

NIVELES DE N, P Y K, ANATOMÍA DE ÓVULOS Y PRESENCIA DE TUBOS POLÍNICOS, Y CALOSA EN LOS OVARIOS ABORTIVOS DE PAPAYA (*Carica papaya* L.)

F. Bautista-Calles; C. Acosta-Zamudio; E. Vidal-Lezama

Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo Km. 37.5 Carretera México-Texcoco, CP 56230 Texcoco, Edo. de México, México.

RESUMEN

Se hizo un muestreo de ovarios abortivos de plantas femeninas de papayo tipo Cera para determinar la concentración de N, P, y K, estudiar la anatomía y determinar la presencia de polen en estigma, tubos polínicos y calosa en el funículo, mediante microscopía de fluorescencia. Se encontró que los ovarios senescentes presentaban igual concentración de N (5.26 vs 5.07 %) y K (1.51 vs 1.46 %) y menos P (0.44 vs 0.50 %) respecto a los ovarios sanos, con base en peso seco. Anatómicamente, en los ovarios abortivos se observó una reducción en el tamaño de los óvulos y una degradación de los tegumentos. En cuanto a la presencia de polen y tubos polínicos en los ovarios abortivos, 80 % lo presentaron en los estigmas y 90 % en las cavidades internas del ovario, respectivamente. Se identificaron depósitos de calosa en el funículo en 90 % de los ovarios abortivos, por lo que probablemente el aborto se debe a un desfase entre el período requerido para el desarrollo del tubo polínico y el período de viabilidad de los óvulos.

PALABRAS CLAVE: Amarre, óvulo, período de polinización efectiva.

N, P, AND K LEVELS, ANATOMY OF OVULES, PRESENCE OF POLLEN TUBES AND CALLOSA IN ABORTIVE OVARIES OF PAPAYA (*Carica papaya* L.)

SUMMARY

Sample of abortive ovaries of feminine plants of Cera type papaya was done to determine the concentration of N, P, and K, to study the anatomy, and to determine the presence of pollen on the stigma, pollen tubes and callosa in the funicle, using fluorescent microscopy. It was found that, based on dry weight, the senescent ovaries had equal concentrations of N (5.26 vs 5.07%) and K (1.51 vs 1.46%), and less P (0.44 vs 0.50%), compared with healthy ovaries. Anatomically, in the abortive ovaries a reduction in the size of the ovules and a degradation of the integuments were observed. As to the presence of pollen and pollen tubes in abortive ovaries, in 80% they were found in the stigmas and in 90% they were found in the internal cavities of the ovary. Deposits of callosa were identified in the funicle in 90% of the abortive ovaries. Thus, abortion is probably triggered by an asynchrony between the period required for pollen tube growth and the period of ovule viability.

KEY WORDS: Fruit set, ovule, effective pollinization period.

INTRODUCCIÓN

En México el orden de importancia de los factores que limitan al cultivo de papayo son: enfermedades virales, enfermedades fungosas, malezas, carencia de variedades, falta de fertilización adecuada y plagas. El cultivo del papayo en México presenta además el problema de los bajos rendimientos debido al pobre amarre de frutos por planta, ya que el tipo Cera produce de 7 a 15 frutos por planta (de acuerdo a los datos de Cárdenas, 1992; Romero, 1992; Pereira, 1986), mientras que en otros cultiva-

res se puede obtener de 30 a 150 frutos por planta (Purseglove, 1968). Uno de los factores que puede influir en esta diferencia de amarre es la caída excesiva de flores en el tipo Cera. Por ejemplo, López (1993), en un estudio hecho en Veracruz, encontró que el número promedio de yemas florales por planta en papayo tipo Cera es de 59, de las cuales solamente 34 % de ellas amarran, lo que daría un número de 20 frutos por planta. Sin embargo, el problema es todavía más grave si se considera, de acuerdo con los datos de Acosta y González (1998), que solo 10 % de las plantas de un huerto de papaya tipo

Cera tienen más de 15 frutos, mientras que 68 % presentan menos de 10 frutos.

Existen varias causas por las cuales un huerto de papaya presenta un bajo número de frutos por planta, siendo frecuente que se cite la necesidad de la presencia de plantas masculinas en los huertos, sobre todo en las variedades o tipos en los que la producción se basa en las plantas femeninas (Baker, 1976), tal y como ocurre en la papaya tipo Cera. En estas condiciones se recomienda que los huertos tengan por lo menos una planta masculina por cada 25 plantas femeninas (Mandujano, 1993). En concordancia con esto, Nakasone (1987) afirmó que la principal causa por la que las flores pistiladas caen es por la falta de polen.

Por otra parte, existen estudios donde se revisa la anatomía de los ovarios y frutos abortivos, teniéndose el caso de trabajos como el de Yates y Sparks (1994), quienes encontraron en nogal que algunas características comunes de los ovarios de las flores abortivas era que los tegumentos estaban menos extendidos sobre la nucela del óvulo, que el número de células de parénquima, laterales al saco embrionario, era menor y que los sacos embrionarios estaban comprimidos; todo comparado a las características de los ovarios de las flores no abortivas. En cuanto al aborto, se ha encontrado en nogal que después de que ha ocurrido la fecundación, el diámetro, longitud y peso seco de los frutos abortivos era menor; mientras que en los óvulos de los mismos ovarios se notaba una separación del saco embrionario de la nucela (Yates y Sparks, 1995). Por su parte, Pimienta y Polito (1982) indicaron que otra señal de los óvulos de los frutos abortivos -que se nota cuatro días después de la polinización- incluye la detención del crecimiento de los óvulos, seguido de la separación de los tegumentos interno y externo, habiendo también reducción de las células de la nucela. En conjunto, Yates y Sparks (1994) indicaron que la causa del aborto de las flores de nogal puede ser un desarrollo incompleto de los óvulos.

Por su parte González *et al.* (1995) mencionaron que se ha probado que otra de las causas del pobre amarre de las plantas es la diferencia que se presenta entre la longevidad del óvulo y el tiempo necesario para que ocurra el crecimiento del tubo polínico (período de polinización efectiva, PPE). De acuerdo a estos autores, las dificultades han sido atribuidas al crecimiento lento de los tubos polínicos en el estilo o a la corta viabilidad de los óvulos, siendo una de las señales de la pérdida de viabilidad la aparición de depósitos de calosa en diferentes partes, tales como las células de la nucela, de la calaza, y la hipostasa (Dumas y Knox, 1983). Se sabe que existen diferencias en el PPE entre diferentes cultivares, por lo que debe haber influencia genética; sin embargo, este aspecto también puede ser influenciado por el estado nutricional de las plantas, tal y como ocurre con los niveles de nitrógeno en manzano (González *et al.*, 1995). De manera general, se dice que un buen nivel de nitrógeno

prolonga la viabilidad de los óvulos, lo que alarga el PPE (Westwood, 1982).

Debido a lo anterior, el objetivo del presente trabajo es determinar los niveles nutrimentales (N, P y K) de los ovarios abortivos, estudiar la anatomía de los óvulos de los mismos, buscar la presencia de polen y tubos polínicos en diferentes regiones y detectar la presencia de calosa en los óvulos de los ovarios abortivos del papayo tipo Cera.

MATERIALES Y MÉTODOS

La colecta del material vegetal se llevó a cabo el 11 y 12 de octubre de 1997, en una huerta comercial de 8 meses de edad de papaya tipo Cera, situada en la comunidad de Tamarindo, Mpio. de Puente Nacional, Veracruz, México. El total de plantas con que se trabajó durante el estudio fue de 80, distribuidas en 10 hileras de 8 plantas cada una, ubicadas en la parte central de la huerta, con un distanciamiento de 3 m entre hileras y de 2.5 m entre plantas.

Para el análisis de nutrimentos, se tomaron 30 ovarios de plantas femeninas sanos y 30 ovarios abortivos, a punto de desprenderse de la planta. Un ovario sano se consideró que era aquel que pertenecía a una flor femenina abierta, con los pétalos presentes y con los estigmas verdes, sin manchas necróticas, cafés. Un ovario abortivo se consideró que era aquel que estaba a punto de desprenderse de la planta, de color amarillo o café, carecía de pétalos y con los estigmas secos. Este material se colocó en bolsas de plástico, dentro de un refrigerador, antes de transportarlos, y en una hielera cuando se llevaron al laboratorio. A las 24 horas de colectado el material se determinó el peso fresco de los ovarios, desprendiendo los pétalos para el caso de los ovarios sanos. Posteriormente se pasaron a una estufa con aire forzado a 80°C, obteniéndose el peso seco al cabo de dos días. Después se molió el material en un mortero, guardándolo en bolsas de papel.

Debido a la pequeña cantidad de material seco, para el análisis del nitrógeno se reunieron las muestras de 14 ovarios sanos en pares, considerando esta mezcla como una sola muestra, lo que hizo un total de 7 muestras. Para 14 ovarios senescentes se procedió de la misma forma. En el caso del fósforo y el potasio se consideraron las 16 muestras restantes en forma individual para cada condición. Cada muestra se consideró una unidad experimental, realizándose en el análisis del nitrógeno tres repeticiones por unidad experimental y solo una repetición por muestra para el análisis del fósforo y del potasio.

El nitrógeno se determinó por el método de microkjeldal; el fósforo mediante el método del vanadato amarillo de molibdeno y el potasio a través de la lectura en un flamómetro Carl Zeiss FMD 13; todo de acuerdo a Chapman y Pratt (1973).

Las muestras para el estudio anatómico se fijaron en alcohol 70 %. Posteriormente de este material vegetal se seccionó primero un fragmento de la parte media del ovario cuidando que contuviese óvulos. Esta fracción se deshidrató en una serie gradual de etanol 30 a 100%, etanol-xilol (1:1) y xilol, incluyéndolos finalmente en parafina. Los cortes se hicieron en un micrótomos rotatorio (Milton Comp.), a 10 μ m de grosor, tiñéndose con verde rápido (0.12%) y safranina (0.05%) (Dávila, 1992).

Para la observación del polen y el tubo polínico se utilizaron 20 ovarios fijados en etanol 70 % para cada condición. En este caso se seccionó cada ovario en tres partes, el estigma y las partes apical y media del ovario. Este material vegetal fue rehidratado al colocarlo en agua, para ablandar luego el tejido durante cinco días con NaOH 2 N. Posteriormente, las porciones se lavaron con agua de la llave, para teñirlos con azul de anilina a 300 mg-litro⁻¹ (Cohen *et al.*, 1989) y observarlos en microscopio de fluorescencia Polyvar Reichert-Jung, con un Filtro No. 2. Se tomaron fotografías de los cortes y tejidos observados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de Nutrientes

En el análisis de los nutrientes de los ovarios sanos y abortivos se encontró una concentración semejante de nitrógeno y potasio y menos fósforo en los ovarios abortivos respecto a los ovarios sanos (Cuadro 1). De acuerdo a lo anterior, no son las diferencias de las concentraciones de nitrógeno y potasio las posibles responsables del aborto de los ovarios, quedando como posible factor influyente la menor cantidad de fósforo. En el mismo Cuadro 1 se observa también que los ovarios abortivos presentan mayor peso seco que los sanos, a diferencia de lo encontrado por Yates y Sparks (1995) en los frutos abortivos de nogal. La diferencia indica que, en este muestreo en papaya tipo Cera, no es la acumulación de biomasa la responsable de este aborto.

Anatomía de los Óvulos

Al hacer las observaciones de los cortes el óvulo de un ovario sano muestra los tegumentos externo e interno bien diferenciados, mientras que el saco embrionario se observa como un vacío en la nucela (Figura 1A). En el caso de los óvulos de los ovarios abortivos (Figura 2B) se encontró una clara diferencia en el tamaño, y además una degeneración de la nucela, del tegumento interno y algunas capas de células del tegumento externo, así como una separación entre el tegumento interno y el externo. Las células pertenecientes a la nucela se colapsaron y en algunos casos desaparecieron totalmente. En la Figura 1C se tiene un acercamiento de las capas de los tegumentos de un óvulo de un ovario sano, mientras que en la Figura 1D, de un óvulo de un ovario abortivo, en el que observa una separación entre el tegumento externo y el interno, una disminución del ta-

maño de las células en el tegumento interno y la nucela, mientras que el saco embrionario toma una forma irregular. La anatomía anterior coincide con lo reportado por Pimienta y Polito (1982) y Yates y Sparks (1994, 1995), quienes afirmaron que una señal del aborto de los óvulos es el menor tamaño de los óvulos, la separación de los tegumentos y el colapso de las células de estos tejidos.

Cuadro 1. Contenido nutrimental y peso de los ovarios abortivos y sanos de plantas femeninas de papaya tipo Cera. Tamarindo, Veracruz, México.

Variables	Ovarios Sanos	Ovarios Senescentes
N %	5.07 a	5.26 a
P %	0.50 a	0.44 b
K %	1.46 a	1.51 a
Peso seco (g)	0.40 b	0.54 a
Peso fresco (g)	4.46 a	4.91 a
Peso seco/Peso fresco	0.090 b	0.112 a

^z Medias en hileras con letras diferentes presentan diferencias significativas de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Presencia de Polen, Tubos Polínicos y Acumulación de Calosa

Se observó que tanto en los estigmas como en los ápices de los ovarios abortivos, 90 % presentaban polen y tubos polínicos, mientras que 80% de estos ovarios presentaban tubos polínicos en la cavidad interna de los ovarios, cerca de los óvulos, (Cuadro 2) lo que indica que no fue la falta de polen la causa del aborto de los ovarios, lo que contrasta con lo afirmado por Nakasone (1987), acerca de la causa por la que las flores pistiladas caen. Otro aspecto es que 90 % de los ovarios observados presentaban depósitos de calosa en el funículo, lo cual indica que mientras el tubo polínico avanzaba hacia el óvulo, el período de viabilidad de éste se acercaba a su fin, lo que se manifestó con el depósito de calosa en las paredes celulares, tal y como lo indicaron Dumas y Knox (1983).

Cuadro 2. Presencia de polen, tubos polínicos y depósitos de calosa en ovarios abortivos de plantas femeninas de papaya tipo Cera. Tamarindo, Veracruz, México.

Estructura	Frecuencia (%)
Estigmas con polen y tubos polínicos	90
Tubos polínicos en el ápice de los ovarios	90
Tubos polínicos en la cavidad interna del ovario y en el funículo	80
Depósitos de calosa en el funículo	90

En los ovarios sanos observados no se encontró calosa en el funículo de los óvulos.

En la Figura 2A se tiene la presencia de tubos polínicos en el estigma de los ovarios abortivos. En la Figura 2B se observa la acumulación de calosa en el funículo de los óvulos de los ovarios abortivos, mientras que en la Figura 2C, se tiene la detención del crecimiento de los tubos polínicos en la zona de acumulación de calosa del funículo de los óvulos de ovarios senescentes. Todo lo anterior indica que no es la falta de polinización o de desarrollo del tubo polínico lo que provocó la falla en el amarre en el ovario y el aborto, sino que probablemente la causa del proceso de aborto sea el desfase que habría entre la llegada del tubo polínico al óvulo y el término del período de viabilidad del mismo, manifestado por la formación de los depósitos de calosa en el funículo. Por último, en la Figura 2D se presenta la formación de depósitos de calosa en el ápice de los tubos polínicos, lo que de acuerdo Newbigin *et al.* (1993) es una indicación de incompatibilidad. Sin embargo, dado que esto solo se presentó en una sola muestra de 150, no puede considerarse que este sea el problema principal en el amarre de los frutos de la papaya tipo Cera, siendo sin embargo, un fenómeno que merece más estudios.

CONCLUSIONES

El contenido nutrimental de los ovarios abortivos es igual en lo referente a N y K ó mayor en cuanto a P a comparación de los ovarios sanos, lo que indica que la causa del aborto no son las diferencias en los contenidos nutrimentales de los mismos.

En la papaya tipo Cera las principales características anatómicas de los óvulos de los ovarios abortivos son su menor tamaño, y la degradación y separación de los tegumentos.

La presencia de polen y tubos polínicos en los estigmas, ápice y cavidad interna de los ovarios abortivos de papaya indican que, en la fecha de muestreo, no es la falta de polinización la causa del aborto de estos ovarios. Ya que se presenta además una acumulación de calosa en el funículo de los óvulos de los ovarios abortivos, a diferencia de los ovarios sanos, puede decirse que la causa probable del aborto de los ovarios tenga que ver con el período de viabilidad del óvulo.

LITERATURA CITADA

ACOSTA Z., C.; GONZALEZ H., V. A. 1998. Variaciones en el número y peso de frutos de papaya tipo Cera. *Rev. Fitotecnia Mex.* 20: 161-171.

- BAKER, H. G. 1976. Mistake pollination as a reproductive system with special reference to the Caricaceae, pp: 161-168. *In: Tropical Trees, Variation, Breeding and Conservation.* Burley, J.; Styles, B. T. (eds.). Academic Press. London, U.K.
- CARDENAS S., E. 1992. Caracterización de aislamientos del virus de la mancha anular del papayo, patogénesis y epidemiología de la enfermedad de la mancha anular del papayo en *Carica papaya* L. Tesis de Doctorado, Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx. 209 p.
- COHEN, E.; LAVI, U.; SPIEGEL-ROY, P. 1989. Papaya pollen viability and storage. *Scientia Hort.* 40: 317-324.
- CHAPMAN, H.D.; PRATT, P. E. 1973. Métodos de Análisis para Suelos, Plantas y Aguas. Ed. Trillas. D.F., México. 195 p.
- DAVILA P., I. 1992. Evidencias anatómicas del aborto de la semilla en la cruz de reciprocidad del ciruelo y chabacano. Tesis Biología, Fac. de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F., México.
- DUMAS, C.; KNOX, R. B. 1983. Callose and determination of pistil viability and incompatibility. *Theor. Appl. Genet.* 67: 1-10.
- GONZALEZ, M. V.; COQUE M.; HERRERO, M. 1995. Stigmatic receptivity limits the effective pollination period in kiwifruit. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120(2): 199-202.
- LOPEZ H., A. Y. 1993. Amarre de fruto y rendimiento en papayo (*Carica papaya* L.) bajo manejo integral para reducir los daños de VMAP. Tesis Ing. Agr., Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad de Veracruz. Xalapa, Veracruz, México. 64 p.
- MANDUJANO B., M. A. 1993. El Papayo. Agrofrut S. A. de C. V. Agro-nomía Frutícola. Xalapa, Veracruz, México. 37 p.
- NAKASONE, H. Y. 1987. Papaya, pp. 277-301. *In: Handbook of Fruit Set and Development.* Monselise, S. P. (ed.). CRC Press Inc. Boca Raton, Florida, USA.
- NEWBIGIN E.; ANDERSON, M. A.; CLARKE, A. E. 1993. Gametophytic self-incompatibility system. *Plant Cell* 5: 1315-1324.
- PEREIRA, M. 1986. Respuesta de la papaya (*Carica papaya* L.) a la humedad aprovechable residual en el suelo al momento de riego, fertilización nitrogenada y fosfórica. Tesis de Maestría. Centro de Hidrociencias, Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 161 p.
- PIMIENTA B. E.; POLITO, B. S. 1982. Ovule abortion in 'Nonareil' almond (*Prunus dulcis* (Mill) D. A. Webb). *Amer. J. Bot.* 69: 913-920.
- PURSEGLOVE, J. W. 1968. Tropical Crops. Dicotyledons. Vol. 2. Ed. Longman Scientific and Technical. New York, USA. 719 p.
- ROMERO M., J. A. 1992. Efecto de la fertilización con nitrógeno y boro sobre el crecimiento y producción de papaya (*Carica papaya* L.) tipo Cera. Tesis Ing. Agr. Depto. de Fiototecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 68 p.
- YATES I. E.; SPARKS, D. 1994. Anatomy differs for aborting and nonaborting pistillate flowers in pecan. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119: 949-955.
- YATES I. E.; SPARKS, D. 1995. Morphology of post pollination fruit abortion in pecan. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120(3): 446-453.
- WESTWOOD, M. N. 1982. Fruticultura de Zonas Templadas. Edit. Mundi Prens. Madrid, España. 461 p.

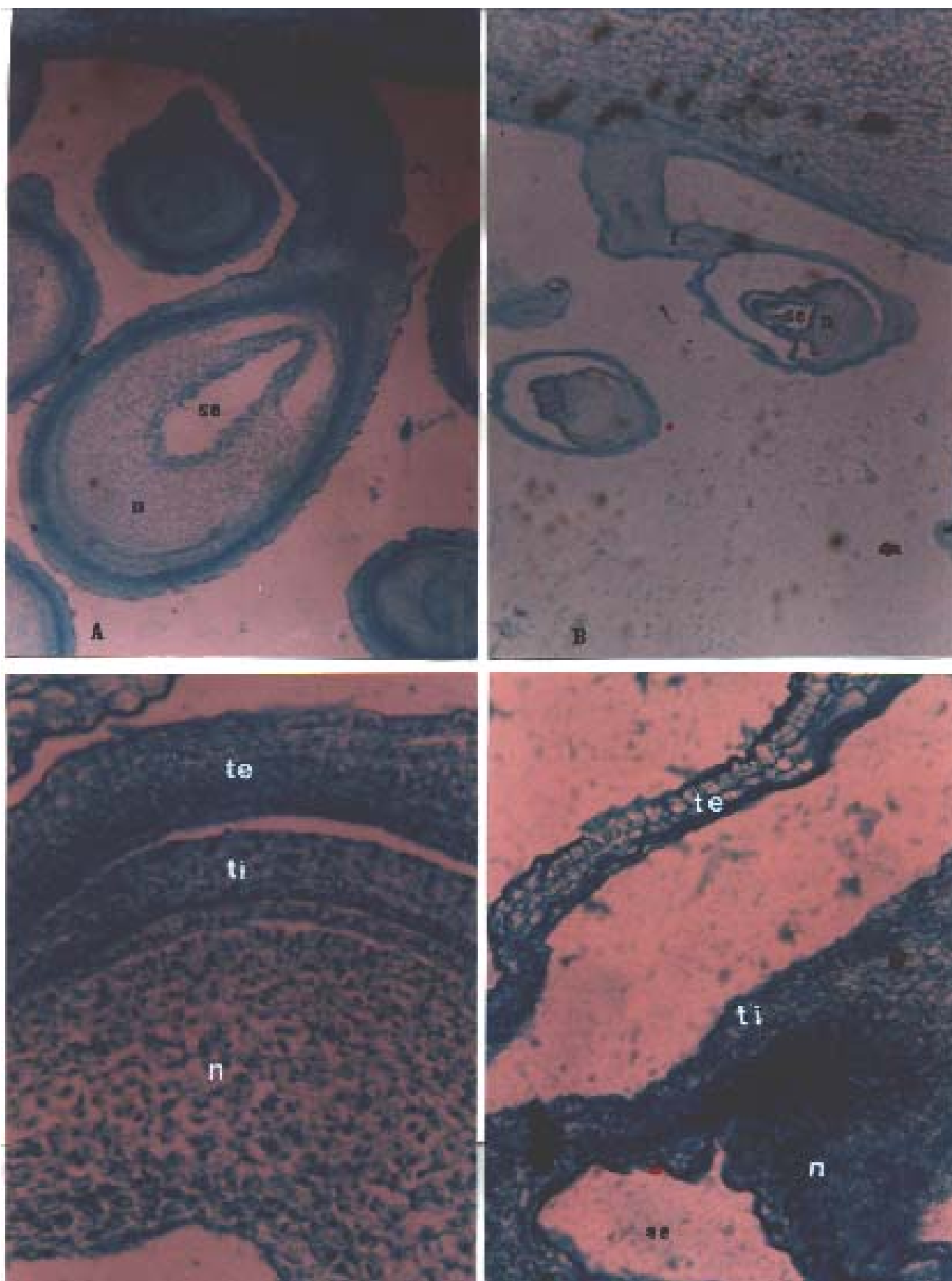


Figura 1. Diferencias anatómicas entre los óvulos de ovarios sanos y abortivos de papaya tipo Cera. A. Óvulo sano (40X), f=funículo; se=saco embrionario; n=nucela. B. Óvulos de ovarios abortivos (40X). C. Acercamiento a los tegumentos del óvulo sano (256X), te=tegumento externo; ti=tegumento interno. D. Acercamiento a los tegumentos del óvulo del ovario abortivo (256X).

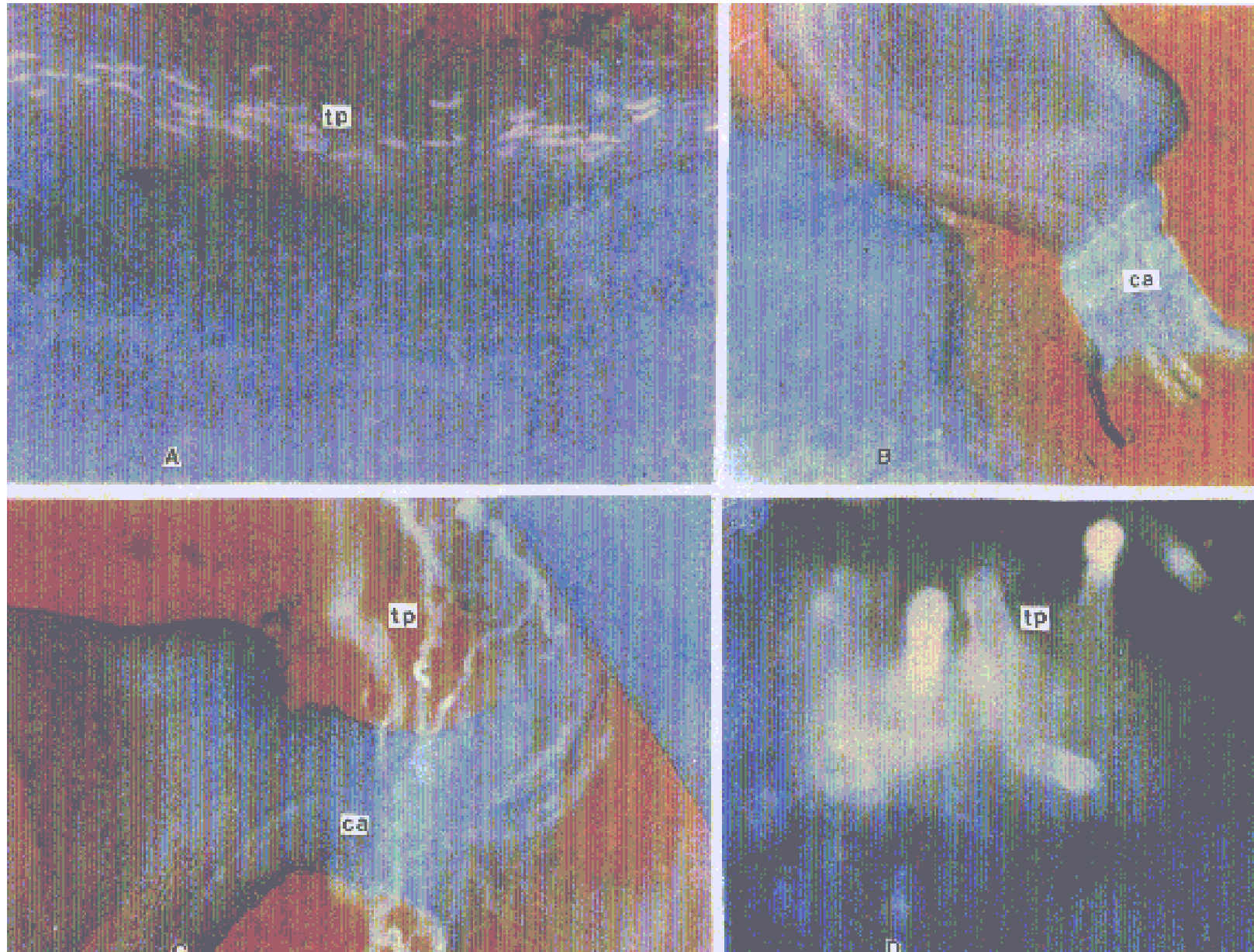


Figura 2. Seguimiento del tubo polínico y acumulación de calosa en el funículo de los óvulos de ovarios sanos y abortivos en papaya tipo Cera. A. Presencia de tubos polínicos en el estigma de ovarios abortivos.(10X), tp=tubos polínicos. B. Acumulación de calosa en el funículo del óvulo de los ovarios abortivos (40X), ca=calosa. C. Bloqueo de los tubos polínicos al llegar a la zona de acumulación de calosa en los óvulos de los ovarios abortivos. (60X). D. Depósitos de calosa en el ápice de los tubos polínicos (60X).