

## Cantidad, viabilidad y germinabilidad de los granos de polen de *Carica papaya* L.

J. Parés-Martínez<sup>1</sup>, C. Basso<sup>2</sup>, D. Jáuregui<sup>2</sup> y L. Meléndez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Decanato de Agronomía, Universidad Centrocidental "Lisandro Alvarado" Apartado Postal 400. Tarabana, cabudare

<sup>2</sup>Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela. Apartado Postal 4579. Maracay

### Resumen

A fin de contribuir al conocimiento de la biología floral de la lechosa cv. Cartagena Amarilla, se determinó la cantidad, viabilidad y germinabilidad de los granos de polen en flores masculinas y hermafroditas, según la clasificación de Storey. Tanto la cantidad como la viabilidad fueron determinadas mediante la metodología del hematocitómetro, utilizando como colorante azul de anilina en lactofenol al 1%. Para la germinabilidad se usó una solución de sacarosa al 5%. Los resultados indicaron marcadas diferencias entre los tipos florales. Así, los tipos florales IV, IV+ y V produjeron la mayor cantidad de granos de polen por flor, comparados con los tipos II y III. Los porcentajes de viabilidad fueron 6, 22, 69, 73 y 91% para los tipos florales II, III, IV, IV+ y V, respectivamente. Mientras que, los porcentajes de germinabilidad fueron de 11, 19, 71, 77 y 92% para los tipos II, III, IV, IV+ y V, respectivamente. Estos resultados permiten concluir que a medida en que los tipos florales tienden hacia la masculinidad incrementa la cantidad, viabilidad y germinabilidad de sus granos de polen.

**Palabras clave:** Lechosa, cantidad de granos de polen, germinabilidad de los granos de polen, viabilidad de los granos de polen.

### Introducción

La lechosa o papaya (*Carica papaya* L.) es una especie de porte bajo, semileñosa, nativa del trópico americano (3). El fruto, además de ser utilizado para el consumo fresco sirve para la extracción de papaina, una enzima digestiva, obtenida del látex y con usos múltiples en la industria (5, 15).

En esta especie, se manifiestan diferentes formas sexuales que incluyen desde plantas con flores únicamente pistiladas hasta plantas puramente estaminadas, pasando por diversos grados de masculinidad o femineidad (15). Storey (18) señaló diversas formas sexuales que pueden

ser reconocidas por la aparición de ciertos tipos florales, consideró la existencia de 6 tipos bien definidos, uno femenino, tres hermafroditas y dos masculinos, designados comúnmente como tipos florales I, II, III, IV, IV+ y V, respectivamente. Estas flores crecen en inflorescencias axilares, pendulosas o cortas, según sea el genotipo sexual; en las plantas androicas la inflorescencia es larga, colgante y con ramificaciones abundantes, mientras que en las andromonoicas y ginoicas se reduce a unos cuantos centímetros de longitud, con escasas flores (3).

Las flores hermafroditas se distinguen por el número y distribución de los estambres, forma de ovario y características de la corola; estas flores también se les denomina "pentandria" (tipo II), "irregular" (tipo III) y "elongata" (tipo IV); las flores de tipo III y en menor grado las del tipo II presentan carpeloidía de estambres. Las flores masculinas pueden ser "funcional masculina" (tipo IV+) y "masculina típica" (tipo V); estas flores no desarrollan frutos (13).

La información existente sobre la biología reproductiva de la lechosa es muy escasa, (6) estando centrada básicamente a las condiciones de Hawai, India y Sudáfrica. En líneas generales se ha señalado que la cantidad de polen fértil varía de acuerdo a las condiciones ambientales y del material genético evaluado (8, 12).

Linárez (10) mencionó que en el cultivar de lechosa Cartagena Roja el tipo floral IV+ produjo la mayor cantidad de granos de polen fértil por flor en comparación a los tipos florales IV y V, siendo la cantidad producida

148.400, 104.440 y 107.600, respectivamente.

Adicionalmente, se ha demostrado que la germinación de los granos de polen "*in vitro*" fue un indicativo confiable de la germinación "*in vivo*" (14). La mayoría de los granos de polen germinaron en soluciones azucaradas, señalándose que el uso de soluciones de sacarosa dio una indicación razonable acerca de la viabilidad del polen en comparación con otros métodos (4). En lechosa, se ha obtenido entre un 85 y 90% de germinación de los granos, una hora después de ser colocados en un medio con agar y sacarosa; además, se hace necesario indicar que el tamaño del tubo polínico desarrollado por los granos germinados artificialmente fue igual al desarrollado bajo condiciones naturales, para alcanzar a los óvulos (7).

Linárez (10) reportó que los tipos florales IV+ y IV produjeron la mayor cantidad de granos de polen viables por flor en comparación al tipo floral V, siendo el porcentaje de viabilidad de 87, 86 y 83%, respectivamente. En este mismo sentido, Garrett, (8) determinó que, en promedio, un 90% de los granos de polen recién liberados fueron viables. Sin embargo, condiciones ambientales adversas pueden disminuir la viabilidad del polen hasta 5% en ciertas líneas de lechosa. Consideraciones similares fueron presentadas por Magdalita *et al.* (12) señalando que la viabilidad de los granos de polen de lechosa fue afectada no solo por características genéticas sino también por las condiciones climáticas imperantes en cada región donde se realizaron las evaluaciones.

En función a lo planteado anteriormente y dada la importancia que tiene el estudio de los aspectos relacionados con la biología reproductiva de las especies cultivadas, en esta investigación se evaluó la cantidad,

germinabilidad y viabilidad de los granos de polen producidos por los distintos tipos florales de la lechosa (*Carica papaya* L.) cv. Cartagena Amarilla en la zona de la Cuenca del Lago de Valencia.

## Materiales y métodos

El experimento se realizó con polen extraído de plantas de lechosa cv. Cartagena Amarilla cultivadas en una parcela de 1050 m<sup>2</sup>, ubicada en terrenos del campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Central de Venezuela, Maracay. Las condiciones climáticas registradas durante el desarrollo de las plantas se resumen en la figura 1. Las muestras de polen se recolectaron en el mes de febrero, época en que prevalecieron altas temperaturas, radiación, insolación y evaporación.

El material genético se caracterizó por ser de porte alto, tallos y pecíolos verdes con floración cuatro meses después del trasplante y por presentar frutos de corteza amarillo claro, pulpa anaranjado pálido y de sabor dulce (2). La siembra se realizó en bolsas de polietileno, el suelo se desinfectó previamente con agua caliente. Las plántulas fueron protegidas inicialmente del sol colocándolas bajo sombra y se sometieron a plena exposición solar 10 días antes del trasplante a campo. El control de malezas durante la fase de vivero se realizó manualmente. A los tres meses de edad las plantas fueron llevadas a campo donde se realizaron labores agronómicas como control de malezas, riego y fertilización. Una vez

alcanzada la etapa reproductiva por las plantas se identificaron los distintos tipos florales y se inició la evaluación de las variables.

### Variables evaluadas:

**Cantidad y viabilidad.** Se recolectaron al azar 5 flores de los tipos II, III, IV, IV+ y V. Las mismas tenían anteras maduras, no dehiscentes, se llevaron al laboratorio en bolsas de papel, y posteriormente se les extrajeron las anteras. Para estimar la cantidad total de granos de polen (viables y no viables) se utilizó la metodología del hematocitómetro señalada por Lloyd (11). Bajo el microscopio estereoscópico y con ayuda de dos agujas de disección se abrió una antera de cada flor, sobre una piedra de toque y luego se agregó 0,1 ml de azul de anilina en lactofenol al 1% para colorear los granos de polen viables, considerado éste como volumen de dilución. Se verificó que todos los granos de polen quedaran fuera de las anteras y éstas fueron retiradas del líquido. La mezcla se agitó bien con una aguja y una gota de dicha mezcla fue transferida a cada una de las cámaras del hematocitómetro, usando una pipeta Pasteur. En cada medición se contaron los granos de polen viables y

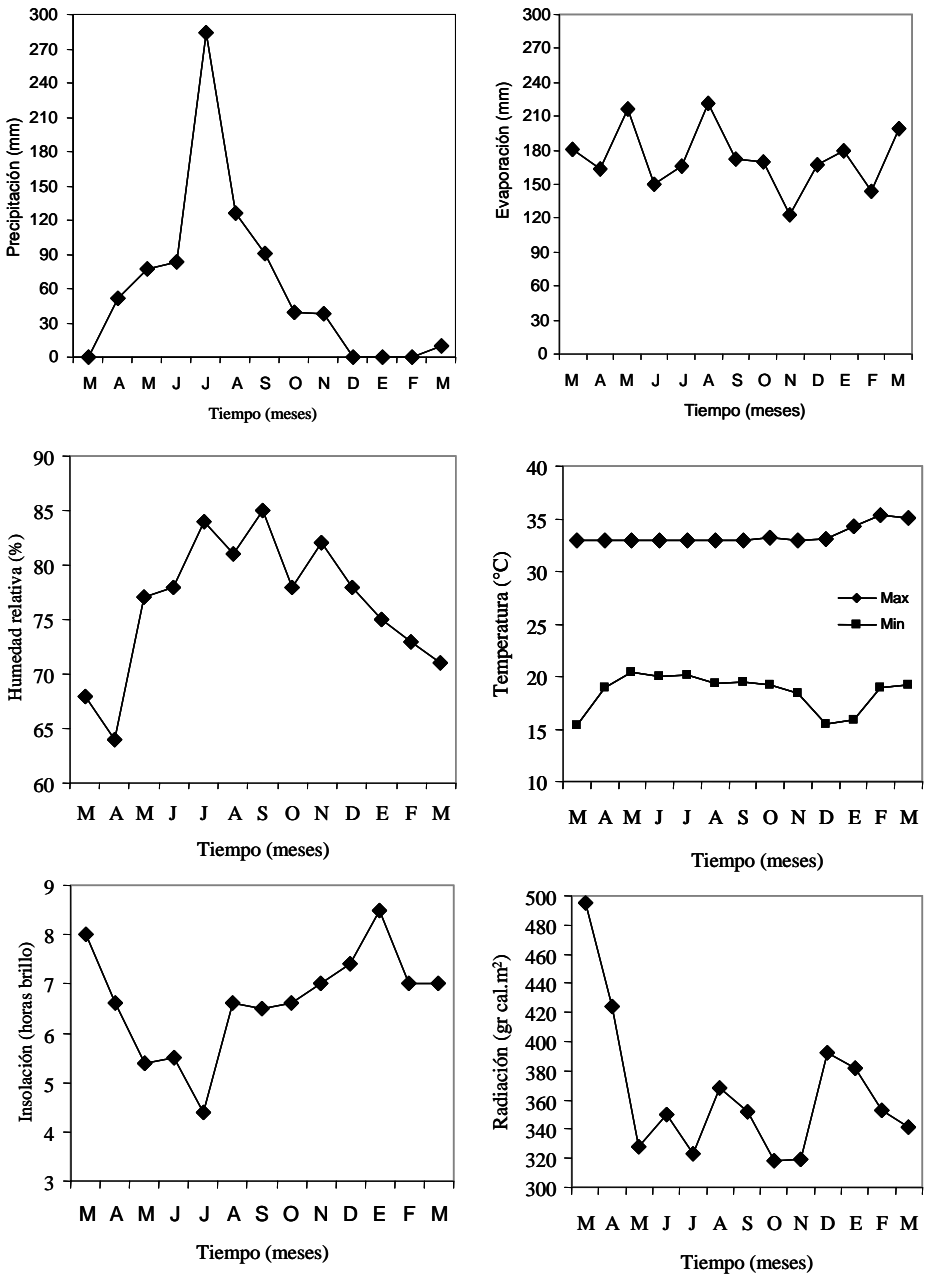


Figura 1. Datos climáticos registrados durante el desarrollo de las plantas *Carica papaya* L. Fuente: Departamento de Climatología INIA-Maracay.

no viables (no coloreados y deformes). El cálculo de la cantidad total de granos de polen (viables y no via-

bles) por flor se realizó aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Cantidad de granos de polen/flor} = \frac{\text{N}^\circ \text{ granos/cámara} \times \text{vol. de dilución} \times 10^4 \times \text{N}^\circ \text{ anteras}}{4}$$

4

Germinabilidad "*in vitro*". Para su determinación se utilizaron 6 flores masculinas de las formas androica y andromonoica (V y IV+ respectivamente) y 6 flores de cada tipo hermafrodita de la forma andromonoica (II, III y IV). Las flores se recolectaron intactas, en fase de botón, pero con sus anteras maduras, aún sin abrir; se llevaron al laboratorio en bolsas de papel. Las anteras fueron desprendidas cuidadosamente y se colocaron en una piedra de toque a fin de extraer los granos de polen. Para evaluar la germinación inicialmente se utilizó un medio azucarado, constituido por sacarosa al 5%. Los granos de polen de cada tipo floral se distribuyeron uniformemente en la solución azucarada, luego con una pipeta Pasteur se tomó una alícuota de la solución y se colocó sobre un portaobjeto ubicado dentro de una caja de Petri que contenía un papel de filtro humedecido. Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente ( $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ) y a partir de la primera hora de incubación se comenzaron a

realizar observaciones a intervalos de una hora, hasta que el porcentaje de germinación fue más o menos constante. Los granos de polen germinados y no germinados se observaron a través del microscopio óptico y los porcentajes de germinación fueron calculados contando aproximadamente 100 granos al azar en un determinado campo óptico y utilizando al menos 5 campos ópticos por muestra. El procedimiento se repitió 6 veces para cada tipo de flor.

#### **Análisis estadísticos.**

Los datos correspondientes a las distintas variables fueron sometidos al análisis de la varianza de un diseño completamente aleatorizado, previa comprobación de los supuestos del análisis. Al detectarse diferencias significativas entre los tratamientos se realizaron pruebas de comparaciones múltiples de medias de acuerdo a Duncan a un nivel de significación del 5%, se utilizó el Statistic Analysis System 6.12 (17), como programa estadístico.

## **Resultados y discusión**

Los resultados revelaron diferencias significativas entre los distintos tipos florales, por lo que el tipo de flor afectó la cantidad, viabilidad y germinabilidad de los granos de polen producidos por plantas de lechosa cv. Cartagena Amarilla (cuadro 1). Al

comparar las medias se encontró que, los tipos florales pueden ser clasificados en dos grupos, en función a la cantidad total de granos de polen que produjeron; un primer grupo formado por los tipos IV, IV+ y V con 238.680, 229.920 y 223.680 granos, respectiva-

**Cuadro 1. Cantidad, germinabilidad y viabilidad de los granos de polen para cada tipo floral en lechosa.**

Tipo floral	Anteras.flor <sup>-1</sup> (número)	Granos de polen.flor <sup>-1</sup> (número)	Germinabilidad (%)	Viabilidad (%)
II	5	107220±4458 <sup>b</sup>	11,08±1,48 <sup>c</sup>	6,10±0,86 <sup>d</sup>
III	3 a 7	106776±3626 <sup>b</sup>	18,58±2,98 <sup>c</sup>	22,25±0,75 <sup>c</sup>
IV	10	238680±12053 <sup>a</sup>	71,22±3,31 <sup>b</sup>	69,26±1,22 <sup>b</sup>
IV+	10	229920±3940 <sup>a</sup>	76,89±3,06 <sup>b</sup>	72,91±1,14 <sup>b</sup>
V	10	223680±10991 <sup>a</sup>	91,53±2,21 <sup>a</sup>	91,42±1,24 <sup>a</sup>

En el sentido de las columnas, valores medios acompañados de la misma letra fueron similares estadísticamente según la prueba de rangos múltiples de Dúncan a 5% de probabilidad.

mente y el segundo incluyó los tipos florales II y III con 107.220 y 106.776 granos de polen, respectivamente. Los resultados de esta investigación no coincidieron con lo reportado por Lassoudiere (9) en el sentido de que mencionó que la cantidad de polen fértil producido por antera fue entre 10.000 a 14.000 granos. Igualmente, Linárez (10) reportó que el tipo floral IV+ de la lechosa Cartagena Roja produjo la mayor cantidad de granos de polen fértil por flor en comparación a los tipos florales IV y V, siendo la cantidad producida 148.400, 104.440 y 107.600, respectivamente. Similar a lo reportado por Lassoudiere (9)

Al respecto, Garret (8) señaló que la producción de polen de las plantas de lechosa fue afectada por factores ambientales y por el material genético, disminuyendo significativamente la cantidad de polen producido en las épocas adversas del año.

En los análisis estadísticos realizados a las pruebas de germinabilidad se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0,05$ ) entre los distintos tipos florales evaluados

(cuadro 1), así mismo, con la prueba de Duncan se encontró que estos últimos pueden ser clasificados en tres grupos; un primer grupo formado por el tipo floral V con el mayor porcentaje de germinación (92%), el segundo grupo incluyó los tipos IV+ y IV con 77% y 71%, respectivamente, y el tercer grupo formado por los tipos florales III y II con 19% y 11%, respectivamente.

La alta germinabilidad obtenida en los granos de polen del tipo floral V fue diferente a lo reportado por Mekako y Nakasone (14), en promedio obtuvieron 40% de germinación de los granos de polen en las flores estaminadas. Por su parte, Foster (7) reportó entre 85 y 90% de germinación para el mismo tipo floral, resultado muy similar al obtenido en este estudio. Sin embargo, Garret (8) señaló que la producción de polen fértil en plantas de lechosa estuvo influenciada por factores ambientales y el material genético empleado.

Foster (7) señaló que la germinación *in vitro* de los granos de polen ocurrió en la primera hora des-

pués de colocarlos en el medio de germinación, pero sus resultados difirieron de los obtenidos en esta investigación. Aun cuando los granos de polen comenzaron a germinar a la primera hora de ser colocados en el medio de cultivo, alcanzaron su máxima germinabilidad 5 horas después de la incubación (figura 2). Estas diferencias podrían atribuirse al efecto del genotipo utilizado, las condiciones ambientales o la metodología aplicada.

El porcentaje de granos de polen viables por flor fue significativamente mayor ( $P \leq 0,05$ ) en el tipo floral V, seguido por los tipos IV+ y IV, los cuales estadísticamente presentaron un comportamiento similar y por último los tipos florales III y II (cuadro 1).

Linárez (10) igualmente reportó que los tipos florales IV+ y IV, de la lechosa Cartagena Roja, produjeron la mayor cantidad de granos de polen viables por flor seguidos por el tipo floral V, siendo los porcentaje de

viabilidad de 87, 86 y 83%, respectivamente. En este mismo sentido, Garrett (8) determinó que, en promedio, un 90% de los granos de polen recién liberados fueron viables. Sin embargo, condiciones ambientales adversas pueden disminuir la viabilidad de los granos de ciertas líneas de lechosa hasta un 5%.

El bajo porcentaje de germinabilidad y viabilidad de los granos de polen en los tipos pentandria e irregular (II y III) puede deberse a que estos no son tipos florales normales, sino que son considerados variantes polimórficas, producto de un estado transicional poligénico entre las flores "elongatas" (tipo IV) y pistiladas (tipo I) (6, 16). De acuerdo a los resultados obtenidos, la escasa germinabilidad y viabilidad observada para estos tipos florales (II y III) pueden representar un factor limitante para una exitosa fertilización; sin embargo, su influencia en el detrimento de la cantidad de semillas

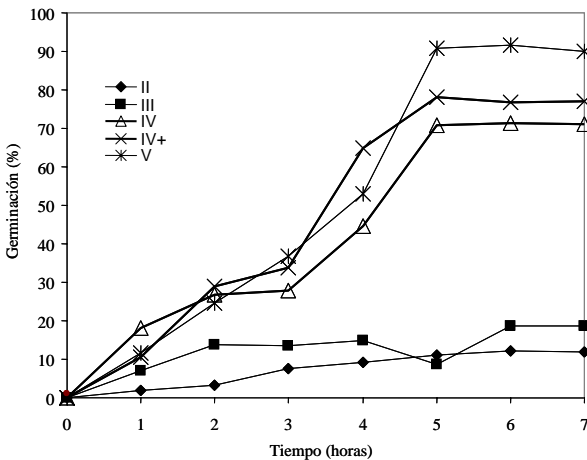


Figura 2. Germinación "in vitro" de los granos de polen de los distintos tipos florales de lechosa.

dependerá de la carga de polen sobre el estigma y de la cantidad de polen no viable que por azar caiga sobre éste. Por el contrario, la alta cantidad, viabilidad y germinabilidad de los granos de polen producidos por el tipo floral masculino de la forma sexual

androica en comparación a la de los demás tipos florales, confirma que su función principal es la de producir polen para asegurar una efectiva polinización y posterior fecundación, tal como lo señaló Arnal (1).

## Conclusiones

A medida que los tipos florales tienden a la masculinidad incrementaron la cantidad, viabilidad y germinabilidad de sus granos de polen, siendo los tipos florales II y III las variantes polimórficas que presentaron el más bajo nivel de germinabilidad y viabilidad de los granos de polen, lo cual puede represen-

tar un factor limitante para una exitosa fertilización. Por el contrario, la alta cantidad, germinabilidad y viabilidad de los granos de polen producidos por los tipos florales masculinos, confirma que su función principal es la de producir polen para asegurar una efectiva polinización y posterior fecundación.

## Agradecimiento

Los autores expresan su agradecimiento a FUNDACITE-ARAGUA,

ente financiero de la presente investigación.

## Literatura citada

1. Arnal, H. 1955. Eficiencia relativa de los individuos androicos y andromonoicos de *Carica papaya* L. para transmitirse por el polen. Agr. Trop. 5(1):31-36.
2. Avilán, L. y C. Rengifo. 1986. El lechoso. Editorial América, Caracas. 168 p.
3. Badillo, V. 2000. *Carica* L. vs. *Vasconcella* St. Hil. (Caricaceae) con la rehabilitación de este último. Ernstia 10(2):74-79.
4. Da Silva, M. 1996. Influencia de abelhas na polinização e de agrotóxicos na germinação do pólen do maracujaceiro. (*Pasiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg). Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigencias do Curso de Fitotecnia, para obtenção de título de "Magíster Scientiae". Viçosa. Minas Gerais. Brasil. 59 pp.
5. El Moussaoui, A., M. Nijs, C. Paul, R. Wintjens, J. Vincentelli, M. Azarkan y Y. Looze. 2001. Revisiting the enzymes stored in the laticiferes of *Carica papaya* L. in the context of their possible participation in the plant defence mechanism. Cell and Molecular Life Sciences 58:556-570.
6. Fisher, J. 1980. The vegetative and reproductive structure of papaya (*Carica papaya* L.). Lonia 1(4):191-208.
7. Foster, L. 1943. Morphological and cytological studies on *Carica papaya* L. Bot. Gaz. 105(1):116-126.



8. Garrett, A. 1995. The pollination biology of pawpaw (*Carica papaya* L.) *In*: Central Queensland. PhD. Thesis. Central Queensland University. Rockhamptom. Australia. 125 p.
9. Lassoudiere, A. 1968. Le papayer (Deuxieme paitie). *Fruits* 23(11):585-596.
10. Linárez, R. Estudios sobre la biología floral de la lechosa. 2001. Trabajo de grado presentado para optar al título de Ing. Agronomó. Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Tarabana, Venezuela. 45 p.
11. Lloyd, D. 1965. Evolution of self-compatibility and racial differentiation in *Leavenworthia* (Cruciferae). *Contr. Gray. Herb.* 195:123-134.
12. Magdalita, P., R. Drew, I. Godwin y S. Adkins. 1998. An efficient interspecific hybridization protocol for *Carica papaya* L. x *C. cauliflora* Jacq. *Austr. J. Exp. Agri.* 38:523-530.
13. Medina. J. 1995. Cultura do mamoeiro. En Mamão. Serie Frutas Tropicais. 2<sup>da</sup> Edición. ITAL-CAMPINAS. Brasil. 367 p.
14. Mekako, H. y H. Nakasone. 1975. Floral development and compatibility studies of *Carica* species. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 100:145-148.
15. Nakasone, H. y R. Paull. 1998. Tropical Fruits. CAB International, Wallimngford. 310 p.
16. Rosen, L. y E. Smets. 1999. The floral development and anatomy of *Carica papaya*. (Caricaceae). *Can. J. Bot.* 77:582-598.
17. SAS Institute, Inc. 1996. SAS user's guide. SAS Inst., INC., Cary, NC. 330 pp.
18. Storey, W. 1941. The botany and sex relationship of the papaya. p. 5-22. *In*: Papaya production in the Hawaiian Islands. Hawaii Agric. Exp. Sta., University of Hawaii. Buletin 87.