vegetales. IBPGR por sus siglas del inglés International Board for Plant Genetic Resources- Oficina internacional para recursos fitogenéticos en plantas.

Figura 4. Esquema general de trabajo para la caracterización del papayo silvestre (*Carica papaya* L.) en la cuenca Almendares-Vento.

relacionadas con la presencia del papayo silvestre en la cuenca, su nivel de aceptación y los impactos antrópicos que contribuyen a la pérdida de los RRF de este frutal en el área. Para la identificación de las plantas del papayo silvestre *in situ* se empleó la metodología descrita por Matos (2006). Para ello, a partir de la información recopilada, se ubicó en un mapa la región de interés y se seleccionaron las parcelas o cuadrantes para las expediciones. El tamaño de los cuadrantes varió entre 100 y 1 000 m² en dependencia del relieve (Baena *et al.*, 2003).

La prospección del material vegetal se realizó en el período comprendido desde febrero de 2008 hasta mayo de 2009. En las expediciones participaron especialistas del Instituto de Ecología y Sistemática del Herbario de la Academia de Ciencias (HAC), del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), de la Estación de Flora y Fauna Escaleras de Jaruco, del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), de la Estación de Flora y Fauna Escaleras de Jaruco (EFFEJ) y agricultores o personas residentes de forma permanente en la zona seleccionada.

Las plantas se evaluaron de forma individual. Se emplearon descriptores morfoagronómicos (Tabla 1) del IBPGR (1988) y fotografías digitales (Anexo 3). Las evaluaciones a los frutos se realizaron en la fase de madurez, cuando la parte externa cambió su color (Hernández *et al.*, 2007). A las plantas femeninas, cuyos frutos aún no se

Tabla 1. Descriptores morfoagronómicos utilizados para la evaluación del papayo silvestre (*Carica papaya* L.) *in situ*.

Nº IBPGR	Descriptor	Nº IBPGR	Descriptor
4.1	Vegetativos	4.2.11	Forma del fruto
4.1.4	Color del tallo	4.2.12	Color de la corteza del fruto
4.1.5	Presencia de pigmentos en el tallo	4.2.13	Color del mesocarpio del fruto
4.1.6	Presencia de pigmentos en el pecíolo	6.2.13	Número de frutos por planta
6.1.1	Altura de la planta (cm)	6.2.20	Masa promedio del fruto (g)
6.1.2	Diámetro del tallo (cm)	6.2.21	Diámetro polar (cm)
DI	Número de hojas	6.2.22	Diámetro ecuatorial (cm)
4.2	Inflorescencia y frutos	6.2.24	Grosor del mesocarpio (cm)
4.2.7	Color de las flores masculinas	6.5.6	Sólidos solubles (°Brix)
4.2.8	Color de las flores femeninas	6.5.8	Acidez total (%)

encontraban maduros, se les realizó un seguimiento hasta que estos arribaron a la fase requerida, momento en que se recolectaron para su evaluación.

Las semillas para la siembra *ex situ* y su conservación en el banco de germoplasma, ubicado en Jagüey Grande, provincia de Matanzas, se obtuvo de cinco frutos colectados por planta. En las plantas que produjeron menor número de frutos, se utilizaron todos los frutos de la planta. Para la extracción de las semillas se siguió la metodología establecida para el cultivo (MINAG, 2004).

Se colectó una hoja de una planta adulta, para el Herbario de la Academia de Ciencias (HAC), como evidencia de su presencia en la cuenca prospectada, que de acuerdo con Morales y Villalobos (2004), puede ser útil para estudios taxonómicos, ecológicos, ambientales y etnobotánicos.

Análisis de datos: La información registrada a través de las entrevistas, fue llevada a por ciento. Se asumió como 100 % cuando hubo coincidencia en la respuesta de los 75 entrevistados. Para la pregunta *¿es la papaya silvestre de tu gusto?*, se tomó como referencia el 100 % las personas que consumieron papaya silvestre.

El procesamiento de la información obtenida se realizó mediante el análisis matemático no paramétrico Chi cuadrado (X^2), según Little y Jackson (1998). Para el análisis estadístico de la evaluación morfoagronómica se empleó la estadística descriptiva (mínimo, máximo, promedio y desviación estándar), recomendada para los datos provenientes de las plantas heterogéneas identificadas *in situ* (Franco e Hidalgo, 2003).

3.2. Caracterización molecular de las plantas de papayo silvestre colectadas *in situ* mediante el marcador molecular tipo RAPD

La caracterización molecular se realizó en el Laboratorio de Marcadores Moleculares y Bioquímicos del Departamento de Mejora Genética del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura perteneciente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CEBAS-CSIC), Murcia, España. Se caracterizaron molecularmente los genotipos en estudio, mediante la técnica del ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD), basado en la

reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas del inglés *Polymerase Chain Reaction*). Se utilizaron diferentes cebadores, uno en PCR simple y más de uno en PCR múltiple.

Material vegetal: Se colectaron *in situ* hojas jóvenes (aproximadamente 20 cm de longitud) y sanas de 18 plantas en las áreas Escaleras de Jaruco, La Recría y Francisco Javier, pertenecientes a la cordillera Habana-Matanzas. Las colectas se realizaron en horas de la mañana. Las hojas se envolvieron en papel humedecido con agua fría, se depositaron en bolsas de polietileno debidamente identificadas y se colocaron en una mochila térmica para conservarlas hidratadas durante el traslado hacia el laboratorio (Valderrama *et al.*, 2015).

Para conocer la variabilidad genética de estas plantas y su similitud genética con respecto a los cultivares tradicionalmente explotados en la cuenca, se incluyeron muestras de 'Maradol Roja', 'Criollo' y '1500'. Las hojas colectadas se liofilizaron en un equipo *Pharma Lyophilizer (Pharma Biotek, Chennai, India)* y se conservaron a 4°C hasta el aislamiento del ADN.

Aislamiento del ADN genómico: para el aislamiento del ADN, a partir de las muestras liofilizadas, se utilizó la metodología descrita por Doyle y Doyle (1987). Se tomaron 40 mg de cada muestra liofilizada, se pulverizó con un vibrador y dos balines de acero, sin uso de nitrógeno líquido en tubos de microcentrífugas de 2 mL. Posteriormente se agregaron 750 µL de tampón de extracción CTAB (2 % CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl pH 8,0 y 2 % PVP 40).

Las muestras se homogenizaron mediante agitación y se incubaron en baño de maría a 65°C durante 15 minutos y se mezclaron con igual volumen de cloroformo: alcohol isoamílico (24:1 v/v). Se homogenizaron nuevamente y se centrifugaron a 6 000 g durante 20 minutos.

El sobrenadante se vertió en tubos de microcentrífuga (eppendorf) de 1,5 mL y se mezcló con igual volumen de isopropanol a -20°C. El ADN precipitado de cada una de las muestras se lavó con 400 µL de tampón de lavado (10 mM NH₄Ac en etanol al 76 %), conservado a

-20°C, invirtiendo cuidadosamente una o dos veces. El ADN se dejó reposar a 4°C durante una hora.

El producto se centrifugó a 6 000 g durante 5 min, se decantó el sobrenadante y se secó a temperatura ambiente. El ADN se resuspendió en 50 µL de tampón TE1X. Posteriormente se incubó con 0,5 µg de RNAsa a 37°C durante 30 minutos para digerir el ARN. La cuantificación y calidad de las muestras se realizó mediante un Biofotómetro (Eppendorf, Barcelona, España) y electroforesis en gel de agarosa al 0,8 % en tampón 1X TBE.

a) Selección de los cebadores RAPDs

Se probaron 19 cebadores RAPDs arbitrarios de *Operon Biotechnologies (Huntsville, USA)*, disponibles en el laboratorio para estudios de especies frutales del mediterráneo (Anexo 4). Se seleccionaron los cebadores que generaron bandas en cuatro muestras tomadas al azar.

Preparación de la mezcla maestra: la mezcla de amplificación para un volumen total de 20 µL estuvo compuesta por 1X tampón (Biolabs) 10X (Tris HCl 75 mM pH 9, KCl 50 mM, (NH₄)₂SO₄ 20 mM), 1 mM MgCl₂; 0,16 mM dNTP; 1,0 U de *Taq* ADN polimerasa (*New England Biolabs, Ipswich, USA*) y 4 ng de ADN genómico. Se utilizó 0,4 µM de cada cebador (10 mM) ya fuese solo o combinado y se ajustó al volumen final con agua.

Amplificación del ADN (PCR): las reacciones se realizaron en un termociclador I-Cycler (*Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EE.UU.*). Se siguió un programa con el siguiente perfil de temperatura: un paso inicial de desnaturalización de 4 min a 94°C; seguido de 35 ciclos, compuestos por una etapa de desnaturalización de 1 min a 94°C, una de hibridación a 35°C durante 1 min y una extensión a 72°C durante 1 min, la finalización del programa se realizó con un ciclo de extensión final a 72°C durante 10 min.

Separación de los productos RAPD: los productos amplificados se separaron mediante electroforesis horizontal en gel de agarosa al 2 % (Gel Red Nucleic Acid Gel Sating®, Biotium, *Hatwad, CA, USA*) en tampón 1X TBE. Se corrieron en cámara electroforética, a temperatura ambiente y a 100 V, con el marcador de masa molecular estándar de 1 Kb

ADN Ladder (*Invitrogen Life Technologies*, Barcelona, España). Previo a la carga del gel, se añadió a cada amplificación 2 μL de tampón de carga de tinción 1X.

Visualización de los productos: luego de la tinción de los geles con bromuro de etidio (0,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$), la visualización de los fragmentos amplificados de ADN se realizó bajo un transiluminador de luz ultravioleta (312 nm). Los productos amplificados se fotografiaron de forma computarizada mediante el programa *Gene Tools* de *SYNGENE* (*Beacon House, Nuffield Road, Cambridge, UK*). Las reacciones se repitieron dos veces para eliminar las variaciones en cada electroforesis y asegurar las bandas polimórficas seleccionadas.

b) Amplificación del ADN de los genotipos en estudio mediante los cebadores RAPDs seleccionados

La amplificación del ADN de las 18 plantas silvestres identificadas y de los tres cultivares de papayo, se realizó con los cebadores RAPDs seleccionados. Además se combinaron dos o tres cebadores con el empleo de múltiples análisis de PCR (OPY-13/OPB-07, OPY-13/OPB-07/OPA-07, OPZ-13/OPW-12, OPZ-13/OPW-12/OPN-14, OPW-13/OPR-16 y OPW-13/OPR-16/OPR-15). Con la PCR múltiple se persiguió amplificar simultáneamente en un único tubo distintas secuencias específicas de ADN (Méndez y Pérez, 2012). Se creó una matriz binaria a partir de las bandas nítidas observadas, a las que se le asignó valores “0”- ausencia y “1”- presencia.

Análisis de datos de la Amplificación del ADN mediante los cebadores RAPDs: se determinó el número de bandas por cebador, el número de bandas polimórficas, la media de las bandas por cebador y el Contenido de información polimórfica (PIC por sus siglas del inglés *Polymorphism Information Content*), mediante la fórmula sugerida por Powell *et al.* (1996), con la siguiente expresión: $\text{PIC}_i = 1 - \sum P_{ij}^2$, donde P_{ij} es la frecuencia del alelo j para el marcador i .

Con la matriz binaria generada, se determinó la similitud genética de los genotipos de papayo estudiados. Estos se agruparon en base a sus relaciones de similitud genética a través del método de las medias aritméticas por grupo no ponderadas (UPGMA), a partir de

la matriz de similitud obtenida de la proporción de fragmentos comunes, según el coeficiente de Nei y Li (1979). La línea de corte para la formación de los grupos de plantas se estableció en base al criterio del investigador (Núñez y Escobedo, 2011; Rodríguez, 2014). Estos cálculos se efectuaron a través del programa MEGA 4 (Tamura *et al.*, 2007). La fiabilidad de los grupos obtenidos en el dendrograma se evaluó mediante el análisis de remuestreo (bootstrap) (2 000 réplicas) con el paquete estadístico TREECON ver.1.3b (van de Peer y De Wachter, 1994).

3.3. Caracterización *ex situ* del genotipo papayo silvestre

Para la caracterización *ex situ* se emplearon semillas (pool) provenientes de frutos colectados *in situ* de plantas que habitan silvestres en las áreas Escaleras de Jaruco, La Recría y Francisco Javier (genotipo silvestre), y semillas certificadas de ‘Maradol Roja’. Este cultivar se eligió como control de referencia por estar caracterizado y ser el de mayor importancia económica en Cuba y países del área, debido a su alto rendimiento y demanda (Trujillo y Cubillas, 2011).

La siembra de los experimentos se realizó en dos períodos (“invierno” y “verano”) entre los años 2010 y 2012. Las semillas se pregerminaron según lo recomendado por MINAG (2004), y se sembraron en bolsas de polietileno negro de 12,5 cm de ancho y 20 cm alto. El sustrato estuvo compuesto por una mezcla de suelo Ferralítico Rojo Lixiviado, degradado (Hernández *et al.*, 2013) y cachaza descompuesta con contenido de 2,3 % y 15,9 % de Materia Orgánica, respectivamente, en proporción 3:1 v/v. Las bolsas se ubicaron al sol en un vivero de 1 m de ancho por 3 m de longitud, en áreas del INCA. Se realizaron las atenciones culturales recomendadas por el Instructivo Técnico para el cultivo del papayo (MINAG, 2011a).

En el período de “invierno”, la siembra en bolsa se realizó en enero de 2010 y 2011. En las condiciones de Cuba la etapa óptima de siembra de este frutal es de noviembre a febrero, la que coincide con las bajas temperaturas y la menor incidencia de plagas vectores de las enfermedades virales (MINAG, 2011b). En el período de “verano” la siembra se efectuó en

mayo de 2010 y 2011, cuando la temperatura comenzó a ascender, de modo que el trasplante y la fase fenológica de crecimiento y desarrollo coincidieron con meses de mayor temperatura y precipitaciones en el país (Castro *et al.*, 2000).

Cuando las plantas alcanzaron entre 12 y 15 cm de altura, se trasplantaron en el área experimental del Departamento de Servicios Agrícolas del INCA, en un suelo con similares características al anteriormente citado. Para los experimentos se empleó un arreglo factorial bajo un diseño de bloques al azar con cuatro réplicas de tres surcos y 40 plantas en cada uno. Se consideraron: factor 1- genotipo, factor 2- período de siembra y factor 3- año. Se empleó un marco de plantación de 3 x 1,5 m (MINAG, 2011b). Para las evaluaciones se utilizaron las 20 plantas centrales de cada réplica.

El comportamiento de las variables climáticas, temperatura, humedad relativa, vientos y precipitaciones que incidieron durante el desarrollo de los experimentos se tomaron de la Estación Meteorológica de Tapaste (Anexo 5), ubicada aproximadamente, a 500 m del área experimental. Las atenciones culturales se realizaron según lo recomendado por el Instructivo Técnico para el cultivo del papayo (MINAG, 2011a).

3.3.1. Caracterización morfoagronómica mediante descriptores cualitativos

La caracterización morfoagronómica del genotipo silvestre se realizó mediante 25 descriptores cualitativos para *C. papaya* (IBPGR, 1988; UPOV, 2010). Se incluyeron descriptores de interés (DI), en la caracterización de la especie por su importancia en el manejo del cultivo y para la selección de progenitores (Alonso *et al.*, 2008b; Trujillo y Cubilla, 2011).

La recolección de los frutos dependió de su coloración externa, considerándose el grado de madurez adecuado, cuando en el fruto aparecieron tres o cuatro rayas amarillas o cambió de color en algunas partes (Hernández *et al.*, 2007; Alonso *et al.*, 2008b). Las evaluaciones se realizaron en cinco frutos colectados del tercio medio de cada planta, cuando los frutos perdieron la coloración verde en el 100 % de la superficie del fruto. Para la caracterización se emplearon 24 descriptores cualitativos (Tabla 2). En los caracteres color y firmeza en la corteza y del mesocarpio del fruto se emplearon instrumentos de precisión.

Tabla 2. Descriptores cualitativos empleados en la caracterización del genotipo papayo silvestre (*Carica papaya* L.)

N° IBPGR	Descriptor
Vegetativo	
4.1.4 IBPGR	Color del tallo
4.1.5 IBPGR	Pigmentos en el tallo
4.1.6 IBPGR	Pigmentos en el pecíolo
4.1.7 IBPGR	Forma de las hojas
6.1.7 IBPGR	Forma de los bordes foliares
10. UPOV	Presencia de lóbulos terciarios
Flores	
4.2.2 IBPGR	Tipo de floración
4.2.3 IBPGR	Color del tallo de la inflorescencia
4.2.7 IBPGR	Color de las flores masculinas
4.2.8 IBPGR	Color de las flores femeninas
6.2.1 IBPGR	Densidad de inflorescencias en el tallo
6.2.2 IBPGR	Densidad de flores por inflorescencia
1. DI	Sexo de las plantas
Frutos	
4.2.11	Forma de los frutos
4.2.12	Color de la corteza del fruto
4.2.13	Color de la pulpa del fruto
6.2.16	Forma del extremo del pedúnculo del fruto
6.2.17	Forma del extremo distal del fruto
6.2.23	Forma de la cavidad central del fruto
2. DI	Firmeza de la corteza
30. UPOV	Firmeza de la pulpa
Semillas	
6.3.3 IBPGR	Forma de las semillas
37. UPOV	Color de las semillas
41. UPOV	Posición de la parte más ancha de la semilla
3. DI	Enfermedades

Leyenda: DI-Descriptores de interés

Para determinar el color se utilizó un colorímetro Minolta modelo CR-200 (Instruments Inc. (Highland Industrial Park, Inglaterra). Los datos se expresaron en valores L^* (luminosidad), a^* y b^* (coordenadas del color), de la escala CIELAB (McGuire, 1992).

En cada fruto se hicieron seis lecturas en la corteza que correspondieron al área cercana al pedúnculo, al centro y al área cercana al ápice en los dos lados opuestos del mismo. Cada fruto se dividió en dos partes, de forma longitudinal y se evaluó el color del mesocarpio en la parte media entre la corteza y la cavidad central en las zonas donde se evaluó el color de la corteza.

La firmeza de la corteza del fruto se determinó en tres puntos equidistantes, entre la altura del tercio medio y por debajo de la región ecuatorial. Para el mesocarpio se dividió el fruto en dos partes iguales, en sentido transversal próximo al medio, y se realizaron las mediciones directamente en el mesocarpio. En ambos casos, las mediciones se realizaron por la resistencia a la penetración, mediante un penetrómetro digital de mesa (*Fruit Pressure Tester, Taly*; model 53205) con 8 mm x 8 mm Instruments Inc. (Highland Industrial Park, Inglaterra). Los resultados se expresaron en kgf cm^{-2} (Magalhães *et al.*, 2008).

3.3.2. Caracterización morfoagronómica mediante descriptores cuantitativos

Para los caracteres cuantitativos se emplearon 41 descriptores (Tabla 3). Las evaluaciones de la calidad del fruto se realizaron en cinco frutos colectados del tercio medio de la planta. Los sólidos solubles ($^{\circ}\text{Brix}$) se determinaron mediante un refractómetro digital modelo NR-151 Instruments Inc. (Highland Industrial Park, Inglaterra). Para la acidez titulable se utilizó la metodología propuesta en la norma COVENIN N° 1151-77, por medio de titulación directa con NaOH (0,1 N). Para determinar el pH se utilizó un pH-metro Hanna Instruments Inc. (Highland Industrial Park, modelo HI 8418 A/D, Inglaterra).

Para determinar el contenido de vitamina C se tomaron 5 g de muestra de la pulpa de cada fruto y se mezclaron con 10 mL de una solución valorada de ácido metafosfórico-ácido acético. Posteriormente la solución se tituló con 2,6-diclorofenolindofenol hasta mantener el

Tabla 3. Descriptores cuantitativos empleados en la caracterización del genotipo papayo silvestre (*Carica papaya* L.)

Número Descriptor	Descriptor
Vegetativo	
6.1.1. IBPGR	Altura de la planta (cm)
6.1.2. IBPGR	Diámetro del tallo (cm)
6.1.3. BPGR	Altura de la primera flor (cm)
6.1.4. IBPGR	Longitud del pecíolo (cm)
6.1.5. IBPGR	Longitud del limbo (cm)
6.1.6. IBPGR	Ancho del limbo (cm)
6. UPOV	Distancia entre nudos (cm)
9. UPOV	Relación longitud/ancho del limbo
1. DI	Frecuencia en la emisión de hojas
2. DI	Número de hojas
3. DI	Número de lóbulos
4. DI	Volumen de la copa (cm) ³
5. DI	Longitud de la raíz al trasplante (cm)
Flores	
6.2.10. IBPGR	Número de flores masculinas por inflorescencia
6.2.14. IBPGR	Longitud del pedúnculo de la flor masculina (cm)
6.2.14. IBPGR	Longitud del pedúnculo de la flor femenina (cm)
15. UPOV	Longitud del eje central de la inflorescencia masculina (cm)
15. UPOV	Longitud del eje central de la inflorescencia femenina (cm)
17. UPOV	Longitud de la flor masculina (cm)
17. UPOV	Longitud de la flor femenina (cm)
6. DI	Número de racimos florales masculinos
7. DI	Número de racimos florales femeninos
8. DI	Número de flores femeninas por inflorescencia
9. DI	Diámetro de la flor masculina (cm)
10. DI	Diámetro de la flor femenina (cm)
Frutos	
4.2.14. IBPGR	Rendimiento por planta (kg)
6.2.13. IBPGR	Número de frutos por planta
6.2.20. IBPGR	Masa promedio del fruto (g)
6.2.21. IBPGR	Diámetro polar del fruto (cm)
6.2.22. IBPGR	Diámetro ecuatorial del fruto (cm)
6.2.24. IBPGR	Grosor del mesocarpio del fruto (cm)
6.5.6. IBPGR	Sólidos solubles totales (°Brix)
6.5.8. IBPGR	Acidez total (%)
22. UPOV	Relación largo/ancho del fruto
11. DI	Fructificación (%)
12. DI	pH
13. DI	Contenido de ácido ascórbico (Vitamina C)
Semillas	
36. UPOV	Número de semillas por fruto
38. UPOV	Diámetro polar de las semillas (mm)
39. UPOV	Diámetro ecuatorial de las semillas (mm)
14. DI	Masa de 100 semillas (g)

Leyenda: DI- Descriptor de interés

color rosa durante al menos cinco segundos, se registró el volumen utilizado y los cálculos se realizaron según AOAC (2000). Los valores se expresaron como porcentaje de la masa fresca de la pulpa de frutos en estado de madurez de consumo ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$ de pulpa).

La estimación del rendimiento por hectárea en el genotipo silvestre se realizó para las plantas femeninas, que se corresponden con el 90 % de las plantas totales en el área. Se tuvo presente que son plantas dioicas, por lo que el 10 % de las plantas restantes son masculinas (Gaitán *et al.*, 2006).

a) Variabilidad de los descriptores evaluados

Se emplearon los estadígrafos descriptivos promedio de cada carácter, desviación estándar (DS) y coeficiente de variación (CV) de los dos años en sus respectivos períodos de siembra.

b) Caracterización del genotipo papayo silvestre con el empleo de los descriptores de mayor contribución a la variabilidad

Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) basado en la matriz de correlación de Pearson, con el propósito de seleccionar los descriptores cuantitativos de mayor contribución a la variabilidad total (Navarro *et al.*, 2010). Los autovectores se seleccionaron de acuerdo a los valores más próximos al mayor valor y a la contribución en porcentaje de cada eje a la variabilidad total (Fundora *et al.*, 1992). Se seleccionaron los descriptores con valores de contribución igual o superior al 70 % (Pardo y Ruíz, 2002). Con el empleo de los descriptores cuantitativos seleccionados, por su mayor contribución a la variabilidad, se procedió a la caracterización del genotipo silvestre.

c) Observaciones y diagnóstico prescriptivo de plantas afectadas por el Virus de la mancha anular del papayo (PRVS) y Cogollo arpeollado (PBT)

Para conocer la presencia de PRSV y PBT se observaron en los diferentes órganos de la planta los síntomas característicos de estas enfermedades. Las evaluaciones se realizaron en todas las plantas en las fases fenológicas de floración, fructificación y maduración del fruto. Se empleó la fórmula de Cooke (2006) para determinar su incidencia.

$$I(\%) = \frac{n}{N} * 100$$

Donde:

I: incidencia de la enfermedad en el campo (%)

n: total de plantas afectadas

N: total de plantas muestreadas.

Se utilizó una escala para evaluar la presencia del PRSV (Hernández *et al.*, 2003), la que se modificó con la incorporación de los síntomas del PBT (Anexo 6). Esta escala abarca desde 1, que representa plantas asintomáticas, hasta 6 que se caracteriza por la presencia de síntomas muy severos en las plantas, en más del 81 % de su área foliar. Se consideró planta enferma la que mostró síntomas visuales de PRSV, PBT o ambos.

Análisis de datos: En la caracterización morfoagronómica, los descriptores cualitativos donde no se emplearon instrumentos electrónicos, se describieron con la ayuda de imágenes fotográficas y se determinaron los valores porcentuales. Para el resto de los descriptores cualitativos y los cuantitativos se realizaron ANOVA Trifactorial (genotipo x período x año), e intervalos de confianza al 95 % para el porcentaje de plantas afectadas por las plagas, mediante el paquete estadístico para *Windows Statistical Package for the Social Science*, versión 21 (SPSS, 2012).

3.4. Estudio fenológico del genotipo papayo silvestre

Se determinó el tiempo desde la siembra de las semillas pregerminadas en bolsas de polietileno hasta que el 70 % o más de las plantas alcanzaron la fase fenológica de floración, fructificación y maduración del fruto. Las observaciones se realizaron cada tres días a partir del comienzo de cada fase fenológica. Se consideró el fruto maduro cuando cambió su color y aparecieron franjas o tonalidades amarillas en aproximadamente, el 25 % del fruto (Arrieta y Carrillo, 2002).

Luego de definir el tiempo necesario para que cada genotipo alcanzara las fases fenológicas, se determinaron las unidades de calor (UC) acumuladas desde la siembra hasta que los genotipos alcanzaron cada una de las fases fenológicas observadas. Para

ello se utilizó la información meteorológica referente a las temperaturas diarias durante el desarrollo de los experimentos (Anexo 7) y la fórmula de Rawson y Gómez (2001):

$$UC = \Sigma T_{prom} - T_{base}$$

Donde: ΣT_{prom} : sumatoria de la temperatura promedio diaria entre fases fenológicas y, T_{base} : es la temperatura base. Se tomó como temperatura base 15°C (da Silva *et al.*, 2007).

Análisis de los datos: Se comparó el genotipo silvestre y 'Maradol Roja' en cada fase fenológica evaluada, durante los dos períodos de siembra y dos años. Se realizó análisis estadístico mediante intervalos de confianza al 95 %, con el empleo del paquete estadístico para *Windows Statistical Package for the Social Science*, versión 21 (SPSS, 2012).

3.5. Estudio fisiológico del genotipo papayo silvestre

Acumulación de biomasa y superficie foliar

Las evaluaciones para determinar la biomasa y superficie foliar se realizaron mediante muestreos destructivos en cinco plantas representativas en el momento del trasplante y en las fases fenológicas de floración y fructificación en el período de "invierno" y de "verano" de los años 2010 y 2011. Los órganos (tallo y hojas) se separaron y luego se secaron en una estufa de recirculación de aire (modelo BGZ-23, China), a 80°C durante 72 h, hasta llegar a masa constante. Para calcular la masa seca total, se sumó la masa seca de los diferentes órganos de la planta ($g \cdot planta^{-1}$).

El análisis de la superficie foliar se realizó de forma directa, con auxilio de imágenes fotográficas digitales y un programa para el procesamiento de imágenes (Rincón *et al.*, 2012), con algunas modificaciones que permite determinar el área foliar en superficies de grandes dimensiones (Figura 5). Se empleó un rectángulo de cartón fino (20 x 25 cm) como muestra de referencia, la que se midió con una regla graduada.

Las hojas de cada planta evaluada y el área de referencia se fotografiaron sobre un fondo blanco. Para ubicar las hojas al momento de tomar las fotografías se empleó un punto en el centro del área del fondo para que este coincidiera con el centro del área de referencia y de

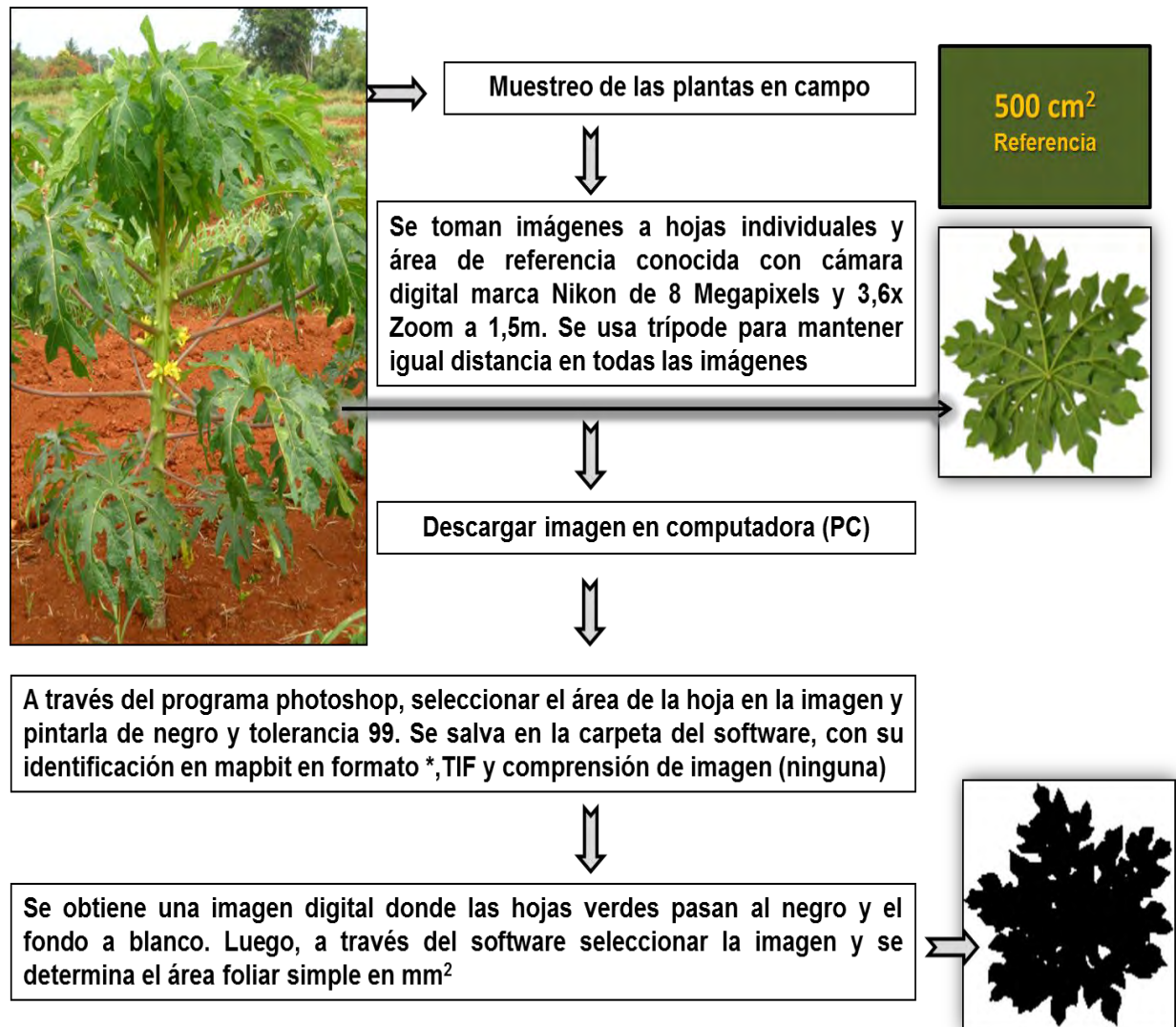


Figura 5. Metodología para determinar el área foliar en *C. papaya* mediante fotografía digital y programa *software* Idrisi® para procesamiento de imágenes (ImageJ Versión 1.45)

las hojas. La cámara se fijó sobre un soporte universal a 1,5 m de altura. El procesamiento de las imágenes se realizó con el programa Photoshop y luego se abrieron en el software libre ImageJ Versión 1,45 (Rasband, 2007), donde se determinó el área foliar simple.

Análisis de los datos: Para determinar la biomasa y la superficie foliar en los genotipos evaluados y relacionarlos con los años y los períodos de siembra, se realizó un ANOVA Trifactorial (genotipo x período x año) mediante el paquete estadístico para *Windows Statistical Package for the Social Science*, versión 21 (SPSS, 2012).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Investigación de campo y colecta *in situ* de plantas de *Carica papaya* L. silvestre

La información relacionada con la presencia del papayo silvestre en la cuenca Almendares-Vento, la aceptación de sus frutos para el consumo y los principales impactos antrópicos que inciden en el área prospectada, a partir de las entrevistas realizadas, se muestra en la figura 6.

Para la mayoría de los entrevistados (99 %) los frutos de *C. papaya* son de su gusto para el consumo fresco, lo que puede estar dado por su alto contenido en azúcares que le confiere un sabor agradable. Al respecto, Lobo (1995) y Santamaría *et al.* (2015) señalaron que en la papaya madura predominan la sacarosa (48,3%), seguido de glucosa (29,0%), y fructosa (21%), trazas de pseudoheptulosa. Sin embargo, en este estudio solamente el 56 % de los entrevistados consumieron papaya silvestre, pero de ellos al 98 % les gustó. Esto indica que estos frutos pueden ser aceptados en el consumo fresco.

Las entrevistas revelaron que la población local no observó plantas de papayo silvestre en las zonas bajas o menos onduladas de la cuenca Almendares-Vento, ni en Lomas Camoa y Lomas Nazareno. El 47 % de los entrevistados encontraron plantas de papayo silvestre en la zona alta del nacimiento de la cuenca, en áreas de la cordillera Habana-Matanzas. Sin embargo, en los últimos 10 años, solamente el 28 % de los entrevistados observaron plantas en estas áreas, lo que evidencia una significativa disminución en la población de papayo silvestre.

Asimismo, se conoció la incidencia de impactos antrópicos en el área prospectada (Figura 6). Dentro de los más importantes se debe destacar el incremento de la población humana, debido a las migraciones internas desde otras localidades del país hacia el área de estudio (ONE, 2012). La alta densidad de la población humana en la provincia, incrementó las prácticas agrícolas en diversos cultivos como el maíz (*Zea mayz* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), yuca (*Manihot esculenta* Crantz.), entre otros. Además, favoreció el desarrollo



Figura 6. Resultado de las respuestas a las entrevistas realizadas a la población local de la cuenca Almendares-Vento, referente a la presencia e importancia del papayo silvestre (*Carica papaya* L.) y los impactos antrópicos que afectan su conservación.

de la ganadería bovina, ovina y caprina, que pastorean de forma no controlada y redujeron las áreas de conservación.

Otros impactos negativos en la conservación del ecosistema estudiado son la tala indiscriminada y los incendios forestales. De acuerdo con la ONE (2012), esta provincia se encuentra entre las primeras en la incidencia de incendios forestales, donde el mayor porcentaje se atribuye a causas humanas. Diversos aspectos sobre la influencia negativa en la conservación de recursos naturales en el área protegida Escaleras de Jaruco, debido a la presencia de impactos antrópicos, fueron observados por otros autores (Oviedo *et al.*, 2008).

Además, en este estudio se apreció que existe acceso a las áreas de conservación por diversas vías de comunicación mediante caminos y carreteras. Las principales amenazas a la diversidad biológica, en las regiones de desarrollo sostenible, provienen de incendios forestales, prácticas agrícolas, desarrollo de la ganadería y la influencia del cambio climático. Estos impactos antrópicos de mayor incidencia en la cuenca, se encuentran entre los señalados por Pérez (2015).

Es de destacar que aunque en menor porcentaje, se informó la siembra de cultivares comerciales de papayo en el área de reproducción natural del papayo silvestre y la introducción en estas áreas de frutos comerciales para el consumo. Estas prácticas sin el adecuado control de las semillas desechadas que, generalmente, son arrojadas a patios o vertederos, constituyen un aspecto negativo en la conservación del papayo silvestre. Estas semillas germinan y dan origen a nuevas plantas, que pueden favorecer la ocurrencia de polinización cruzada. Este es uno de los aspectos que contribuye a los procesos de erosión genética en las áreas conservadas (PALT, 2009).

A través de la prospección realizada en este estudio, se identificaron 24 plantas de papayo silvestre en tres áreas distantes unas de otras en la cordillera Habana-Matanzas (Tabla 4). Seis de las plantas se identificaron en el área Escaleras de Jaruco, ocho en la zona de La Recría, ubicada en la finca "Aljibe" y 10 en Lomas Francisco Javier. El área prospectada, en

Tabla 1. Evaluación morfoagronómica en plantas de papayo silvestre (*Carica papaya* L.) *in situ* en tres áreas de la cordillera Habana-Matanzas, pertenecientes a la cuenca Almendares-Vento.

Nº planta	Áreas de ubicación de las plantas silvestres	Sexo de las plantas	Altura (cm)	DT (cm)	Nº hojas	Nº frutos	DP (cm)	DE (cm)	Masa (g)	GM (cm)	SST (°Brix)	Acidez total
1	Escaleras de Jaruco	Sin flores	120	4,3	15	–	–	–	–	–	–	–
2	Escaleras de Jaruco	Femenina	403	12,6	17	6	12,8	8,5	294	1,1	13,1	0,02
3	Escaleras de Jaruco	Femenina	346	8,2	27	38	6,9	5,2	188	1	12,3	0,03
4	Escaleras de Jaruco	Femenina	432	6	25	5	4,1	2,4	39,7	0,8	12,5	0,02
5	Escaleras de Jaruco	Masculina	288	4,6	8	–	–	–	–	–	–	–
6	Escaleras de Jaruco	Masculina	195	5,2	9	–	–	–	–	–	–	–
7	La Recría	Sin flores	112	4,3	11	–	–	–	–	–	–	–
8	La Recría	Femenina	371	7,9	19	16	6,6	4,8	97,5	0,9	12,4	0,02
9	La Recría	Femenina	480	8	12	27	5,5	4,1	47,2	0,5	12,2	0,03
10	La Recría	Femenina	205	6,8	9	1	6,8	4,5	106	1	12,7	0,02
11	La Recría	Femenina	506	11,9	17	–	–	–	–	–	–	–
12	La Recría	Masculina	359	6,8	14	–	–	–	–	–	–	–
13	La Recría	Masculina	330	5,5	5	–	–	–	–	–	–	–
14	La Recría	Masculina	277	7,4	19	–	–	–	–	–	–	–
15	Lomas Francisco Javier	Sin flores	237	5,2	12	–	–	–	–	–	–	–
16	Lomas Francisco Javier	Sin flores	134	6,2	19	–	–	–	–	–	–	–
17	Lomas Francisco Javier	Femenina	521	12,5	29	59	12,7	7,8	287	1,2	12,8	0,02
18	Lomas Francisco Javier	Femenina	295	7,7	18	3	9,9	5,1	175	1,2	12,9	0,03
19	Lomas Francisco Javier	Femenina	314	5,1	14	11	12,5	8,4	311	1,9	12,6	0,03
20	Lomas Francisco Javier	Femenina	328	7,9	25	16	4,9	3,8	76,8	0,8	13,1	0,02
21	Lomas Francisco Javier	Femenina	498	10,8	17	19	13,3	8,6	325	1,7	12,6	0,03
22	Lomas Francisco Javier	Masculina	252	3,1	15	–	–	–	–	–	–	–
23	Lomas Francisco Javier	Masculina	240	6	16	–	–	–	–	–	–	–
24	Lomas Francisco Javier	Masculina	212	4,5	13	–	–	–	–	–	–	–
Mínimo			112	3,1	5	1	4,1	2,4	39,7	0,5	12,2	0,02
Máximo			521	12,6	29	59	13,3	8,6	325	1,9	13,1	0,03
Promedio			310,6	7,0	16,0	18,3	8,7	5,7	177,0	1,1	12,7	0,02
DE			118,0	2,6	5,9	16,6	3,4	2,1	105,7	0,4	0,3	0,02
CV			38,0	37,0	37,0	91,1	38,9	36,3	59,7	34,9	2,3	81,5

Leyenda: DT- Diámetro del tallo, DP- Diámetro polar del fruto, DE-Diámetro ecuatorial del fruto, GM- Grosor del mesocarpio del fruto.

general, está enmarcada entre las coordenadas geográficas: 23° 00' 00" N y 23° 03' 27" S, 82° 01' 27" E y 82° 08' 20" O (Anexo 1).

Desde el punto de vista geomorfológico, esta área posee una elevación de 260 m.s.n.m.; de aproximadamente 15 km de largo y 7 km de ancho, ubicada en la provincia Mayabeque, al este de La Habana (Borhidi, 1991). En el resto de las elevaciones y zonas llanas o menos onduladas de la cuenca, no se identificaron plantas de papayo silvestre. Esto pudiera estar relacionado con los impactos antrópicos anteriormente mencionados, que fragmentaron el área hábitat del papayo silvestre, con significativa reducción de las áreas naturales de conservación y pérdida de plantas y semillas botánicas, que pudieron influir en la disminución de la población.

Los resultados evidencian la reducida población del papayo silvestre en la cuenca prospectada, una planta cada 438 ha aproximadamente, y lo limitado de esta zona de conservación, sometida a impactos antrópicos. Debido a esto y a la aceptación de los frutos para el consumo, se destaca la importancia de caracterizar a este recurso fitogenético y desarrollar diferentes acciones con la finalidad de incrementar el número de plantas y garantizar su conservación en las áreas de reproducción natural.

Otro aspecto a señalar es que se apreció variabilidad entre las plantas identificadas en las tres áreas colectadas para el mayor número de los descriptores evaluados, a excepción de los °Brix (Tabla 4). La variabilidad en los descriptores altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas y frutos puede estar dada, en gran medida, a que las semillas que dieron origen a estas plantas, germinaron en diferentes momentos durante el año o en años precedentes a la prospección. Puede ser esta una de las causas que influyeron en que las plantas de papayo se encontraran en diferentes fases fenológicas en el momento de ser identificadas.

También es válido destacar que la variabilidad apreciada en los descriptores referidos anteriormente puede deberse a la influencia del ambiente. Las plantas *in situ* crecen en un ambiente heterogéneo y no todas reciben igual radiación solar.

La temperatura es el factor que determina la duración de las fases fenológicas desde la germinación de la semilla hasta la madurez del fruto (Soto y Hernández, 2012). Según Martínez *et al.* (2002), las plantas necesitan de la luz solar para realizar la fotosíntesis, en un rango comprendido entre los 400 a 700 nm de longitudes de onda, intervalo conocido como radiación fotosintéticamente activa. El rango se corresponde con los puntos críticos de absorción de luz azul y rojo en las clorofilas que absorben entre 600 y 700 nm.

Con respecto a lo anteriormente señalado, Ayala *et al.* (2015) y Casierra y Peña (2015) refirieron que la luz azul es responsable del crecimiento vegetativo, mientras que la luz roja regula la floración, la producción de frutos, contribuye a engrosar el diámetro del tallo y estimula la ramificación. No obstante, los fitocromos absorben luz roja y roja lejana entre 700 y 800 nm.

Cuando las plantas exigentes a la luz, como *C. papaya*, crecen bajo la sombra de otras plantas, reciben luz de las fracciones azul y roja en baja intensidad y mayor proporción de luz roja lejana. En estas condiciones la tasa fotosintética es baja y como respuesta a la sombra, la planta disminuye la producción de hojas, frutos y semillas (Martínez *et al.*, 2002). Además, debido a que reduce la relación entre el rojo y rojo lejano, se favorece la longitud de los entrenudos y crecimiento de las plantas adultas.

De acuerdo con Carrillo (2004), en las plántulas la percepción de luz roja lejana por el fitocromo A, ejerce un efecto antagónico al de los fitocromos fotoestables, que provoca la reducción del alargamiento del vástago. Pero el fitocromo A no abunda en la planta adulta, razón por la cual este fotorreceptor deja de controlar el alargamiento del tallo en esta etapa. Quizás a ello se debió los resultados mostrados en el presente estudio.

El bajo número de hojas por planta es atribuible también, a que las plantas *in situ* están sometidas a déficit hídrico, y para controlar la pérdida de agua por transpiración disminuyen el número de hojas. Además, algunas de estas plantas fructificaron más de una vez, y la senescencia de las hojas más viejas tiene lugar en la medida que la planta crece y envejece.

En estudios desarrollados en México por Romero *et al.* (2013), se obtuvieron resultados semejantes a los observados en esta investigación. El autor planteó que al concluir el período de lluvia, las plantas de papayo silvestre redujeron el número y proporción de las hojas y frutos, como mecanismo de protección ante la deshidratación. Según Castro *et al.* (2000), el número de hojas activas en papayo está en función de la edad de la planta y de las condiciones agrotécnicas donde se desarrolle.

En el presente estudio la variación observada en el número de frutos por planta, se puede relacionar además, con el reducido número de éstas plantas identificadas *in situ*, que dificulta la polinización de las flores, debido a la distancia entre plantas de diferentes sexos y por barreras naturales, fundamentalmente la vegetación y el relieve. De acuerdo con Roque *et al.* (2003), las flores del papayo son polinizadas principalmente por el viento e insectos, de modo que cuando las plantas crecen de forma aislada, en su hábitat natural, muchas de las flores no resultan polinizadas y abortan con influencia negativa en el número de frutos por planta.

Los descriptores diámetro ecuatorial, diámetro polar y masa del fruto presentaron marcadas diferencias entre plantas en los valores mínimo y máximo (Tabla 4). La masa del fruto varió desde 39,7 hasta 325 g con predominio de frutos entre 100 y 300 g. Se encontró baja acidez y niveles superiores a 12°Brix en los frutos, lo que resulta de interés para el mejoramiento del cultivo por ser una de las características de calidad comercial que determina su aceptación para el consumo. Al respecto, Paull *et al.* (1997) plantearon que para los genotipos del grupo 'Solo' producidos en Hawai, se determinó un promedio de 11,5°Brix como mínimo aceptable para su comercialización.

Por otra parte, los valores apreciados en el diámetro de los frutos *in situ*, está en correspondencia con los obtenidos por Brown *et al.* (2012) en evaluaciones realizadas a colecciones de *C. papaya* silvestres en cinco localidades de Costa Rica. Estos autores encontraron diámetros en los frutos que variaron para las diferentes localidades entre 5,2 y 9,0 cm.

En este estudio las dimensiones de los frutos en las plantas 2, 17, 19 y 21 difirieron de las descripciones realizadas originalmente en Cuba para el papayo silvestre por Solms y Grafen (1889) y Roig (1965). Los mismos hicieron referencia a frutos muy pequeños de aproximadamente 6 cm de longitud y 4 cm de diámetro. No obstante, León y Alain (1953) señalaron que el tamaño, color y calidad de la papaya silvestre son caracteres que puede variar.

En el anexo 3 se muestran imágenes relacionadas con el desarrollo del papayo silvestre *in situ*. Las flores (Imagen 7A y 7B), resultaron amarillas, con la presencia de largos pedúnculos en las masculinas y pedúnculos más cortos en las femeninas. Aspectos estos similares a lo observado en descripciones realizadas *in situ* por Solms y Grafen (1889) y Roig (1965) para el papayo silvestre.

El color en los frutos mostró diferentes tonalidades, de amarillo a naranja, tanto en la corteza como en el mesocarpio (Imagen 7C y 7D), lo que sugiere realizar estudios posteriores, en aras de profundizar en este comportamiento, por ser este uno de los indicadores principales en la aceptación de los frutos en el mercado. Se corroboró el criterio de la población local entrevistada, que planteó que desde antes del siglo XX, en la zona prospectada crecieron diferentes tipos de plantas de papayo con frutos de diferentes tamaños, todos con sabor dulce, que generalmente fueron consumidos y comercializados por la población local.

De acuerdo con Zapata (2007), algunas plantas silvestres crecen en lugares sometidos a la actividad permanente del hombre, en las proximidades de las casas o en los linderos de los sistemas tradicionales de cultivo, y sus frutos son aprovechados por los pobladores en su alimentación. En este mismo sentido, en estudios realizados por Romero *et al.* (2013), encontraron que la papaya silvestre en México es comercializada y consumida por la población, y que se caracteriza por poseer alto contenido de azúcares que varía entre 10 y 17°Brix.

Es de destacar, que en este estudio no se observó presencia de PRSV o PBT en las plantas identificadas *in situ*, lo que puede estar dado por el bajo número de plantas existentes, generalmente alejadas unas de otras. Este comportamiento fue observado en México por Romero *et al.* (2013), que en recorridos de campo confirmaron que el papayo silvestre es susceptible a enfermedades de origen viral, pero debido a que generalmente se encuentran en baja densidad de población, con respecto al papayo cultivado, y rodeado de otras especies, evitan los virus.

La variabilidad morfoagronómica apreciada entre las plantas de papayo silvestre identificadas en las áreas de conservación prospectadas, indica la importancia de realizar estudios moleculares para determinar la variabilidad genética entre éstas, y su posible cruzamiento con genotipos cultivados en las zonas aledañas a las áreas de conservación. Todo ello considerando que las plantas de papayo silvestre están estrechamente relacionadas con las cultivadas y se cruzan fácilmente entre sí. Estos aspectos para plantas de polinización abierta fueron señalados por Gutiérrez *et al.* (2003a), para plantas. Además, los estudios moleculares contribuyen a la comparación de las plantas silvestres de cada área colectada y entre éstas, con el fin de evitar duplicados en el banco de germoplasma.

4.2. Caracterización molecular de las plantas de papayo silvestre colectadas *in situ* mediante marcadores moleculares tipo RAPD

a) Selección de los cebadores RAPDs

El ADN de los cuatro genotipos utilizados para la selección de los cebadores probados, amplificó en nueve de ellos (OPA-07, OPZ-17, OPW-12, OPB-07, OPR-15, OPN-14, OPR-16, OPW-13, OPY-13). Estos cebadores fueron seleccionados para determinar la variabilidad genética de los genotipos de papayo en estudio, conocer si estas plantas intercambiaron genes con cultivares tradicionalmente explotados en la cuenca Almendares-Vento y asegurar muestras representativas no repetidas. En el anexo 8 se presentan aspectos generales relacionados con los estudios moleculares realizados.

De los cebadores seleccionados para este estudio, el OPA-07 fue utilizado por Medina *et al.* (2010) y Vegas *et al.* (2013) para determinar la variabilidad genética del germoplasma de *C. papaya* y especies del género *Vasconcellea* en Venezuela. Por otro lado, de la Cruz *et al.* (2009) utilizó el cebador OPB-07 en la caracterización molecular de *Phaseolus vulgaris* L., el que recomendó para caracterización del germoplasma. Estos cebadores resultaron los más informativos en la caracterización de las especies referidas.

b) Amplificación del ADN de los genotipos en estudio mediante los cebadores RAPDs seleccionados

El análisis de PCR mostró que los nueve cebadores RAPDs y las seis combinaciones de cebadores utilizados, generaron bandas para las plantas de papayo silvestre y cultivares en estudio (Tabla 5). El número total de bandas nítidas obtenidas por cebador, en ambas repeticiones, varió entre tres y siete en fragmentos amplificados con tamaño que fluctuaron entre 95 y 5 490 pb. Valores en el rango próximo a los presentes obtuvieron Medina *et al.* (2010), en la caracterización de cultivares de papayo y especies de *Vasconsellea*, los que obtuvieron entre 59 y 4 147 pb.

A través de análisis de PCR simple y múltiple se detectaron un total de 64 bandas en *C. papaya* cultivada, 26 de ellas polimórficas (40,6 %). El promedio de bandas/cebador RAPD fue de 4,27 y el de bandas polimórficas 1,73 (Tabla 5). El número total de bandas polimórficas varió desde uno para los cebadores OPR-15 y OPZ-17 a tres en el cebador OPB-7 y las combinaciones OPY-17/OPB-07/OPA-07, OPZ-13/OPW-12 y OPW-13/OPR-16/OPR-15. No se obtuvieron bandas polimórficas con los cebadores OPN-14, OPW-13 y OPY-13, lo que pudo deberse a que los fragmentos de ADN de *C. papaya* cultivada no amplificaron para estos cebadores, comportamiento que puede ocurrir cuando no existe suficiente especificidad (Bolívar *et al.*, 2014).

En el papayo silvestre, se detectaron un total de 73 bandas, de ellas 45 polimórficas (61,6 %) con promedio de 4,87 bandas/cebador RAPD. Las bandas polimórficas variaron desde uno para OPN-14 y OPY-13, a cinco con la combinación de cebadores OPZ-

Tabla 5. Resultados del análisis de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con el empleo de simple y múltiples cebadores RAPDs en la caracterización molecular de las plantas de *Carica papaya* L. cultivada y silvestre.

Cebadores	<i>C. papaya</i> cultivada				<i>C. papaya</i> silvestre				Bandas comunes
	Número de Bandas	Bandas Polimórficas	Tamaño (pb)	PIC	Número de Bandas	Bandas Polimórficas	Tamaño (pb)	PIC	
OPA-07	4	2	500-810	0,45	4	2	500-800	0,58	1
OPB-07	5	3	490-3080	0,53	5	3	490-5490	0,83	1
OPN-14	3	0	970-2170	0,00	3	1	970-2170	0,33	1
OPR-15	3	1	560-910	0,48	4	3	560-1110	0,83	1
OPR-16	5	2	880-3200	0,36	5	3	750-3200	0,71	2
OPW-12	6	2	780-2400	0,33	7	4	700-3250	0,75	2
OPW-13	3	0	660-1200	0,00	4	2	500-1400	0,55	1
OPY-13	3	0	376-755	0,00	3	1	376-755	0,31	1
OPZ-17	5	1	430-915	0,21	6	4	400-915	0,76	1
OPY-13/OPB-07	4	2	105-755	0,46	4	3	95-755	0,79	1
OPY-13/OPB-07/OPA-07	5	3	95-755	0,46	5	3	95-1046	0,82	1
OPZ-17/OPW-12	5	3	500-2500	0,41	6	4	500-2500	0,83	2
OPZ-17/OPW-12/OPN-14	5	2	500-3600	0,28	7	5	300-3600	0,85	2
OPW-13/OPR-16	4	2	800-3500	0,35	5	4	750-3500	0,80	2
OPW-13/OPR-16/OPR-15	4	3	800-3500	0,63	5	3	750-3500	0,80	2
Promedio	4,27	1,73		0,33	4,87	3,0		0,70	1,4
Total	64	26 (40,6 %)		4,95	73	45 (61,6 %)		10,54	21

Leyenda: PIC- Contenido de información polimórfica, pb- Pares de base.

17/OPW-12/OPN-14. Se obtuvieron tres bandas polimórficas promedio, aspecto que supera las obtenidas en los cultivares de referencia (Tabla 5).

Se observó que con la incorporación de más de un cebador en la PCR (PCR múltiple), se incrementó el número de bandas polimórficas en determinadas combinaciones, lo que demostró que el uso de las combinaciones de cebadores es factible para estudios de diversidad. La PCR múltiple fue utilizada con éxito por Macedo *et al.* (2002), Deputy *et al.* (2002) y Posada (2016), en la determinación del sexo en *C. papaya*.

Se apreció además, que con la combinación de los cebadores OPZ-17/OPW-12 y OPW-13/OPR-16/OPR-15, se incrementó el número de bandas polimórficas en los cultivares evaluados, mientras que las combinaciones OPW-13/OPR-16 y OPZ-17/OPW-12/OPN-14, favorecieron el polimorfismo en el papayo silvestre. Sin embargo, con el resto de las combinaciones el número de bandas totales o bandas polimórficas resultaron iguales o inferiores a las obtenidas con la aplicación de un solo cebador, de los que se combinaron en la PCR.

Los resultados referidos anteriormente pueden deberse a que, al agregar cebadores en la PCR se pueden alterar las secuencias amplificadas porque existe competencia cuando múltiples secuencias diana están en un solo recipiente de reacción. Se ha demostrado que la especificidad, el rendimiento y la fidelidad de la PCR se encuentran directamente influenciados por los componentes (mezcla de reacción, régimen de ciclaje y la ADN polimerasa) que integran la PCR (Guevara, 2004).

Los porcentajes de bandas polimórficas en el papayo silvestre, indicaron mayor variabilidad genética en comparación con los cultivares comerciales. Resultados semejantes a los presentes, para las plantas silvestres alcanzaron Morales *et al.* (2004), con el empleo de 21 cebadores RAPDs en 29 materiales de *Caricaceae* colectados en Ecuador, donde obtuvieron 70,4 % de bandas polimórficas. Sin embargo Medina *et al.* (2010), alcanzaron mayor porcentaje de bandas polimórficas (97,8 %), en 73 accesiones de papayo en Venezuela, con el empleo de 17 cebadores RAPDs.

El bajo número de bandas polimórficas en los cultivares, en comparación con las plantas de papayo silvestre (Tabla 5), se debe fundamentalmente al grado de parentesco entre los cultivares. De acuerdo con Jiménez (2013) 'Maradol Roja' proviene de un parental 'Criollo', y según Fonseca (2008 comunicación personal), '1500' descende de 'Maradol Roja'. Además, la selección de las plantas destinadas a la producción de semillas y el control en la polinización de éstas, tiende a la homocigosis en los cultivares, mientras que el papayo silvestre es de polinización abierta que favorece la heterocigosis.

En el papayo silvestre el PIC fue superior al de los cultivares evaluados con valores que oscilaron entre 0,31 para el cebador OPY-13 y 0,85 para la combinación de cebadores OPZ-17/OPW-12/OPN-14, con promedio de 0,70 en los nueve cebadores y combinaciones probadas. Resultados similares a los presentes fueron obtenidos por Vegas *et al.* (2006), en poblaciones silvestres de la familia *Caricaceae* evaluadas en Venezuela con el empleo de 15 cebadores RAPD. También Bravo (2009), pero en maíz (*Zea mays* L.) obtuvo un rango de valores entre 0,30 y 0,83, con 0,59 de PIC promedio. Este autor refirió que el valor alcanzado indicó alta diversidad genética.

En este caso, en los cultivares se apreció menor PIC (0,33 promedio), con el valor más bajo en el cebador OPZ-17 (0,21). De acuerdo a la clasificación de Botstein *et al.* (1980), en el papayo silvestre la mayoría de los cebadores y combinaciones fueron altamente informativos, mientras que en los cultivares la mayoría fueron medianamente informativos.

La presencia de bandas comunes (1,4 promedio), mostró la reducida distancia genética entre el papayo silvestre y los cultivares, en comparación con otras *C. papaya* silvestre tales como; *Carica cauliflora* Jacq, *Carica pubescens* Solms, *Carica parviflora* (A. DC.) Solms y *Carica quercifolia* (St. Hil.), estudiadas previamente por Jobin-Décor *et al.* (1997). Estos valores demuestran la efectividad de los cebadores seleccionados y confirman lo planteado por Bortolini *et al.* (2006) y Medina *et al.* (2010), que destacaron la factibilidad del uso de los cebadores universales RAPD en la caracterización molecular de colecciones de *C. papaya*.

Además, estos autores señalaron que el uso de marcadores RAPDs es una herramienta válida para realizar estudios de variabilidad genética en germoplasma de *Caricaceae*, con los que se logran establecer claras diferencias entre *Carica* y *Vasconcellea*, no solo por la alta variabilidad encontrada entre los géneros, sino por los patrones de bandas únicos observados.

La figura 7 muestra la similitud genética y agrupación de las plantas de papayo silvestre y cultivares evaluados, mediante el dendrograma a partir de la matriz generada de la amplificación del ADN con los cebadores RAPDs. Es de destacar que al establecer la línea de corte en el valor 0,30 se observó la formación de dos grupos.

El grupo I (G-I) estuvo formado por los cultivares, que confirmó la estrecha relación genética entre los mismos debido a que están emparentados. En el grupo II (G-II) se ubicaron las plantas de papayo silvestre,

generalmente cercanas según las áreas de colecta. No obstante, se observó que las plantas dos y tres de Escaleras de Jaruco están alejadas de la cuatro, cinco y seis, y se encuentran en el grupo de La Recría, mientras que la planta dos de Francisco Javier se ubicó entre las plantas de Escaleras de Jaruco, lo que pudiera

estar dado por la dispersión de semillas entre las áreas colectadas.

A partir de las observaciones referidas anteriormente, se demostró la similitud genética entre estas plantas silvestres, dado quizás por la proximidad geográfica de las áreas

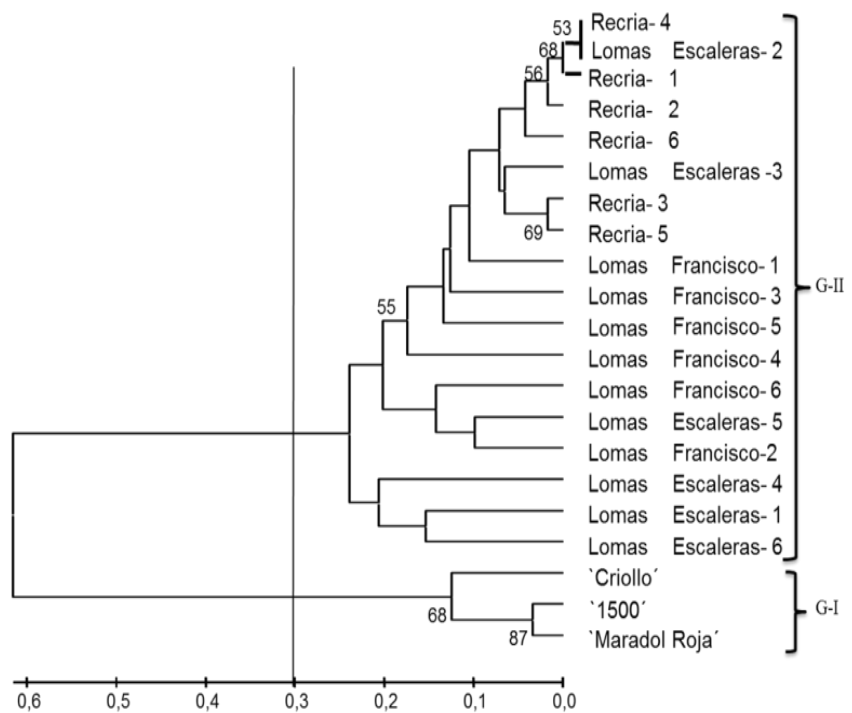


Figura 7. Dendrograma de las plantas de *C. papaya* silvestre y cultivada, basado en un análisis de agrupamiento UPGMA. Se presentan los valores de *bootstrap* superiores al 50 %.

colectadas, que permite el flujo genético entre las plantas en el área prospectada. En este sentido Ming y Moore (2014), plantearon que el intercambio de genes entre las plantas en una población, se mantiene a través de agentes polinizadores o dispersores de semillas. Sin embargo, en ecosistemas heterogéneos como en el área prospectada, generalmente, las plantas cercanas se polinizan entre sí, de modo que los dispersores de semillas, las aves y los murciélagos principalmente, son los encargados de dispersar las semillas en las diferentes áreas y mantener así el flujo genético en la población

La ubicación de las plantas silvestres en un grupo diferente al de los cultivares, demostró que existen diferencias genotípicas entre ambos y que aún las plantas silvestres se mantienen aisladas, formando una población en sus áreas naturales, lo que hace poco posible que se hayan cruzado con los cultivares evaluados.

Los estudios *in situ* revelaron que la ubicación geográfica y aislamiento de la zona prospectada en la cordillera Habana-Matanzas, distante de las mayores elevaciones y áreas de conservación de los recursos fitogenéticos del papayo silvestre en el país, sugiere la posibilidad de que estas se consideren zonas núcleos. Para ello, debe considerarse lo planteado por Baena *et al.* (2003) con respecto a que las zonas núcleos presentan características similares a las descritas en este ecosistema y que ello permite el flujo de genes entre las plantas en las áreas colectadas. A partir de las zonas núcleos se pueden iniciar futuros trabajos de investigación, propagación y conservación de este recurso fitogenético local. Es de destacar que el presente constituye el primer antecedente de este tipo de estudio, en el país, para el papayo silvestre.

La caracterización molecular demostró que en el genotipo silvestre existe variabilidad genética en plantas que se reproducen en condiciones adversas, aisladas en un área reducida, con la presencia de frutos de calidad. Sin embargo, se desconocen las características morfoagronómicas, las que según Gianoli (2004), están expuestas a la influencia ambiental, propias de cada genotipo en su hábitat y a la heterogeneidad de la población. Por tal motivo, es necesario la caracterización del genotipo silvestre, prospectado en un sistema tradicional de cultivo, mediante descriptores morfoagronómicos,

observaciones fenológicas e indicadores fisiológicos. Esto permitirá apreciar su variabilidad, potencial agronómico y carácter promisorio, para contribuir a su conservación y garantizar un mejor empleo en los programas de mejoramiento genético, y la explotación en sistemas tradicionales de cultivo.

4.3. Caracterización *ex situ* del genotipo papayo silvestre

4.3.1. Caracterización morfoagronómica mediante descriptores cualitativos

Tallos

La caracterización morfoagronómica mostró diferencias entre el genotipo silvestre y 'Maradol Roja', en cuanto al color y pigmentos en el tallo de las plantas, a causa de la mayor variabilidad presente en el genotipo silvestre (Figura 8). En el trasplante predominaron los tallos verde-púrpura y púrpura en ambos genotipos. No obstante, en el papayo silvestre se apreció plantas con tallos verdes, sin la presencia de pigmentos en un 15 % (Figura 8A). Esto proporciona mayor eficiencia en el proceso de fotosíntesis, sobre todo, cuando la planta crece bajo la sombra de otras plantas *in situ*. Con relación a este aspecto, es conocido que las clorofilas o pigmentos verdes es el factor interno de mayor incidencia en la tasa de fotosíntesis (Labarthe y Pelta 2009).

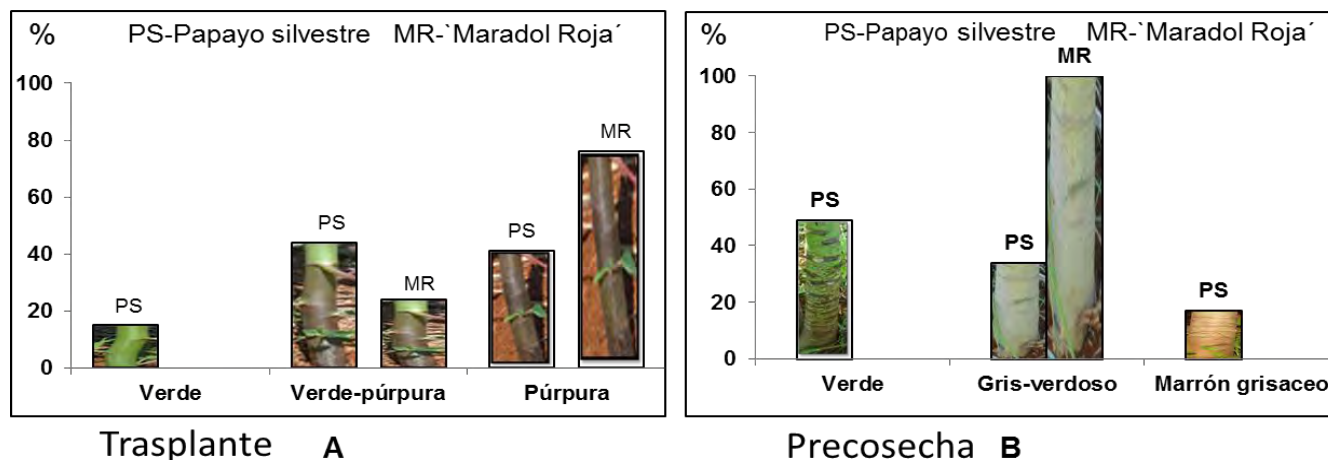


Figura 8. Porcentaje en el color de los tallos de los genotipos papayo silvestre y 'Maradol Roja' (*Carica papaya* L.) al momento del trasplante y previo a la cosecha.

En la medida que la planta creció y se desarrolló se observó que el color del tallo varió. En precosecha los tallos de las plantas de 'Maradol Roja' fueron gris-verdoso, sin la presencia de pigmentos; sin embargo, en el papayo silvestre el 49 % de las plantas mostraron tallos

verdes con sombras rosas o carmelitas, el 34 % gris-verdoso y el resto carmelitas. En todos los casos con la presencia de pigmentos de forma indiscriminada desde la base hasta la parte media. Similar variabilidad observaron Moreira y Parraga (2015), en 22 genotipos de papayo silvestre prospectados en diferentes ambientes en México.

La variabilidad apreciada en el color y pigmentos de los tallos de las plantas del papayo silvestre, puede deberse a la variabilidad genética y la siembra en un sistema tradicional de cultivo, diferente a las condiciones que predominan en su ambiente natural. En este sentido Gerik *et al.* (1993), plantearon que el color del tallo puede estar dado por causas genéticas y ambientales, asociadas con la acumulación de azúcares en los tejidos, que provoca la expresión de genes que proporcionan los colores púrpuras en un momento determinado. El ambiente puede influir en la acumulación de antocianinas en el tejido por deficiencia de fósforo, temperatura, luz, pH de la célula, estrés por déficit hídrico, compactación del suelo, entre otras causas. Según Deaquiz (2014), existe relación lineal entre la acumulación de antocianinas y la intensidad lumínica.

Por lo antes referido, se debe interpretar correctamente la sintomatología del color y pigmentos del tallo. Si el color púrpura es producto de la temperatura, desaparecerá sin generar consecuencias, pero si es por deficiencias de fósforo o compactación de suelo, puede influir en el rendimiento.

Hojas

El color de los pecíolos de las hojas, mostró similar comportamiento con respecto al tallo, con diferencias en los porcentajes de expresión del carácter (Figura 9). En ambos genotipos predominó la presencia de pigmentos púrpura en el trasplante, seguidos de los verde-púrpura y un 10 % de pigmentos verdes en el genotipo silvestre.

Durante el crecimiento y desarrollo de la planta, la pigmentación en los pecíolos disminuyó en ambos genotipos. En precosecha, en el papayo silvestre aumentaron los pecíolos verde-púrpura (52 %) y solamente el 28 % se caracterizó por presentar pecíolos de color púrpura, mientras que en 'Maradol Roja' fueron verdes o con débil presencia de pigmentos. Esta

variabilidad apreciada en tallos y pecíolos del genotipo silvestre, también fue observada en sus áreas de reproducción natural.

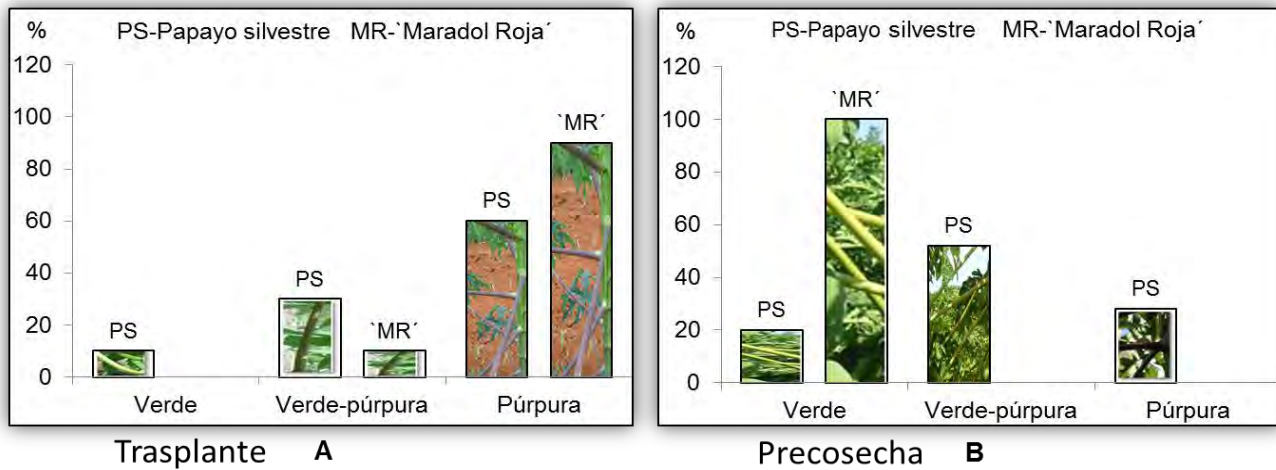


Figura 9. Porcentaje de pecíolos con pigmentos en los genotipos papayo silvestre y 'Maradol Roja' (*Carica papaya* L.) al momento del trasplante y previo a la cosecha.

Los pigmentos en las plantas tienen diversas funciones, dentro de ellas, actúan como mecanismo de defensa frente a los rayos ultravioletas del sol y contribuyen a la atracción de agentes polinizadores (Wong, 1995). En este sentido, la pigmentación apreciada en el genotipo silvestre le confiere mayor posibilidad de reproducción y protección en áreas de reproducción natural.

Por otra parte Castañeda y Guerrero (2015), plantearon que existe un creciente interés por estos pigmentos en las plantas, debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas, relacionadas con su actividad antioxidante, lo que atribuye valor agregado al papayo silvestre. En este sentido, Aguilera *et al.* (2011), señalaron que los compuestos de antocianinas son altamente demandados en la industria, ya sea como colorantes naturales, alimentos funcionales o suplementos alimenticios.

Con relación al limbo de las hojas, ambos genotipos exhibieron bordes rectos, entre 7 y 11 lóbulos primarios, con la presencia de lóbulos secundarios y terciarios (Figura 10). No obstante, a pesar de estas semejanzas, se apreciaron diferencias en su forma, característica que permite diferenciar a estos genotipos en estado adulto con mayor precisión. En el genotipo silvestre el limbo mostró la forma tipo 5, mientras que en 'Maradol

Roja´ fue del tipo 7, según imágenes de forma de las hojas referidas en el descriptor (IBPGR, 1988).

La forma de la hoja tipo 5, característica del genotipo silvestre, presenta mayor área foliar que la del tipo 7, aspecto a tener en cuenta al considerar la influencia positiva del área foliar en

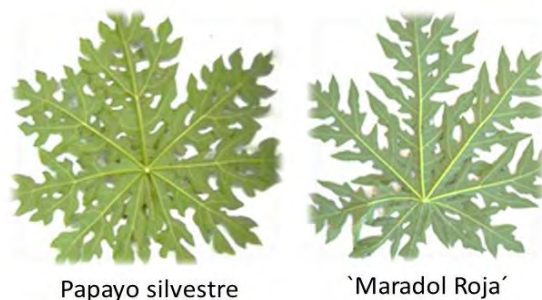


Figura 10. Forma de la hoja del genotipo papayo silvestre y `Maradol Roja´ (*Carica papaya* L.)

el rendimiento y calidad de los frutos (Mora y Bogantes, 2004a). Además, de acuerdo con Campostrini y Yamanishi (2001), mayor superficie de las hojas interceptan mayor energía radiante, y esta interacción, en conjunto, constituyen un factor predictor de la producción de masa seca. Esta característica le confiere ventajas al genotipo silvestre en la competencia con otras plantas por el área hábitat y por la disminución de la evaporación, al disminuir la incidencia de la radiación solar directamente en el suelo. De acuerdo con Gunaji (1968), la radiación solar es el factor determinante de la evaporación, por ser la principal fuente de energía de dicho proceso. Es por ello, que la forma de la hoja se considera un carácter que influye en la supervivencia del genotipo silvestre *in situ*.

Flores

Mediante el descriptor (IBPGR, 1988) y observaciones visuales se apreció, que en el genotipo silvestre las flores fueron amarillas, mientras que en `Maradol Roja´ se caracterizaron por ser blancas con tonalidades amarillo claro (Figura 11). Según Cruz y Portal (2010), en `Maradol Roja´ las flores son blanco-crema. Este es uno de los descriptores que permitió diferenciar fenotípicamente a los genotipos evaluados.

La floración en el genotipo silvestre se caracterizó por la alta densidad de inflorescencias en el tallo de las plantas femeninas y masculinas. La presencia de las flores en la inflorescencia de las plantas femeninas fue densa e intermedia. La alta densidad de flores por planta del genotipo silvestre permite predecir que el número de frutos en la plantación pudiera ser alto.

En 'Maradol Roja' la densidad de inflorescencias en el tallo resultó media o densa, pero la densidad de flores por inflorescencia fue de media a baja, con flores aisladas en la mayoría de los racimos florales. En ambos genotipos, el pedúnculo de las inflorescencias fue verde, similar a lo descrito por Alonso *et al.* (2008b) en 'Maradol Roja' y en los híbridos HG x MR y HG x MA.

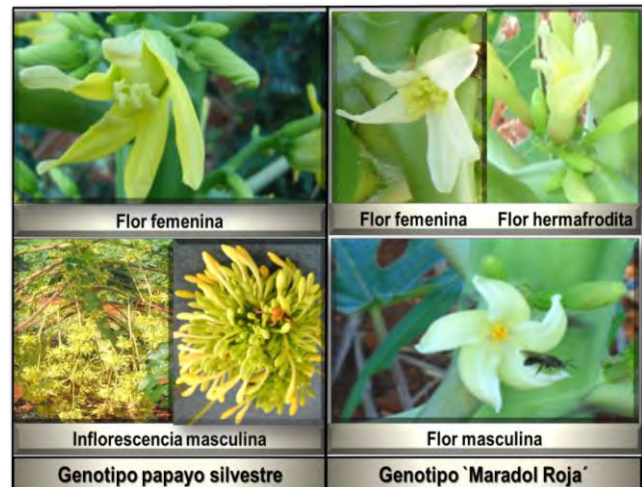


Figura 11. Flores e inflorescencias que caracterizan a los genotipos papayo silvestre y 'Maradol Roja' (*Carica papaya* L.)

Con relación al sexo de las flores, en la figura 12 se muestran los porcentajes de plantas femeninas, masculinas y hermafroditas en el genotipo silvestre y 'Maradol Roja'. Se pudo constatar que el genotipo silvestre obtuvo 52,1 % de plantas femeninas y 47,9 % de plantas masculinas, debido a la ausencia del alelo para plantas con flores hermafroditas. Al referirse a este comportamiento, Aspeitia *et al.* (2014) plantearon que en *C. papaya* el sexo está determinado por un gen con tres alelos de efecto pleiotrópico, donde las plantas masculinas y hermafroditas son heterocigotos obligados y las femeninas son homocigóticas.

Al respecto, Ma *et al.* (2004) señalaron que en papaya existe un cromosoma Y evolutivamente incipiente, que contiene un pequeño sector no recombinante, que según Liu *et al.* (2004), agrupa a los genes que codifican para los caracteres sexuales masculinos. También comprende un gen mutado e inactivo para el desarrollo del embrión, por lo que todas las combinaciones de alelos

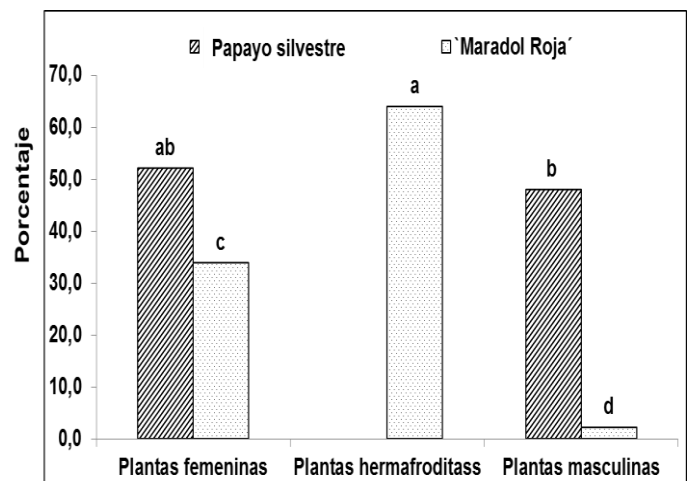


Figura 12. Distribución porcentual de acuerdo al sexo en los genotipos papayo silvestre y 'Maradol Roja' (*Carica papaya* L.). Medias con letras iguales no difieren entre sí, por la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

dominantes, tales como MM, MHMH y MHM son letales.

En `Maradol Roja` se presentaron los tres tipos de plantas, a partir del sexo de sus flores (Figura 12), las que difirieron entre sí. El mayor número de plantas correspondió a las de flores hermafroditas (64 %), seguido de las plantas con flores femeninas (33,8 %) y el más bajo porcentaje (2,2 %) se obtuvo para las flores masculinas.

Los porcentajes para este indicador en `Maradol Roja` se debieron a que las semillas se obtuvieron por los productores a partir de semillas certificadas, a través de la polinización dirigida entre plantas hermafroditas, para evitar la polinización con flores masculinas. Al respecto, Bogantes *et al.* (2012) señalaron que teóricamente las semillas provenientes de plantas hermafroditas producen descendientes en una relación entre flores hermafroditas y femeninas de 66,6 % hermafroditas y 33,3 % femeninas, mientras que las semillas provenientes de plantas femeninas y masculinas producen progenies en una relación de 50 % de cada una. Con respecto a este comportamiento, porcentajes similares para `Maradol Roja` obtuvieron Roque *et al.* (2003) en las provincias La Habana y Mayabeque, en el occidente de Cuba.

El alto porcentaje de plantas masculinas presente en el genotipo silvestre constituye una desventaja en la plantación, debido a que reduce el número de plantas productivas; sin embargo, mediante procedimientos técnicos esta desventaja puede ser solucionada (Gaitán *et al.*, 2006). Para ello, estos autores recomiendan la siembra de tres plantas por nido, con el posterior raleo de las no deseadas en la fase de floración, lo que permite incrementar el número de plantas femeninas, aspecto de significativo interés desde el punto de vista productivo.

Se planteó que las plantas con flores femeninas tienen ventajas sobre las hermafroditas, debido a que no transforman sus estambres en carpelos (carpeloidía) como consecuencia de temperaturas inferiores a 20°C durante la formación de la flor (Rodríguez *et al.*, 1995). La carpeloidía repercute en gran medida en los frutos, los cuales presentan deformaciones que impiden su comercialización, lo que limita el cultivo de estas plantas a las áreas con clima de temperaturas bajas.


Es de destacar, que no se apreció cambio de sexo y esterilidad femenina en las flores de los genotipos en estudio, lo que indicó que las condiciones para el cultivo fueron favorables para su desarrollo. Según Rodríguez *et al.* (1995), la temperatura inferior a 20 °C, el exceso de agua, entre otros factores, producen variaciones a nivel de la expresión de los caracteres sexuales, que se traducen en fenómenos temporales de cambio de sexo. Por otro lado, Mora y Bogantes (2005) refirieron que la temperatura alta, el déficit hídrico y las deficiencias de nitrógeno favorecen la esterilidad femenina.

Frutos

Los resultados de la evaluación de los frutos que caracteriza al genotipo silvestre y `Maradol Roja` se muestra en la figura 13. La presencia en el papayo silvestre de cinco de las formas de los frutos referidas para esta especie (IBPGR, 1988), demostró que posee mayor variabilidad con respecto a `Maradol Roja`, que obtuvo frutos elongata (66 %) y oblongo elipsoide el resto.

La variabilidad en la forma de los frutos de ambos genotipos en estudio, está asociada con el tipo de reproducción, la forma de polinización y el tipo de flor. Las plantas silvestres son dioicas y en este tipo de plantas existe alta variación en la forma y dimensiones de los frutos, debido a que la polinización es cruzada a través de agentes móviles como el viento y los insectos (El Salvador, 2002).

En Cuba, León y Alain (1953) describieron a los frutos del papayo silvestre de forma ovoide, redondeado o elipsoidal; sin embargo, en los descriptores del IBPGR (IBPGR, 1988) se incluyeron mayor número de formas en los frutos. De acuerdo a estos descriptores, los frutos del genotipo silvestre son de forma



Genotipo papayo silvestre		Genotipo `Maradol Roja`	
Forma del fruto	Papayo silvestre	`Maradol Roja`	
Globular	9	-	
Redondo	10	-	
Elípticos	32	-	
Oblongo elipsoide	31	34	
Elongata	-	66	
Alongado cilíndrico	18	-	

Figura 13. Porcentaje de la diversidad de la forma y tamaño de los frutos que caracterizan a los genotipos papayo silvestre y `Maradol Roja` (*Carica papaya* L.).

elíptica, oblongo elipsoide y alargado cilíndrico. Según Jiménez (2002), generalmente las plantas femeninas de los cultivares producen frutos oblongos o semiesféricos, mientras que las plantas con flores hermafroditas producen frutos alargados, redondos e irregulares.

En evaluaciones en los híbridos `HG x MR´ y `HG x MA´, Alonso *et al.* (2008b) encontraron forma elongata en frutos provenientes de plantas con flores hermafroditas y predominio de formas elípticas y globular en frutos procedentes de plantas con flores femeninas, aspecto que se relaciona con su valor comercial. Al respecto, Blas *et al.* (2010) refirieron que la preferencia de los grandes mercados mundiales es por frutos con estas características. En este mismo sentido Ruíz (2003), señaló que la diversidad de frutos en el mercado es uno de los mayores atractivos de cualquier producto para el consumidor, de aquí la importancia de poder contar en el banco de germoplasma del cultivo con un amplio rango de forma y tamaño en las frutas del papayo silvestre.

La variabilidad en los frutos del genotipo silvestre se produce entre plantas, no entre frutos de la misma planta. Este comportamiento es debido a que el genotipo silvestre no produce flores hermafroditas, que son las que originan frutos de diferentes formas en una planta. Resultado semejante al presente fue observado por Nar (2003), al estudiar este carácter en frutos de plantas individuales de `Maradol Roja´, que produce flores femeninas y hermafroditas.

La diversidad apreciada en el genotipo silvestre, puede ser utilizada para la obtención de nuevos cultivares de frutos pequeños y de forma elíptica y alargado cilíndrico, que respondan a determinadas demandas de los consumidores. En este sentido Alonso *et al.* (2008b) destacaron la necesidad de obtener, a través de programas de hibridación y selección, frutos de papayo con estas características en el país, que permitan reducir los costos de transporte, embalaje y almacenamiento, aspecto de gran interés desde el punto de vista económico.

Por otro lado, es importante poder contar con la posibilidad de seleccionar plantas individuales del genotipo silvestre, en las condiciones de Cuba y con características deseadas. En este sentido, los programas de mejoramiento clásicos se basan en la

hibridación, siembra y selección hasta lograr la homocigosis en los nuevos genotipos. Así, por ejemplo, en Hawaii a principios del siglo pasado (1910) a partir de semillas provenientes de un fruto, se obtuvo la familia del

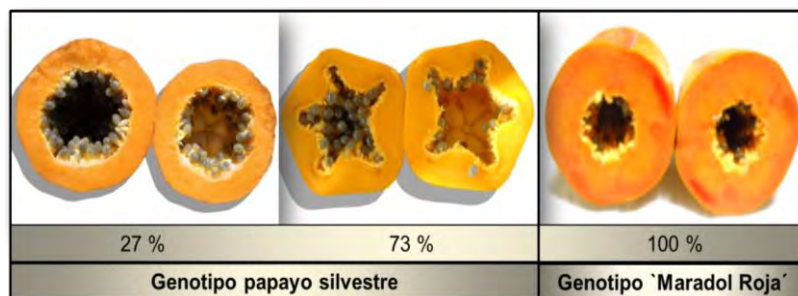


Figura 14. Porcentaje de la forma de la cavidad central en los frutos de los genotipos papayo silvestre y 'Maradol Roja' (*Carica papaya* L.).

grupo 'Solo', que llegó a dominar el mercado internacional. También, en El Salvador, entre 1960 y 1970, con similares métodos de trabajo se obtuvieron las selecciones 'Izalco 1' e 'Izalco 2', con gran aceptación en el mercado local de determinadas regiones de esta nación.

En este estudio, la cavidad central de los frutos del genotipo silvestre mostró las dos formas extremo, circular y estrellada, mientras que en 'Maradol Roja' se apreció predominio de la forma circular (Figura 14). Sin embargo, en este último cultivar Alonso *et al.* (2008b) encontraron predominio de la forma ligeramente estrellada, debido a que la forma de la cavidad ovárica es dependiente de la formación del carpelo. Al respecto, se ha observado que la forma de la cavidad central de las frutas del papayo, puede variar desde profundamente estrellada hasta completamente circular, aspectos que también fueron señalados por Dantas *et al.* (2000).

La forma circular de la cavidad del fruto facilita la extracción de las semillas, que contribuye a la eficiencia en el procesamiento industrial, con reducción en los costos de producción y ventajas económicas. Sin embargo, los frutos con la cavidad estrellada parecen ser más atractivos para el consumo fresco.

La cavidad estrellada es una característica que está presente en frutos de numerosos cultivares de alta demanda en los mercados internacionales tales como; 'Baixinho de Santa Amalia', 'Sunset' y 'BH-65'. Estos cultivares se evaluaron en Cuba y tuvieron gran aceptación en el mercado nacional (Alonso *et al.*, 2008c). De aquí, que poder contar con

ambas formas en la cavidad central de los frutos del genotipo silvestre, resulta favorable para la diversidad del banco de germoplasma.

En la tabla 6, se muestran los valores del color en la corteza y en el mesocarpio de los frutos del genotipo silvestre y 'Maradol Roja' en estado de madurez de consumo, que corresponde a los frutos que cambiaron el color de la corteza en un 100 % (Santamaría *et al.*, 2009). No se apreció interacción genotipo período de siembra para el color externo e interno del fruto, que indica que este carácter es poco afectado por el ambiente. Según Benito *et al.* (2016) y Ortiz *et al.* (2016), el cambio de color en los frutos es debido a la degradación de la clorofila y la síntesis de carotenoides o licopeno, que aumentan los valores positivos del rojo y amarillo.

La luminosidad (L^*), fue similar para la corteza y el mesocarpio de los frutos de ambos genotipos. Existió tendencia al color oscuro en los frutos en estado de madurez de consumo, con intensidad entre los 57,7 lúmenes en la corteza y 53,6 lúmenes en el mesocarpio. Resultados similares para 'Maradol Roja' encontraron en México Santamaría *et al.* (2015), donde los frutos de este cultivar mostraron menor luminosidad en comparación con 'Intenza' y 'Siluet'. En este sentido, Carvajal *et al.* (2011) señalaron que los valores de luminosidad revelan si un color es oscuro, gris o claro.

Tabla 6. Valores del color de la corteza y del mesocarpio en frutos de los genotipos papayo silvestre y 'Maradol Roja' (*Carica papaya* L.).

Genotipos	Parte del fruto	L^* (lúmenes)	a^*	b^*	H (radian)
Papayo silvestre 'Maradol Roja'	Corteza	57,7 a	11,0 b	54,7 a	78,50 a
		55,3 a	16,6 a	46,7 b	70,50 b
ES.x		0,6	0,5	0,9	1,1
Papayo silvestre 'Maradol Roja'	Mesocarpio	55,9 a	17,9 b	45,5 a	68,80 a
		53,6 a	26,4 a	39,2 b	56,20 b
ES.x		0,8	1,2	1,4	1,3

Leyenda: L^* -indica la luminosidad, a^* y b^* -coordenadas del color y H-ángulo de tono. Medias con letras iguales no difieren entre sí, por la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En las dos coordenadas los valores fueron positivos para ambos genotipos e inferiores en la coordenada a^* con respecto a la coordenada b^* , que indicó que los ángulos de tono son intermedio entre el claro y oscuro, alejados del gris. Para el genotipo silvestre, la coordenada a^* mostró valores inferiores en la corteza y en el mesocarpio con respecto a

‘Maradol Roja’, mientras que en la coordenada b^* fueron superiores, cercanos al amarillo naranja. Se ha señalado que la relación entre las coordenadas a^* y b^* es negativa para las frutas verdes, cero para las frutas amarillas y positivo para las frutas naranjas (Rodrigo *et al.*, 2004).

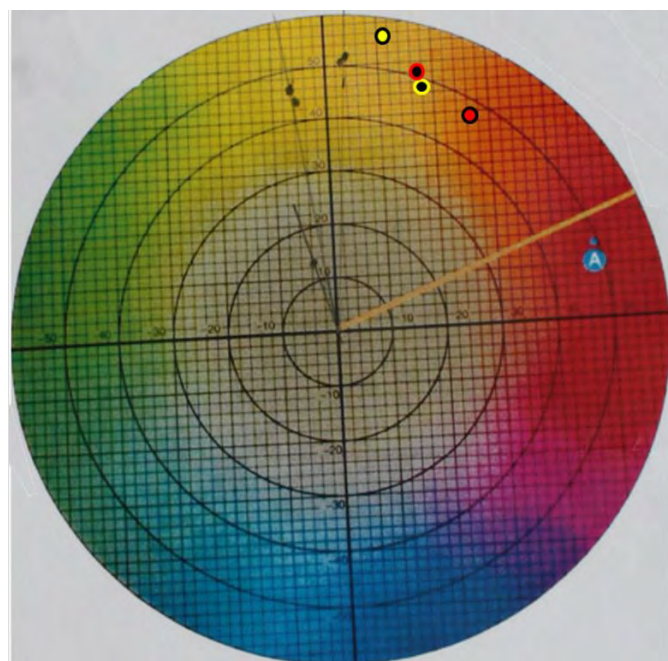
Los valores del ángulo de tono mostrados en la tabla 6, se situaron en el primer cuadrante, en el tono amarillo rojo para los ángulos de 0 a 90° (Figura 15).

Los valores superiores apreciados en el genotipo silvestre, tienden a tonos más

claros que ‘Maradol Roja’. En este sentido, los frutos del genotipo silvestre son amarillo-naranja claro y tonalidades naranja fuerte en el mesocarpio.

El color en la corteza del genotipo silvestre se corresponde con el de cultivares de alta demanda en el mercado internacional como ‘Sunset’, donde en evaluaciones en frutos en postcosecha, se observó tendencia al anaranjado tenue (Acosta *et al.*, 2001). En ‘Maradol Roja’ los frutos en estado de madurez de consumo, se caracterizaron por ser amarillo naranja en su exterior y rojo salmón en su interior (Figura 15). Resultados similares para este cultivar fueron obtenidos por Alcántara *et al.* (2010).

Las diferentes tonalidades apreciadas en los frutos pueden estar dadas por el contenido de carotenoides, que se presenta en proporciones diferentes y varía según las especies (García *et al.*, 2015). En estudios para determinar la concentración de carotenoides en diferentes frutales, Ordoñez *et al.* (2014), encontraron que en la papaya es superior a la guayaba (*Psidium guajaba* L.), piña (*Ananas comosus* L. Merrill) y naranjas (*Citrus sp.*).



Leyenda

●	Corteza del papaya silvestre	●	Mesocarpio papaya silvestre
●	Corteza de ‘Maradol Roja’	●	‘Mesocarpio ‘Maradol Roja’

Figura 15. Escala del color de la corteza y del mesocarpio de los frutos de los genotipos papaya silvestre y ‘Maradol Roja’ (*Carica papaya* L.)

La acumulación de carotenoides en la célula, principalmente licopenos en frutos de mesocarpio rojo y b-carotenoides en mesocarpio amarillo, son importantes porque proveen actividad antioxidante y abundantes niveles de vitamina A. Además, los carotenoides poseen efectos protectores con relación a afectaciones por cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Rivera *et al.*, 2010; Ordoñez y Ledezma, 2013).

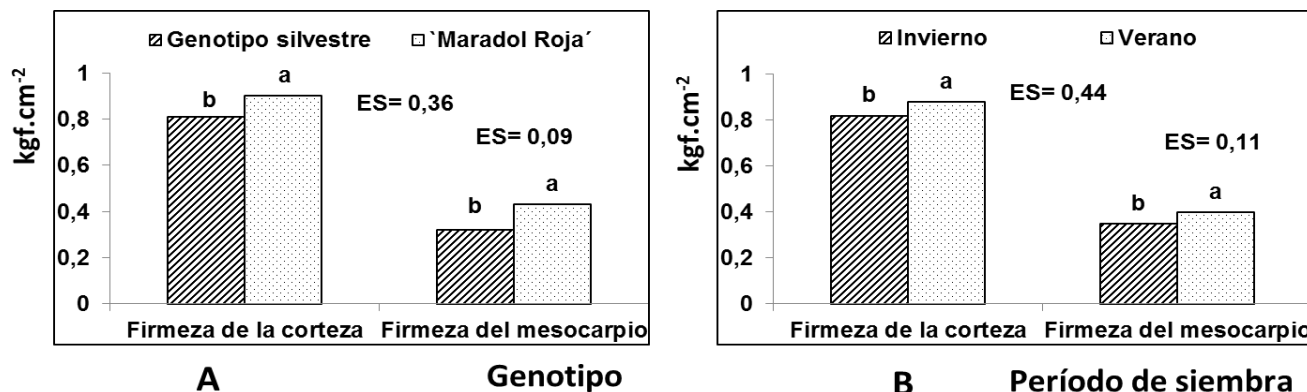
De acuerdo con Pulido (2012), la mayoría de los genotipos de *C. papaya* tienen el mesocarpio amarillo, aunque los frutos de mesocarpio rojo abundan en el mercado, especialmente en Latinoamérica. Esto se debe a que el color del mesocarpio está determinado por un solo par de alelos, R- amarillo y r- rojo el cual es recesivo al amarillo (Hofmeyr, 1938). Este carácter es significativo en trabajos de mejoramiento genético porque influye en la aceptación de los frutos en el mercado. Según Jiménez (2013), 'Maradol Roja' se obtuvo a través de trabajos de fitomejoramiento, principalmente de cruzamiento y selección para el carácter mesocarpio rojo.

De acuerdo con Santamaría *et al.* (2009) el color de la corteza del fruto del papayo es la característica más utilizada para evaluar su estado de madurez. Es por ello, que la definición del color en la corteza y mesocarpio de los frutos permite valorar el momento adecuado para la cosecha, de acuerdo al destino de la papaya. Estos indicadores físicos determinan, en gran medida, la aceptación de los frutos en los diferentes mercados, nacionales e internacionales. Parra y Hernández (1997), refirieron que la papaya que al momento de su comercialización esté sobremadura o que aún no haya alcanzado suficiente color en la corteza y en el mesocarpio, pierde valor o es rechazada por los clientes.

Existe diversidad en cuanto a la preferencia del consumidor por los frutos. Miranda *et al.* (2002) plantearon que los frutos de mesocarpio naranja oscuro son de mayor preferencia por los consumidores; sin embargo, de acuerdo con Devitt *et al.* (2010) los frutos amarillos son de alta demanda en el mercado internacional. Estos mismos autores agregaron que, en Australia, la papaya de mesocarpio amarillo es más consumida que la de mesocarpio rojo.

Con relación a lo anteriormente expuesto, numerosos genotipos de mesocarpio amarillo tales como: 'Maradol Amarilla' y 'HG x MA' de origen cubano, 'Amarilla Mexicana',

'Melona Amarilla', 'Gold', 'Known You # 1', 'Tainung # 3', entre otros, como cultivares provenientes del grupo 'Solo', gozan de gran aceptación en los diferentes mercados. El



color apreciado en los frutos del genotipo silvestre, revela la existencia de un reservorio de genes, aún no explotado, que puede constituir un aspecto de interés, por las evidencias de lo atractivo que resulta para el consumidor. En este sentido Núñez *et al.* (2011), plantearon que las poblaciones de papaya silvestre constituyen una fuente potencial de genes de importancia para el mejoramiento genético de la especie.

En la figura 16, se muestran los valores de la firmeza en la corteza y en el mesocarpio de los frutos. Se apreció menor firmeza en la corteza ($0,81 \text{ kgf cm}^{-2}$) y en el mesocarpio ($0,32 \text{ kgf cm}^{-2}$) de frutos procedentes del genotipo silvestre con respecto a 'Maradol Roja', que alcanzó $0,90 \text{ kgf cm}^{-2}$ de firmeza en la corteza y $0,43 \text{ kgf cm}^{-2}$ en el mesocarpio. Resultados similares a los presentes fueron obtenidos por Fernández *et al.* (2009), en evaluaciones en la corteza de los frutos de 'Maradol Roja' y 'Red Lady', que lograron $0,70$ y $0,95 \text{ kg cm}^{-2}$, respectivamente.

De igual manera Acosta *et al.* (2001), para la corteza de frutos de 'Maradol Roja', almacenados durante cuatro días, obtuvieron valores de firmeza de $0,6 \text{ kg cm}^{-2}$, la que disminuyó hasta los 14 días producto de los cambios en la pared celular de los frutos de este cultivar.

Durante el proceso de maduración de los frutos climatéricos, como la papaya, a diferencia de los no climatéricos, se produce etileno que estimula la actividad de enzimas hidrolíticas como las celulasas, pectinasas, hidrolasas, entre otras. Estas enzimas degradan los polisacáridos (pectinas, celulosa, hemicelulosas) de la pared celular que alteran su estructura. Se producen cambios en el grosor de la pared celular que provocan la permeabilidad de la membrana y aumento de los espacios intercelulares, que contribuyen al ablandamiento de los tejidos. Este efecto tiene lugar porque durante la maduración del fruto la protopectina insoluble, presente en la pared celular, se transforma en pectina soluble y esto conlleva a la pérdida de firmeza del fruto (Catalina, 2009).

La producción de etileno está relacionada con la expresión génica de enzimas que participan en la biosíntesis. En este sentido Portal *et al.* (2003) refirieron que el gen ACCOX1 codifica para la enzima ACC oxidasa. Recientemente Balbontín (2015), obtuvieron una secuencia denominada Vp-AAT1, aislada de ADN de papaya y que se expresa solamente en frutos maduros. Según de la Cruz *et al.* (2010), la producción de etileno varía entre especies y entre genotipos y con ello varía la respuesta al proceso de maduración. Esta puede ser una de las causas que influyó en la menor firmeza de los frutos del papayo silvestre en comparación con 'Maradol Roja'.

Es de destacar, que la corteza del fruto de 'Maradol Roja' es gruesa (Acosta *et al.*, 2001). Esta característica, también pudo influir en la mayor firmeza de los frutos en estado de madurez de consumo en el presente estudio. No obstante, las características cualitativas del fruto, incluida la firmeza, estuvieron influenciadas por las atenciones culturales y por la manipulación del material vegetal, por lo que se hace necesario desarrollar estudios relacionados con el marco de plantación para el genotipo silvestre.

Con respecto a lo anteriormente planteado, Fagundes y Yamanishi (2001) señalaron que la firmeza del fruto se relaciona con la altura de la planta y el área foliar. También Godoy *et al.* (2010) refirieron que la firmeza de la papaya está influenciada por factores de precosecha como la densidad de plantas por área, que puede reducir la vida anaquel del fruto.

Por otra parte, los frutos provenientes del período de “verano” mostraron mayor firmeza en la corteza ($0,88 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$) y en el mesocarpio ($0,40 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$) que los del período de “invierno”, donde se obtuvo $0,82$ y $0,35 \text{ kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$, respectivamente (Figura 16). Las diferencias entre los genotipos y entre períodos de siembra pueden deberse a los niveles hídricos (riego y lluvias) que incidieron en el cultivo durante su ciclo de vida.

Con respecto a lo anteriormente planteado, el genotipo silvestre produce frutos en condiciones naturales, donde se carece de riego, de modo que la disponibilidad de agua durante el ciclo del cultivo *ex situ*, pudo influir en la pérdida de firmeza de los frutos. Lo antes referido se evidencia al comparar los períodos de siembra (Figura 16B). En el período de “invierno” la cosecha se realizó en octubre y noviembre con la incidencia de las lluvias, encontrándose menor firmeza en los frutos, que en los del período de “verano”, cosechados en los meses de febrero y marzo, donde las lluvias fueron inferiores (Anexo 5).

Valores de firmeza similares a los mostrados en esta investigación obtuvo Silva (2005) para ‘Golden’ y ‘Gran Golden’. El autor demostró la estrecha relación existente entre los niveles de precipitación y la firmeza del mesocarpio, donde a mayor nivel de precipitación menor firmeza del fruto.

Los resultados muestran que los frutos del genotipo silvestre y ‘Maradol Roja’, cosechados, cuando la corteza cambió su color en más del 75 %, y luego de cuatro días de almacenamiento a temperatura ambiente, se encontraron en estado de sobremadurez, de modo que el tiempo anaquel se reduce significativamente. Este criterio se basa en lo planteado por Bron y Jacomino (2006), que consideran que los frutos de papayo están en estado de madurez de consumo con firmeza en el mesocarpio de $2,04 \text{ kgf cm}^{-2}$.

Asimismo, Jacomino *et al.* (2007) plantearon que los frutos están maduros entre $2,04$ y $0,71 \text{ Kgf}\cdot\text{cm}^{-2}$ y sobremaduros con firmeza en el mesocarpio inferior a $0,71 \text{ kgf cm}^{-2}$. No obstante Souza (1998), planteó que para la comercialización de los frutos de papayo, fisiológicamente maduros, la firmeza de 1 kgf cm^{-2} en la corteza se asume como aceptable.

De acuerdo a los resultados mostrados, las frutas de los genotipos en estudio deben cosecharse en estado de madurez fisiológica. Según Hernández *et al.* (2007) es el

momento en que la textura es más firme y por tanto los daños mecánicos durante la manipulación se minimizan. No es conveniente cosecharlos cuando cambian completamente el color de la corteza (madurez de consumo), porque el rendimiento es por unidad de masa fresca y su pérdida implica menor rendimiento (Almeida *et al.*, 2011).

Al respecto, Kays (1991) refirió que la papaya es un fruto climatérico y su maduración ocurre rápidamente poco después de la cosecha, lo que repercute directamente en su calidad y conservación. En otros estudios Dánger *et al.* (2007), encontraron mayor firmeza en las frutas cosechadas semimaduras, porque al parecer la corteza presenta mejor estructura y disminuye la pérdida de agua. Según Shaw *et al.* (1998), la progresiva pérdida de firmeza en los frutos es debido a que durante la maduración ocurren cambios en la pared celular debido a que las pectinas solubles son modificadas y despolimerizadas bajo la acción de enzimas pectinolíticas como: pectinesterasas (PE), pectatoliasas (PEL), poligalacturonasas, entre otras.

Semillas

En la figura 17 se muestra la variabilidad en la forma y el color de las semillas del genotipo silvestre y 'Maradol Roja'. En ambos genotipos se apreciaron semillas generalmente ovoides, con predominio de coloración marrón oscuro. En el genotipo silvestre también se observaron semillas marrón claro, estas más pequeñas, provenientes de frutos de menores dimensiones. Sin embargo, la forma y dimensiones de las semillas del genotipo silvestre del presente estudio, no coincidieron con las que observaron León y Alain (1953).

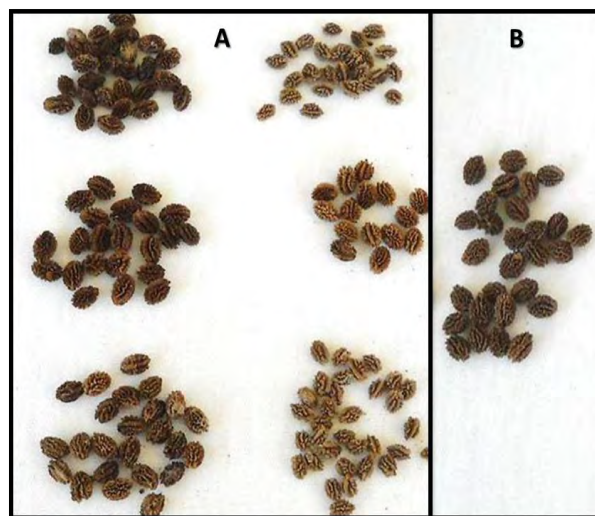


Figura 17. Representación de la variabilidad en la forma y color de las semillas de (*Carica papaya* L.). Genotipo papayo silvestre (A). 'Maradol Roja' (B).

Según estos autores, las semillas del papayo silvestre en Cuba son de formas elipsoidales y angulosas con 6 o 7 mm de longitud, lo que pudiera explicarse por el empleo de descriptores diferentes para determinar la forma predominante de las semillas.

Además, es importante tener presente, en la evaluación de las semillas de papayo el tipo de fruto de acuerdo a la flor de procedencia, sus dimensiones y su área de extracción dentro del fruto. Según Gil y Miranda (2005), para frutos de tamaño similar la forma de la semilla está determinada por el tipo de óvulo del que se originó y por su posición dentro del fruto, mientras que para el tamaño de la semilla influye su posición dentro del fruto y la cantidad de nutrientes que reciben durante su ontogenia.

Semillas con características similares a las del genotipo silvestre, entre 4 y 6 mm de longitud, describieron Niembro (1988), en plantas silvestres evaluadas en México, lo que demuestra que existe variabilidad para este carácter.

Por todo ello, es importante realizar estudios relacionados con la viabilidad y la latencia de las semillas del genotipo silvestre en determinadas condiciones de temperatura y humedad, ya que en los recursos fitogenéticos locales de papayo es poco conocida (Romero *et al.*, 2013). Esto constituye uno de los primeros pasos para evitar la pérdida de la diversidad de papaya, que se ha reducido por la homogenización con materiales mejorados (Chauvet *et al.*, 2012).

4.3.2. Caracterización morfoagronómica mediante descriptores cuantitativos

a) Variabilidad de los descriptores evaluados

La variabilidad presente en el genotipo silvestre y 'Maradol Roja' se muestra en la tabla 7. Se utilizó el promedio de los dos años, debido a que los análisis factoriales no mostraron efecto de año en ninguno de los descriptores en estudio.

En el genotipo 'Maradol Roja' se obtuvo $CV \geq 20\%$ en el 29,3 % de los descriptores. Los mismos coincidieron con el genotipo silvestre, que además logró valores altos en la altura de las plantas y a la primera flor, diámetro del tallo, volumen de la copa, longitud del pedúnculo de las flores, grosor del mesocarpio del fruto y masa de 100 semillas. Estos representaron el

Tabla 7. Valores del promedio, desviación estándar y coeficiente de variación para los descriptores morfoagronómicos evaluados en los genotipos papayo silvestre y 'Maradol Roja' (*Carica papaya* L.)

Descriptores	Genotipo Papayo silvestre						Genotipo 'Maradol Roja'					
	Invierno			Verano			Invierno			Verano		
	\bar{x}	DS	CV (%)	\bar{x}	DS	CV (%)	\bar{x}	DS	CV (%)	\bar{x}	DS	CV (%)
Altura de la planta	306,00	47,34	21,05	332,20	33,22	19,85	174,60	30,90	10,15	192,55	32,16	10,25
Altura a la primera flor	91,80	18,24	21,15	87,90	17,00	27,50	44,25	8,03	9,75	38,75	5,57	12,40
Diámetro base del tallo	14,80	3,15	24,15	11,90	0,98	18,95	11,20	1,09	9,20	10,25	1,01	7,15
Longitud de la raíz	19,20	4,13	18,40	18,65	5,25	16,55	12,10	2,40	14,50	11,80	2,65	16,75
Longitud del peciolo	91,75	15,73	17,85	86,10	18,59	18,30	87,25	12,88	15,00	79,45	12,85	19,00
Longitud del limbo	49,60	8,28	16,95	47,20	3,84	7,85	49,45	8,20	17,05	47,15	4,76	9,85
Ancho del limbo	68,90	10,62	11,90	61,65	6,98	10,90	62,80	8,37	11,95	60,10	9,18	13,55
Relación largo/ancho del limbo	0,70	0,07	13,05	0,80	0,09	12,20	0,75	0,01	15,05	0,70	0,01	14,45
Frecuencia en la emisión de hojas	2,35	0,29	12,40	2,35	0,27	11,35	2,35	0,21	8,90	2,35	0,23	9,65
Número de hojas	29,75	5,01	18,70	28,00	4,39	11,10	36,00	4,83	15,25	33,35	4,79	14,45
Número de lóbulos	9,35	0,75	7,95	8,55	0,60	6,60	9,05	0,86	8,65	9,25	1,10	8,80
Distancia entre nudos	0,75	0,09	46,05	0,55	0,06	40,10	0,45	0,05	48,90	0,25	0,06	46,20
Volumen de la copa	8,40	1,95	21,55	8,95	1,89	20,80	7,05	1,80	12,85	4,10	1,10	10,10
Número de racimos florales masculinos	46,85	9,90	22,95	48,15	9,94	23,25	39,35	8,91	22,50	42,00	7,79	21,10
Número de racimos florales femeninos	34,10	4,90	10,60	28,45	5,08	11,95	26,55	4,30	13,50	22,40	2,17	13,50
Longitud eje central inflorescencia masculina	56,15	14,35	23,00	58,80	14,19	23,60	5,00	3,01	26,90	4,55	2,70	22,15
Longitud eje central inflorescencia femenina	14,50	4,92	32,55	13,00	4,53	33,40	4,15	1,03	24,30	3,95	1,09	27,30
Número de flores por inflorescencia masculina	392,55	272,60	85,25	288,90	174,37	61,70	2,55	2,02	83,75	3,75	2,31	76,85
Número de flores por inflorescencia femenina	3,40	1,29	33,75	4,50	1,23	27,00	2,15	1,06	47,30	2,05	1,00	48,75
Longitud del pedúnculo de la flor femenina	13,00	4,70	31,40	13,35	4,90	27,00	4,40	1,10	12,95	5,00	1,00	11,80
Longitud del pedúnculo de la flor masculina	5,85	1,20	20,60	6,40	1,30	20,95	3,50	0,70	10,60	4,25	0,80	7,40
Longitud de la flor masculina	4,15	0,62	9,05	3,95	0,60	8,50	4,35	0,52	8,00	4,05	0,56	9,00
Longitud de la flor femenina	5,65	0,95	9,40	5,60	0,95	7,70	5,35	0,64	6,35	5,20	0,40	7,15
Diámetro de la flor masculina	0,20	0,01	7,35	0,20	0,02	6,95	0,70	0,06	6,60	0,70	0,05	6,90
Diámetro de la flor femenina	1,85	0,10	8,20	1,80	0,10	9,30	1,95	0,09	8,00	1,85	0,09	8,95
Fructificación	89,05	3,10	19,05	87,50	2,30	13,80	86,25	1,90	17,70	73,00	1,80	17,65
Número de frutos por planta	112,00	50,28	44,40	97,40	23,04	23,10	33,45	11,07	39,35	18,15	7,59	34,80
Diámetro ecuatorial del fruto	9,00	3,17	38,70	7,90	3,20	37,20	12,55	3,49	30,85	11,90	2,79	31,90
Diámetro polar del fruto	11,95	3,16	36,65	10,90	3,99	33,65	23,85	3,84	28,00	22,30	3,53	27,35
Relación ancho/largo del fruto	0,70	0,02	13,05	0,75	0,01	12,20	0,75	0,01	13,55	0,70	0,01	10,95
Grosor del mesocarpio del fruto	1,20	0,54	37,50	1,30	0,63	49,35	3,10	0,28	10,10	3,25	0,30	8,40
Masa promedio del fruto	366,20	167,82	50,20	340,55	141,47	45,85	2183,50	358,39	39,50	2237,35	459,18	24,40
Rendimiento por planta	40,50	24,48	57,80	33,20	15,53	48,35	69,75	28,99	36,50	40,60	18,12	37,00
Sólidos solubles totales	11,65	0,65	14,75	11,65	0,63	8,15	10,00	0,86	11,90	10,00	0,84	8,40
Acidez total	0,03	0,00	4,65	0,03	0,00	5,60	0,03	0,00	5,70	0,03	0,00	5,55
pH	4,90	0,20	2,90	4,90	0,18	2,10	5,05	0,23	2,95	5,10	0,22	4,35
Contenido de Vitamina C	56,40	9,14	13,15	55,05	8,25	14,85	65,90	9,20	19,40	64,45	8,90	19,15
Número semillas por fruto	368,90	173,98	56,70	308,30	164,62	51,90	320,70	213,35	47,50	312,10	195,69	49,50
Longitud de las semillas	6,10	0,87	16,05	6,30	0,99	17,80	6,85	0,56	10,75	6,70	0,82	11,90
Diámetro de las semillas	4,00	0,52	17,80	4,15	0,60	16,60	4,80	0,39	16,40	4,85	0,39	15,65
Masa de 100 semillas	1,81	0,30	23,35	1,85	0,34	23,15	2,05	0,18	6,45	2,10	0,27	1,65

Leyenda: Promedio (\bar{x}). Desviación estándar (DS). Coeficiente de variación (CV). Letras en negritas indican CV \geq 20 %.

48,8 % de los descriptores empleados, lo que demostró su mayor variabilidad morfoagronómica con respecto a `Maradol Roja`. En este sentido, Franco e Hidalgo (2003) plantearon que valores de $CV \geq 20$ % indican que existe alta variabilidad. No obstante, el grado de variabilidad de un carácter no muestra necesariamente la magnitud de su utilidad desde el punto de vista del cultivo, esto depende del interés para explotar la variabilidad presente en un genotipo o en la especie.

La mayor diversidad observada en el genotipo silvestre pudo estar dada por el flujo genético entre las plantas en la zona prospectada. En cambio, para la obtención de las semillas certificadas de `Maradol Roja` la polinización de las flores es dirigida, con el propósito de que provengan de flores hermafroditas. Además, este cultivar es estable por haber estado sometido a largos procesos de selección (Romero *et al.*, 2013).

La variabilidad en la masa promedio de los frutos hallada *ex situ* para el genotipo silvestre obedece, fundamentalmente, al origen genético, que en iguales condiciones de cultivo dio lugar a una alta variabilidad fenotípica en cuanto a tamaños y formas de los frutos. Sin embargo, en `Maradol Roja` se debió al tipo de planta, según las flores que origina, o sea, flores femeninas o hermafroditas. En otras investigaciones, Enríquez (1991) encontró que los caracteres que se relacionan con el fruto se afectan poco por el ambiente.

Resultados similares a los de la presente investigación encontraron Alonso *et al.* (2007) en la caracterización morfoagronómica de recursos fitogenéticos de *C. papaya* cultivados. Estos autores plantearon que la variación morfológica o fenotípica es la forma más fácil de determinar la variación genética.

Los valores del grosor del mesocarpio del fruto y la masa de 100 semillas del genotipo silvestre, así como, el número de semillas por fruto en ambos genotipos puede asociarse con la diversidad en el tamaño de los frutos y al tipo de flor que dio origen a los mismos. En los frutos pequeños, presentes en el genotipo silvestre, el número y la masa de las semillas tiende a ser menor que en los frutos de mayor tamaño.

Por otro lado, los frutos que provienen de plantas hermafroditas, donde las flores son autofecundadas, generalmente se logra mayor número de semillas que las provenientes de

plantas femeninas, que son de polinización cruzada. Es importante destacar que las flores hermafroditas del papayo se autopolinizan en un 99 % (Chan *et al.*, 1994).

En este sentido, en ambos genotipos el número de lóbulos, la longitud y el diámetro de la flor, la acidez total y el pH, mostraron bajos coeficientes de variación (Tabla 7), lo que se debió a que las características de la flor resultan poco influenciadas por el ambiente y los frutos del género *Carica* son notables por su bajo y estable contenido de ácidos en la porción comestible. Resultados similares para caracteres relacionados con la flor, en ambientes diferentes, y bajos niveles de acidez en frutos de diversos cultivares, obtuvieron Enríquez (1991) y Lazare *et al.* (2011), respectivamente.

Los genes pueden o no expresarse en características identificables de forma visual (Franco e Hidalgo, 2003). Es por esto, que la variabilidad morfoagronómica en los descriptores cuantitativos indica el nivel de variabilidad que se pretende medir o describir. Esto permite elegir las herramientas o métodos estadísticos adecuados para analizar los datos resultantes del estudio de caracterización. A partir de este criterio y de la variabilidad observada, es necesario relacionar los descriptores de mayor contribución a la variabilidad total para la caracterización del genotipo silvestre.

b) Caracterización del genotipo papayo silvestre con el empleo de los descriptores de mayor contribución a la variabilidad

La selección de descriptores a través del ACP, de la divergencia encontrada en los descriptores evaluados se muestra en la tabla 8. Se apreció que el 58,61 % de la variabilidad total observada se explicó con tres componentes; la primera extrajo el 31,73 %, la segunda el 16,81 % y la tercera el 10,07 %. En estudios donde se involucra un número significativo de descriptores, como en la presente investigación, la variabilidad debe distribuirse en la mayoría de los ejes factoriales, donde los primeros solo acumulan entre el 50 % y el 60 % (Fundora *et al.*, 1992).

El 39 % (16) de los descriptores contribuyeron con porcentajes iguales o superiores al 70 %, lo que permitió descartar 25 descriptores con porcentajes inferiores de contribución a la variabilidad total, los cuales no se consideraron en las evaluaciones posteriores (Pardo y

Tabla 8. Valores porcentuales de variabilidad explicada en el análisis de componentes principales (ACP) para los descriptores morfoagronómicos cuantitativos de los genotipos papayo silvestre y 'Maradol Roja' (*Carica papaya* L.).

Componentes	Variabilidad (%)	Acumulado (%)		
		CP 1	CP 2	CP 3
CP 1	31,73	31,73		
CP 2	16,81	48,54		
CP 3	10,07	58,61		
Variables analizadas	Porcentaje de contribución relativa			
	CP 1	CP 2	CP 3	
Altura de la planta	0,872	-0,040	-0,117	
Altura a la primera flor	0,896	-0,056	-0,002	
Diámetro de la base del tallo	0,077	0,726	-0,011	
Longitud de la raíz	0,716	-0,095	0,080	
Longitud del peciolo	0,170	0,278	0,243	
Longitud del limbo	-0,006	0,483	-0,293	
Ancho del limbo	0,586	0,306	0,169	
Relación largo/ancho del limbo	-0,058	-0,083	0,470	
Frecuencia en la emisión de hojas	0,073	-0,111	-0,113	
Número de hojas	-0,385	0,147	0,215	
Número de lóbulos	-0,300	0,039	0,127	
Distancia entre nudos	0,288	0,504	0,141	
Volumen de la copa	0,670	0,327	0,142	
Número de racimos florales masculinos	0,301	-0,053	0,027	
Número de racimos florales femeninos	0,177	0,538	0,381	
Longitud inflorescencia masculina	0,934	-0,064	-0,043	
Longitud inflorescencia femenina	0,828	0,021	0,027	
Número de flores por inflorescencia masculina	0,715	-0,061	-0,077	
Número de flores por inflorescencia femenina	0,696	-0,180	0,036	
Longitud del pedúnculo de la flor masculina	0,039	0,499	0,090	
Longitud del pedúnculo de la flor femenina	0,158	0,565	0,038	
Longitud de la flor masculina	0,341	-0,158	0,040	
Longitud de la flor femenina	0,255	-0,029	-0,048	
Diámetro de la flor femenina	0,311	0,287	0,143	
Diámetro de la flor masculina	0,118	0,409	-0,156	
Fructificación (%)	0,352	0,330	0,521	
Número de fruto por planta	0,807	0,054	0,043	
Diámetro ecuatorial del fruto	-0,029	0,420	0,748	
Diámetro polar del fruto	-0,857	-0,009	0,114	
Relación ancho/largo del fruto	-0,283	0,443	-0,172	
Grosor del mesocarpio del fruto	-0,892	0,010	0,042	
Masa promedio del fruto	-0,940	0,079	0,050	
Rendimiento por planta	-0,055	0,390	-0,812	
Sólidos solubles totales	0,077	0,726	-0,011	
Acidez total	0,718	-0,037	0,061	
pH	-0,228	0,069	-0,243	
Contenido de Vitamina C	0,214	0,598	0,050	
Número de semillas por fruto	-0,024	0,536	-0,036	
Longitud de las semillas	-0,364	0,302	-0,050	
Diámetro de las semillas	-0,503	0,104	-0,107	
Masa de 100 semillas	-0,496	-0,045	0,183	

Leyenda: Letras en negrillas subrayadas indican contribución superior al 70 %.

Ruiz, 2002). Para la selección de los descriptores se tuvo presente además, que en el proceso de caracterización, se puede medir la variabilidad genética de las plantas identificadas, establecer su representatividad y relación con la variabilidad de la especie en la región.

El ACP es una herramienta útil para analizar los datos que se generan de la caracterización y evaluación preliminar del germoplasma, que permite seleccionar las variables cuantitativas más discriminatorias para limitar el número de mediciones en caracterizaciones posteriores (Franco e Hidalgo, 2003). Con este propósito, Florido (2007) en evaluaciones realizadas en tomate (*Solanum* spp.), eligió valores de contribución a la variabilidad total iguales o superiores al 50 %. Similar procedimiento siguió Rodríguez (2014) para la selección de descriptores en piña, lo que permitió la caracterización de los genotipos evaluados en esta especie.

En el presente estudio, la mayoría de los descriptores seleccionados (12) se ubicaron en la primera componente. En la componente dos, se ubicaron los descriptores diámetro del tallo y SST, mientras que en la tercera componente se ubicaron el diámetro ecuatorial del fruto y el rendimiento por planta (Tabla 8).

La ubicación de los descriptores por componentes evidenció cuales pudieran estar más relacionados, aspecto de interés en estudios de caracterización de RRFF. En este sentido, el diámetro polar del fruto, el grosor del mesocarpio del fruto y la masa del fruto se correlacionaron negativamente con respecto a la altura de la planta y a la primera flor, longitud de la raíz y de la inflorescencia, número de flores por inflorescencia, número de frutos por planta y acidez total.

Los resultados indicaron que las plantas de mayor desarrollo vegetativo, como el papayo silvestre, producen frutos de menores dimensiones y contenido de acidez total. Resultados similares a los presentes encontró Valla (2007) en plantas de papayo, donde se observó correlación entre la longitud de la raíz y la longitud de la planta.

Los descriptores morfoagronómicos seleccionados son de interés para los programas de mejoramiento, estos se relacionan con la arquitectura de la planta, características y producción de flores, calidad de los frutos y el rendimiento. Los mismos permiten la identificación de genotipos, determinar el valor promisorio de los recursos fitogenéticos, explotación más eficiente de las accesiones y definir estrategias de conservación.

Los descriptores seleccionados pudieran considerarse descriptores cuantitativos mínimos para la caracterización de *C. papaya* para el banco de germoplasma de Cuba. Con la excepción de la longitud de la raíz y el número de flores por inflorescencia, el resto de los descriptores permitieron caracterizar cultivares de papayo introducidos en el país e híbridos de procedencia nacional en el banco de germoplasma de Cuba (Alonso *et al.*, 2008a, 2008b, 2008c).

Caracterización del genotipo silvestre mediante los descriptores seleccionados

El análisis factorial no mostró efecto del año para ninguno de los descriptores cuantitativos en estudio, lo que se debió fundamentalmente, a que los experimentos se desarrollaron en la misma zona, en iguales períodos de siembra y bajo las mismas atenciones culturales. Herrera *et al.* (2013), de igual modo no encontraron efecto del año al estudiar la influencia de la distancia de muestreo en indicadores agronómicos de *Pennisetum purpureu* Schum, sembrados en el mismo periodo durante dos años consecutivos.

Caracteres evaluados en la planta

En la tabla 9 se muestra el comportamiento entre los genotipos para las evaluaciones realizadas a las plantas. Se apreció que el genotipo silvestre presentó diferencias significativas con respecto a 'Maradol Roja' para los descriptores evaluados.

La mayor altura de las plantas (319,2 cm) y la altura a la primera flor (90,5 cm), correspondió al genotipo silvestre. Estos valores se encuentran dentro del rango observado *in situ* y las descripciones realizadas por León y Alain (1953), para este recurso fitogenético en sus áreas naturales. Estos autores refirieron que el papayo silvestre crece entre 200 y 800 cm, aunque de acuerdo con MAG (2011), pueden alcanzar hasta 1 000 cm de altura. También se encontró coincidencia con la altura de las plantas de cultivares de alta

demanada internacionalmente como `Sunset` (339,2 cm), evaluados por Rodríguez *et al.* (2010).

Tabla 9. Valores de los descriptores morfoagronómicos evaluados en plantas de los genotipos papayo silvestre y `Maradol Roja` (*Carica papaya* L.)

Genotipos	Descriptores						
	Alpta (cm)	Al1fl (cm)	LR (cm)	Linflf (cm)	Linflm (cm)	Nfinflf	Nfinflm
Papayo silvestre	319,20 a	90,50 a	19,10 a	13,70 a	61,50 a	4,30 a	295,30 a
`Maradol Roja`	184,50 b	47,90 b	11,90 b	4,00 b	5,30 b	2,10 b	3,30 b
ES \bar{x}	3,02	0,80	0,30	0,27	0,82	0,10	12,76

Leyenda: (**Alpta**)-altura de la planta en precosecha. (**Al1fl**)-altura a la primera flor. (**LR**)-longitud de la raíz al trasplante. (**Linflf**)-longitud de la inflorescencia femenina. (**Linflm**)-longitud de la inflorescencia masculina. (**Nfinflf**)-número de flores por inflorescencia femenina. (**Nfinflm**)-número de flores por inflorescencia masculina. Medias con letras iguales no difieren entre sí, por la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En `Maradol Roja` las plantas alcanzaron 184,5 cm de altura, mientras que la primera flor se encontró a 47,9 cm del suelo (Tabla 9), lo que demuestra que es una planta de porte mediano. Este resultado es semejante al que obtuvo Alonso *et al.* (2008b) en evaluaciones realizadas al mismo cultivar, donde lograron 191 cm de altura de la planta y 45,4 cm de altura a la primera flor. En este sentido Nar (2003), planteó que `Maradol Roja` es de porte bajo con altura entre 1,20 y 1,70 cm del nivel del suelo, pero en función de la agrotecnia y la edad de la planta puede llegar hasta los 230 cm de altura.

Generalmente, son preferidos los cultivares que emiten la primera flor a baja altura, como en `Maradol Roja`, debido a que se facilita la cosecha de los frutos y se disminuyen los costos de mano de obra, aspecto que coincide con lo señalado por Dantas *et al.* (2002). No obstante, Mirafuentes (1997) planteó que puede ser positivo el inicio de fructificación a baja altura por estar asociada a la precocidad y facilidad de la cosecha, pero que debido a las lluvias o labores de riego, se puede favorecer la diseminación de *Phytophthora* spp. en los frutos, lo que produce afectaciones notables en el rendimiento.

Por las consideraciones anteriores, la altura a la primera flor obtenida en el genotipo silvestre en este estudio, puede considerarse satisfactoria para las condiciones de Cuba.