

Instituto Tecnológico de Costa Rica
Vicerrectoría de Investigación y Extensión
Dirección de Proyectos
Informe final de proyectos de investigación y extensión

**Establecimiento de un programa de abastecimiento de semilla certificada
de chayote en Ujarrás, Cartago, Costa Rica.**

Dra. Ana Abdelnour Esquivel
MAP. Jaime Brenes Madriz
MSc. Silvana Alvarenga Venutolo

Diciembre 2015

Tabla de contenido

Información General	3
Resumen	3
Palabras clave	4
Introducción	4
Objetivos.....	5
Metodología.....	5
Resultados y discusión	6
Agradecimientos	6
Referencias	6
APÉNDICES.....	7
Apéndice 1	7
Apéndice 2	25
Apéndice 3	34

Información General

Nombre y código del proyecto

Establecimiento de un programa de abastecimiento de semilla certificada de chayote en Ujarrás, Cartago, Costa Rica. 5402-1510-8801 (Centro funcional 1510026)

Autores y direcciones

Dra. Ana Abdelnour Esquivel. Coordinadora.

aabdelnour@itcr.ac.cr

MAP. Jaime Brenes Madriz.

jabrenes@itcr.ac.c.r

MSc. Silvana Alvarenga Venutolo

salvarenga@itcr.ac.cr

Resumen

El establecimiento de un programa de abastecimiento de semilla certificada de chayote les permitiría a los productores contar con semillas de calidad que asegurara que el fruto producido fuese uniforme y que cumpliera con las características que exige el mercado internacional. Es bien conocido que la siembra tradicional por semilla (aún viniendo ésta de plantas propagadas vegetativamente) produce una cosecha con al menos 30% de variación en la morfología de los frutos, lo que se puede traducir como rechazo y por ende, disminución en la producción exportable. Por lo anterior, y como respuesta a la solicitud de los productores de chayote de Ujarrás ante el MICIT/CONICIT, el Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica inició junto con los productores y la Oficina Nacional de Semillas, el desarrollo de un programa de producción de la semilla vegetativa o clones de chayote que permitieran el abastecimiento de material de siembra de calidad para los productores. El proyecto utilizó las técnicas del cultivo de tejidos para multiplicar el material de chayote seleccionado por sus características para exportación. Las plantas producidas *in vitro* fueron aclimatadas en invernaderos de productores y sembradas en varias fincas de la zona, bajo la supervisión de los técnicos de la Oficina Nacional de Semillas, para que sean utilizadas como fuente de material clonal, de donde los agricultores podrán abastecerse de material de siembra. Los productores cuentan con una “Guía de producción de semilla clonal de chayote” y con el “Reglamento de producción de semilla certificada de chayote”, ambos documentos resultado de este proyecto. Por lo anterior este proyecto permitirá a los productores producir su propia semilla de calidad.

Adicionalmente se preparó un plegable para la divulgación del proyecto durante el Encuentro de Investigación y Extensión de la VIE a realizarse en marzo de 2016.

Palabras clave

Chayote, *Sechium edule*, semilla certificada, guía de producción, reglamento.

Introducción

El chayote (*Sechium edule*) (Cucurbitaceae), es una planta herbácea, monoica y trepadora que constituye uno de los principales alimentos en México, América Central y Sur América Tropical. Los frutos, hojas tiernas y raíces tuberosas se consumen como verdura, aunque el consumo del fruto es el más difundido. También se emplean en la industria para la elaboración de alimentos infantiles, jugos, salsas y pastas y como forraje para la alimentación del ganado. Se le atribuye propiedades medicinales para disolver cálculos renales y como auxiliar en el tratamiento de hipertensión, arterioesclerosis y la retención de orina (Lira 1996). Es una fuente importante de divisas para Costa Rica, Guatemala, México y República Dominicana, entre los que Costa Rica mantiene el liderazgo mundial en las exportaciones (Ashmore 1997).

Entre los factores más limitantes en la producción de chayote se encuentra el material de siembra, tradicionalmente la semilla. Este tipo de propagación, aunque facilita la manipulación del material de siembra, no permite obtener la calidad deseada en la producción; el mercado internacional exige una producción morfológicamente homogénea, que descarta la posibilidad de incorporar al mercado la notable variabilidad de frutos producida en los sistemas tradicionales de cultivo. De acuerdo con productores de chayote de la zona de Ujarrás, provincia de Cartago, Costa Rica, en algunos casos el rechazo de frutos puede alcanzar porcentajes mayores al 50%.

Por lo anterior, el Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica inició investigaciones para desarrollar metodologías para la propagación vegetativa de chayote, que permitieran la producción de clones de materiales seleccionados y con esto el incremento en la uniformidad y en la aceptación del fruto en las plantas empacadoras.

La metodología desarrollada para el enraizamiento de tallos (quelites) (Brenes *et al.* 2010), resultó ser muy efectiva para la propagación vegetativa de materiales seleccionados, pero el bajo volumen de

material de siembra obtenido por esta vía, motivó el desarrollo de la metodología de micropropagación de chayote utilizando brotes vegetativos como material inicial para multiplicación masiva (Abdelnour *et al.* 2002; Alvarenga *et al.* 1999). La micropropagación o propagación clonal *in vitro* es una de las técnicas del cultivo de tejidos vegetales que tiene gran potencial para solventar esta limitante en la producción de chayote. La técnica consiste en cultivar pequeños esquejes como puntas de tallos y yemas laterales bajo condiciones asépticas, para multiplicar masivamente el material de interés y obtener plantas fenotípica y genotípicamente idénticas a la planta de origen (Conci 2010). Además de los métodos de enraizamiento de quelites y micropropagación, se desarrollaron las técnicas de cultivo de meristemas y erradicación de virus, que permiten la limpieza del Virus del Mosaico del Chayote (ChMV) (Abdelnour-Esquivel *et al.* 2006).

La experiencia en el cultivo y producción de material de siembra de calidad de chayote y la relación de colaboración que han desarrollado los investigadores en chayote del CIB, permitió responder a una demanda del sector productor y exportador de chayote de la zona de Ujarrás y junto con la Oficina Nacional de Semillas se desarrolló el programa de producción de semilla certificada de chayote.

Objetivos

- Multiplicar en forma masiva el material de siembra de chayote para la producción comercial de exportación.
- Definir la aprobación del material de siembra seleccionado y multiplicado como semilla certificada, verificando la calidad fisiológica, sanitaria y de pureza varietal.

Metodología

Se utilizó como material inicial el denominado por los productores *quelite*, el cual es el tipo mayoritariamente exportado. Para la propagación masiva y la limpieza de virus se siguieron las metodologías descritas por Abdelnour *et al.* 2002 y Abdelnour-Esquivel *et al.* 2006, las cuales se describen detalladamente en la Guía de Producción de Semilla Clonal de Chayote (Apéndice 1). Las plantas producidas *in vitro* fueron aclimatadas en el invernadero provisto por los productores para tal fin en Ujarrás, Provincia de Cartago, como trabajo conjunto entre investigadores y productores. Una vez aclimatadas, las plantas se distribuyeron en cinco fincas de agricultores, quienes asumieron la responsabilidad de mantener las plantas, las cuales constituyen la fuente de semilla clonal para

siembras futuras. La siembra estuvo bajo supervisión de los técnicos de la Oficina Nacional de Semillas (ONS), quienes a su vez supervisaron todas las labores de laboratorio e invernadero. Como cierre de sus responsabilidades en este proyecto, la ONS preparó el Reglamento técnico para la certificación de semilla de chayote (*Sechium edule*) (Apéndice 2). Adicionalmente se preparó un plegable para la difusión del proyecto (Apéndice 3)

Resultados y discusión

Se logró la integración de un grupo de trabajo entre los investigadores del CIB, los técnicos de la ONS y los productores de chayote, con el apoyo financiero del MICIT/CONICIT, el TEC y los productores y exportadores de chayote.

Se preparó una guía detallada para la producción de semilla clonal de chayote (En proceso de impresión por la Editorial Tecnológica de Costa Rica), que los productores podrán seguir o transmitir a los laboratorios que contraten para darles el servicio de multiplicación masiva *in vitro* y aclimatación en invernadero, así como el reglamento para la certificación de la semilla de chayote producida (Impresa), con los lineamientos claros que deben seguir para lograr la certificación, reglamento aprobado por la Junta Directiva de la ONS.

Durante el desarrollo de este proyecto se fortalecieron los lazos de cooperación que se han venido desarrollando entre el CIB y los productores de chayote durante los últimos 20 años, siendo las solicitudes de colaboración una clara muestra de la satisfacción y confianza que nos muestran a los investigadores del ITCR cuando se trata de producción de material de siembra clonal y de calidad. También es importante mencionar los lazos de colaboración con la ONS.

Agradecimientos

Se agradece al MICIT/CONICIT, a la Cámara de Productores y Exportadores de Chayote y al TEC por el financiamiento de este proyecto.

Referencias

Abdelnour-Esquivel, A.; Bermudez, L.C.; Alvarenga, S.; Rivera, C. 2006. Cultivo de meristemas, termo y quimioterapia en chayote (*Sechium edule* Jacq.Sw) para la erradicación del virus del mosaico del chayote (ChMV). Manejo integrado de Plagas y Agroecología 77:17-23.

Abdelnour A., Ramírez, C.; Engelmann, F. 2002. Micropropagación de chayote (*Sechium edule* Jacq. SW.) a partir de brotes vegetativos. Agronomía Mesoamericana 13: 147-151.

Alvarenga S.; Flores, D.; Abdelnour-Esquivel. 1999. Micropropagación de fenotipos seleccionados de chayote (*Sechium edule*). Tecnología en Marcha 13: 9-15.

Ashmore S.E. 1997. Status report on the development and application of *in vitro* techniques for the conservation and use of plant genetic resources. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 67p.

Brenes, J.; Alvarenga, S.; Abdelnour, A. 2010 Enraizamiento de estacas de chayote (*Sechium edule*). Alcances Tecnológicos. Revista INTA. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. 8(1):61-69

LIRA, R. 1996. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Chayote (*Sechium edule* Jacq.) SW. IPGRI. Roma, Italia. 58p.

APÉNDICES

Apéndice 1

Instituto Tecnológico de Costa Rica
Centro de Investigación en Biotecnología

Guía para la producción
Semilla clonal de chayote (*Sechium edule* Jacq. SW.)



Ana Abdelnour Esquivel, PhD.
Jaime Brenes Madriz, MAP.
Silvana Alvarenga Venutolo, MSc.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	2
La micropropagación para la multiplicación clonal masiva de materiales de siembra	4
La propagación clonal de chayote	4
El procedimiento para la micropropagación de chayote	5
Recolecta del material en la finca	5
Desinfección y establecimiento <i>in vitro</i>	6
Medio de cultivo	7
Multiplicación	7
Enraizamiento	8
Erradicación de virus	9
Cultivo de meristemas	9
Aclimatación de vitroplantas	10
Preparación del sustrato de siembra	11
Siembra de las vitroplantas	11
Fertilización de las plantas en invernadero	11
Producción de plantas clonales a partir de enraizamiento de quelites	13
Enraizamiento de estacas (tallos o quelites)	13
Siembra en campo	16
Condiciones climáticas, edáfica y topográfica de parcela de producción de semilla	16
Siembra de plantas seleccionadas	16
Principales plagas y enfermedades	17
Glosario	19
Literatura citada	22

Guía técnica para la producción Semilla clonal de chayote (*Sechium edule* Jacq. SW.)

INTRODUCCIÓN

El chayote (*Sechium edule*) (Cucurbitaceae), es una planta herbácea, monoica y trepadora que constituye uno de los principales alimentos en México, América Central y Sur América Tropical. Los frutos, hojas tiernas y raíces tuberosas se consumen como verdura, aunque el consumo del fruto es el más difundido. También se emplean en la industria para la elaboración de alimentos infantiles, jugos, salsas y pastas y como forraje para la alimentación del ganado. Se le atribuye propiedades medicinales para disolver cálculos renales y como auxiliar en el tratamiento de hipertensión, arterioesclerosis y la retención de orina. Debido al hábito de crecimiento y su siembra en barbacoa, en algunos países se ha incluido plantas de chayote en plantaciones mixtas para la recuperación y la conservación de suelos (COOPESAMPAR 2000, Sosa 1997, Ashmore 1997).

El chayote es una fuente importante de divisas para Costa Rica, Guatemala, México y República Dominicana, entre los que Costa Rica mantiene el liderazgo mundial en las exportaciones (Lira 1996, CIMPE 2015).

Entre los factores más limitantes en la producción de chayote se encuentra el material de siembra, tradicionalmente la semilla. Este tipo de propagación, aunque facilita la manipulación del material de siembra, no permite obtener la calidad deseada en la producción; el mercado internacional exige una producción morfológicamente homogénea, que descarta la posibilidad de incorporar al mercado la notable variabilidad de frutos producida en los sistemas tradicionales de cultivo. De acuerdo con productores de chayote de la zona de Ujarrás, provincia de Cartago, Costa Rica, en algunos casos el rechazo de frutos puede alcanzar porcentajes mayores al 50% (Alvarado 2006).

El Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR) ha trabajado con los productores de chayote de la provincia de Cartago, principalmente de las Zonas de Cervantes, Paraíso y Ujarrás desde hace más de 20 años, a través de proyectos conjuntos y capacitaciones. Proyectos de rescate y conservación de germoplasma, micropropagación de fenotipos seleccionados, cultivo de meristemas para la erradicación de virus, crioconservación, caracterización genética de la colección de campo, producción de clones seleccionados, entre otros. En la actualidad el Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica cuenta con las metodologías para la propagación vegetativa de chayote a partir del enraizamiento de estacas (Brenes *et al.* 2010), así como para la propagación masiva *in vitro* o micropropagación a partir de brotes (Alvarenga *et al.* 2006; Abdelnour *et al.* 2002). Por otra parte, la técnica de cultivo de meristemas fue ejecutada exitosamente en chayote para la erradicación del Virus del Mosaico del Chayote (Abdelnour *et al.*, 2006). Todas estas tecnologías permitirán respaldar las acciones a seguir para obtener semilla certificada de chayote, bajo la supervisión de la Oficina Nacional de Semillas, llamada por Ley a apoyar al sector productivo en cuanto a sus necesidades de abastecimiento de semillas de calidad.

Esta guía presenta las experiencias desarrolladas en el Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica en el tema de producción de material de siembra clonal y sano de chayote y las acciones de seguimiento una vez que las plantas salen del laboratorio e invernadero.

La micropropagación para la multiplicación clonal masiva de materiales de siembra

La micropropagación permite la multiplicación clonal masiva y rápida de plantas. Por lo general, el proceso se inicia con el establecimiento de brotes, nudos, trozos de hoja o raíz y en algunos casos de embriones cigóticos (explantes) en condiciones asépticas de cultivo (Mroginski *et al.* 2010). Debido a la desinfección superficial de los explantes durante el proceso de establecimiento *in vitro* y al cultivo bajo condiciones asépticas en envases cerrados, se obtienen plantas libres de contaminantes externos que pueden causar enfermedades, como bacterias, hongos, nematodos e insectos, pero no asegura que las plantas se encuentren libres de agentes sistémicos como los virus, que también causan pérdida de calidad y reducciones significativas en el rendimiento de los cultivos (George *et al.* 2008).

Sin embargo, entre las técnicas del cultivo de tejidos vegetales se encuentra el cultivo de meristemas, que se utiliza en muchas especies vegetales para la erradicación de virus (Conci 2010). Esta técnica consiste en utilizar como material inicial para la micropropagación el domo meristemático y el par de primordios foliares (0,2 a 0,5 mm) que lo acompañan. Existe mayor posibilidad de éxito en la erradicación de virus si se cultiva solamente el domo apical, pero la probabilidad de que sobreviva sin los primordios es menor, por lo tanto, la composición del medio de cultivo es crítica para su desarrollo. En general se dice que el cultivo de meristemas apicales con dos o más pares de primordios foliares no requiere de sustancias de crecimiento exógenas, pero si no incluye los primordios foliares, el abastecimiento de reguladores de crecimiento es indispensable (Malauri *et al.* 1998). Para el saneamiento y la erradicación de virus en cultivos agrícolas existen otros métodos como la termo y la quimioterapia que se utilizan solos o en combinación con el cultivo de meristemas. La termoterapia se utiliza rutinariamente en cebolla, ajo, puerro y otras liliáceas comerciales fresa yuca ñame (Cieslinska 2002, Conci y Nome 1991, Converse y Tanne 1984, CIAT 1982, Malaurie *et al.* 1998), y en otras especies de importancia económica como la papa y el camote (Golmirzaie *et al.* 1994). Por otra parte, la mayoría de las sustancias quimioterapéuticas usadas en plantas han resultado fitotóxicas, por lo que solamente se pueden emplear dosis no tóxicas para reducir la tasa de multiplicación del virus y aumentar la efectividad de otras técnicas como el cultivo de meristemas (CIAT 1982). El nucleósido sintético de nombre comercial Virazol (ribavirina (1- β -D-ribofuranosyl-1, 2, 4-triazole-3-carboxamide), de amplia acción antiviral, resultó efectivo para eliminar o disminuir la síntesis de los virus X, Y, S y M en meristemas aislados de vitroplantas de papa (Cassels y Long 1982) y del virus X de la papa en tabaco (Shepard 1977).

La propagación clonal de chayote

Contar con una metodología para la propagación vegetativa de chayote permite la producción de clones de materiales seleccionados y con esto el incremento en la uniformidad y en la aceptación del fruto en las plantas empacadoras. Tanto el enraizamiento quelites, como la micropropagación de brotes y meristemas son técnicas que se han experimentado en chayote.

La micropropagación o propagación clonal *in vitro* es una de las técnicas del cultivo de tejidos vegetales que tiene gran potencial para solventar esta limitante en la producción de chayote. La técnica consiste en cultivar pequeños esquejes como puntas de tallos y yemas laterales bajo condiciones asépticas, para multiplicar masivamente el material de interés y obtener plantas fenotípica y genotípicamente idénticas a la planta de origen (Ashmore 1997). Alvarenga y Morera (1992) experimentaron la micropropagación de chayote utilizando el embrión sexual como material inicial, sin embargo, una vez en el campo, las plantas producidas mostraron variabilidad en crecimiento, forma del fruto y presencia de espinas propia de la propagación por semilla, lo que motivó la experimentación utilizando brotes vegetativos como material inicial para iniciar la micropropagación (Abdelnour *et al.* 2002; Alvarenga *et al.* 2006; Alvarenga *et al.* 1999).

La reproducción por estacas o quelites enraizados es también una técnica muy segura de producir semilla clonal de chayote, manteniendo las características de producción y homogeneidad de los frutos. La reproducción por estacas, consiste en provocar enraizamiento de un trozo de tallo separado de la planta madre que es susceptible de adquirir autonomía fisiológica. Comparando ambas técnicas de reproducción vegetativa, la micropropagación presenta la ventaja de permitir la multiplicación masiva del material seleccionado, mientras que en el enraizamiento de quelites, una estaca enraizada produce únicamente una planta.

El procedimiento para la micropropagación de chayote

Recolecta del material en la finca

Para iniciar el procedimiento de micropropagación se deberán recolectar brotes vegetativos de plantas seleccionadas por sus características sobresalientes para la producción. Los brotes serán llevados a un laboratorio de cultivo de tejidos envueltos en papel toalla húmedo para mantenerlos hidratados y poder iniciar el procedimiento de desinfección y establecimiento *in vitro* (figura 1).



Figura 1. Brotes de chayote (*Sechium edule*) recolectados en la finca y trasladados al laboratorio envueltos en papel toalla húmedo.

Desinfección y establecimiento *in vitro*

Para la desinfección, los brotes se lavan con agua y detergente líquido (tipo Bactex®) agitando suavemente durante 10 a 15 min y se enjuagan con abundante agua. Luego, los brotes se transfieren a un Erlenmeyer para ser incubados en la solución desinfectante, que consiste en hipoclorito de calcio $\text{Ca}(\text{OCl})_2$ al 4% *i.a.* por seis minutos (figura 2). Pasado este periodo, se enjuagan tres veces con agua destilada estéril, bajo condiciones asépticas, en la cámara de transferencia de flujo laminar. Si el tiempo ha estado lluvioso los días anteriores a la recolecta de los brotes en el campo, se puede aumentar la concentración del desinfectante al 4.5% *i.a.* o aumentar el tiempo de incubación a 7 minutos.

Se procede a reducir los brotes eliminando las hojas más externas, de manera que se establece *in vitro* el meristema incluyendo dos o tres pares de hojas, por frasco de cultivo.



Figura 2. Brotes de chayote (*Sechium edule*) en solución desinfectante.

Medio de cultivo

El medio de cultivo para el establecimiento *in vitro*, la multiplicación y el enraizamiento de chayote es similar. Se utilizan las sales minerales descritas por Murashige y Skoog (MS) (1962), con 30 gL⁻¹ de sacarosa (MS simple) y 2,3 gL⁻¹ de Phytigel. El pH se ajusta a 5,8 antes del autoclavado. Se dispensa un volumen de 20 ml en cada frasco de cultivo (frascos grandes de la marca comercial Gerber® o similar). Si se desea acelerar el enraizamiento, el medio de cultivo para esta etapa puede ser enriquecido con 0,2 mg/l de ácido indolbutírico (AIB); sin embargo, en la gran mayoría de los casos los brotes de chayote creciendo *in vitro* enraízan en el medio de cultivo simple utilizado durante todo el proceso de micropropagación.

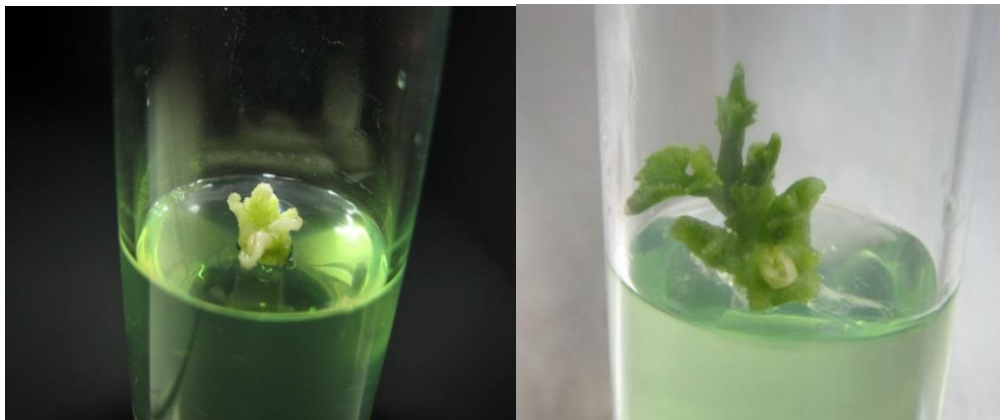


Figura 3. Brote de chayote (*Sechium edule*) establecido y desarrollándose en condiciones *in vitro*.

Multiplicación

Durante esta etapa de la micropropagación se utilizan las plántulas obtenidas durante la etapa de establecimiento *in vitro*. Las plántulas que alcanzan de 6 a 8 cm se seccionan en los entrenudos, de manera que cada explante consistirá de un nudo con una yema (figura 4). Los explantes deben ser cultivados en el mismo medio de cultivo (MS simple).



Figura 4. Multiplicación *in vitro* de chayote (*Sechium edule*). Nótese los cortes en los entrenudos para cultivar microestacas de un nudo y desarrollar plántulas.

Enraizamiento

Para el enraizamiento, los brotes desarrollados obtenidos durante la multiplicación son de nuevo seccionados de manera que el brote apical con uno o dos nudos se siembran en medio fresco y se cultivan por un periodo de 4 a 5 semanas para que alcancen una altura de aproximadamente 5 a 8 cm, que es el desarrollo recomendable para iniciar el proceso de aclimatación en invernadero.

Recordar que el explante a enraizar (brote apical con uno o dos nudos) puede ser cultivado en el medio de cultivo básico enriquecido con 0,2 mg/l de ácido indolbutírico para promover el enraizamiento de materiales lentos o difíciles de enraizar.



Figura 5. Planta de chayote (*Sechium edule*) desarrollada *in vitro*.
Nótese el desarrollo de raíces.

Erradicación de virus

Cultivo de meristemas

La utilización del cultivo *in vitro* ha permitido una rápida multiplicación de material libre de plagas y enfermedades, sin embargo, no ha sido posible liberarlo de agentes sistémicos como los virus, que son responsables de importantes pérdidas en los rendimientos. Para la erradicación de virus existen métodos como el cultivo de meristemas, la termo y la quimioterapia y/o la combinación de estos (Conci 2010). La termoterapia consiste en el tratamiento con calor y se basa en el principio de que los microorganismos parásitos a menudo pueden ser eliminados o inactivados en rangos de temperatura y tiempo que son ligeramente perjudiciales para el hospedante y al afectar el metabolismo celular también se altera la síntesis del virus. La quimioterapia considera la aplicación de sustancias químicas específicas a plantas o tejidos infectados, con el fin de alterar su metabolismo y bloquear o alterar el mecanismo de síntesis de los virus.



Figura 6. Brote de chayote (*Sechium edule*) mostrando el domo apical y los primordios foliares. Domo apical libre de virus.

Por otra parte, el cultivo de meristemas se fundamenta en que la distribución de los virus en los tejidos de una planta infectada no es uniforme y que su concentración tiende a disminuir progresivamente hacia el meristema apical del tallo, donde las células se encuentran en constante división celular. La ausencia de tejido vascular en la proximidad del meristema apical y la activa división celular que allí ocurre ayudan a explicar la ausencia de partículas virales. Todas estas técnicas de erradicación de virus han sido experimentadas en chayote para eliminar el virus del mosaico del chayote (ChMV) (Abdelnour-Esquivel *et al.* 2006).

En el caso de chayote, se recomienda el cultivo de meristemas, más específico, el cultivo del domo apical, en presencia de reguladores de crecimiento en el medio de cultivo. Con la ayuda de un estereoscopio se disecta el domo apical (sin primordios foliares) y se cultiva en el medio MS con 0,022 mg/l de Z (zeatina) ó 0,10 mg/l de BA (benciladenina). La adición del regulador del crecimiento permite la regeneración y desarrollo de plántulas sanas. Estas plantas regeneradas se utilizan para iniciar el ciclo de multiplicación clonal masiva (micropropagación) y la posterior siembra en campo de las plantas obtenidas.

Aclimatación de vitroplantas

Una vez que las vitroplantas de chayote han alcanzado un buen desarrollo foliar y de raíces y una altura mínima de 5cm (figura 7), están listas para ser trasladadas al invernadero en donde serán aclimatadas. En condiciones de laboratorio o cultivo *in vitro*, las condiciones ambientales en las que crecen estas plantas en cuanto a humedad, temperatura y nutrientes, son las ideales, por lo tanto, las raíces y los estomas no son funcionales y las hojas carecen de la capa de cera que las protege de la desecación. Por lo anterior, las plantas producidas *in vitro* deberán ser aclimatadas gradualmente para que sobrevivan las condiciones ambientales de la finca.

Las vitroplantas en los frascos de cultivo se llevan al invernadero 8 días antes de ser sembradas en las bolsas o macetas. Los frascos se colocan en las camas, se les quita el plástico que sella las tapas y de esta manera se inicia su proceso de endurecimiento.

Preparación del sustrato de siembra

Días antes de la siembra se prepara el sustrato, que puede ser suelo con granza, a una relación de 3:1, este sustrato se debe desinfectar con algún producto químico o con vapor. Se recomienda utilizar Vitavax® a razón de 3 gramos por litro por permitir la desinfección y el cultivo inmediato sin daños para la vitroplanta. Se llenan las bolsas con el sustrato y se programa un riego nebulizado, con una frecuencia de 10 segundos cada 5 minutos, por 12 horas, esta frecuencia va a depender de las condiciones climáticas, ya que en invierno se pueden alargar estos periodos.

Siembra de las vitroplantas

Para la siembra, las vitroplantas se sacan del frasco de cultivo y se lavan las raíces con abundante agua de pila para eliminar los restos del medio de cultivo. Las plantas se siembran en las bolsas con el sustrato preparado.

Fertilización de las plantas en invernadero

Durante los primeros 10 días no se aplica ningún fertilizante, ya que estas sales pueden dañar las hojas de las vitroplantas, solo se aplica el riego nebulizado y se humedece el sustrato una vez al día. A los 10 días de la siembra, se recomienda comenzar a aplicar fertilizantes granulados y foliares, para favorecer el desarrollo de las raíces. Se puede agregar Bayfolan®, en una dosis de 3 cc por litro de agua y de 2 a 5 g por planta de una fórmula alta en fósforo como 12-24-12.

Siempre en el invernadero, se recomienda que las vitroplantas estén cubiertas con un sarán al 70% paso de luz durante los primeros 15 días y conforme la planta va creciendo, el sarán se va recogiendo, hasta dejar la planta expuesta. A los 30 días de la siembra, cuando las plantas alcanzan una altura promedio de 30 a 50cm, se recomienda pasarlas a un sombreador fuera del invernadero, que consiste en un lugar con una cobertura de sarán (70% paso de luz), para que la planta se vaya ajustando a las nuevas condiciones de campo. Además, se coloca un soporte, para que los zarcillos de la planta empiecen a enredarse y vayan creciendo. Una vez que la planta sale del invernadero, la aplicación de agroquímicos es la misma que se utiliza en campo para la producción comercial. En este sombreador la planta permanece 15 días y es llevada para su siembra en el campo.



Figura 7. Vitroplantas de chayote (*Sechium edule*) mostrando un tamaño y desarrollo de raíces adecuado para iniciar el proceso de aclimatación.



Figura 8. Vitroplantas de chayote (*Sechium edule*) cultivadas en bolsa



Figura 9. Plantas de chayote en sombreador bajo sarán

Producción de plantas clonales a partir de enraizamiento de quelites

Enraizamiento de estacas (tallos o quelites)

Antes ir a la plantación a cortar quelites para enraizar, el agricultor debe de seleccionar las plantas que servirán como donadoras de material. Las plantas seleccionadas deben cumplir las siguientes características:

- Plantas sanas y vigorosas
- Frutos homogéneos en forma, tamaño, color, sin estrías y sin espinas
- Preferiblemente plantas con producción de frutos dobles (dos frutos por racimo)
- Cosechar las estacas una vez que la planta ha comenzado a fructificar

Se recomienda cosechar las estacas de una edad de tres meses aproximadamente, ya que esto permite observar la planta en producción, observándose la forma y otras características del fruto. En este momento se deben podar las guías de manera que se eliminen los brotes terminales para que emerjan los brotes secundarios que son los que se utilizarán como material a enraizar.

Con respecto a la estaca que se va a enraizar esta debe presentar las siguientes características:

- Los quelites deben presentar vigorosidad y alta sanidad

- Deben medir no menos de 20 centímetros ni más de 45 centímetros
- Deben poseer al menos 3 entrenudos cortos
- Se recomienda cortar el 50% de las hojas del nudo más cercano al sustrato, para garantizar un enraizamiento efectivo y evitar que el crecimiento de estas hojas no permita el amarre de las raíces al sustrato.
- El corte debe asegurar que la base del quelite no abarque más del 40% del tallo que lo sostiene, de manera que aun cuando se corta el tallo principal, éste no se dañe y puede seguir suministrando agua y nutrientes al resto de la planta.

Una vez que se han seleccionado las plantas madre, se cortan los quelites con hojas de navajilla nuevas, para que el corte sea lo más fino y el daño a la planta donadora sea el menor posible. Se debe cambiar de navajilla al pasar de una planta donadora a otra, para evitar la transmisión de enfermedades sistémicas.

Las estacas se cortan en las primeras horas del día (6am a 8am) para que las plantas estén turgentes. Las estacas se envuelven en papel toalla o periódico húmedo, para evitar la deshidratación durante su traslado al invernadero. El corte realizado en la planta madre se sella con una solución pastosa de Vitavax® (Carboxin + Captan), para evitar la entrada de patógenos al tejido.

Las estacas se llevan al invernadero, en donde se cuenta con bolsas llenas con un sustrato compuesto de tierra y granza (3:1). Es recomendable que el sustrato esté desinfectado previo a la siembra. La desinfección puede realizarse con vapor de agua o simplemente con Vitavax® agregado y mezclado con el sustrato (Vitavax® a razón de 3 gramos por litro).

Para inducir el enraizamiento, las estacas se colocan en la solución enraizadora ANASIL, elaborada por el Centro de Investigaciones en Biotecnología, del Instituto Tecnológico de Costa Rica y desarrollada especialmente para el enraizamiento de estacas de chayote. LA solución contiene auxinas como parte importante de sus componentes. En esta solución las estacas se sumergen unos cinco centímetros, durante 30 segundos, para evitar que el callo formador de raíces sea muy grande. Las estacas se siembran en las bolsas y se mantienen en el invernadero por un periodo de 22 días. Se debe proporcionar un riego nebulizado, con periodos cortos pero continuos. La frecuencia y la duración del riego dependerán de las condiciones climáticas que se presenten en los días de crecimiento de las raíces. En días soleados y calurosos se recomienda activar el nebulizador cada 10 min durante 20 segundos.

Conforme pasan los días, en la base de las estacas se comienza a formar un callo de color café, este callo dará inicio a la formación de los primordios radicales, que serán visibles a partir de los 10 días. Conforme pasa el tiempo las raíces crecerán fuertes y de un color blanco. Al cabo de 22 días, las plantas enraizadas serán llevadas fuera del invernadero y colocadas bajo un sombreador (sarán al 70%), para que completen el proceso de aclimatación. Después de 7 días se llevan al campo para su siembra definitiva, siguiendo el mismo procedimiento recomendado para las plantas producidas *in vitro*.

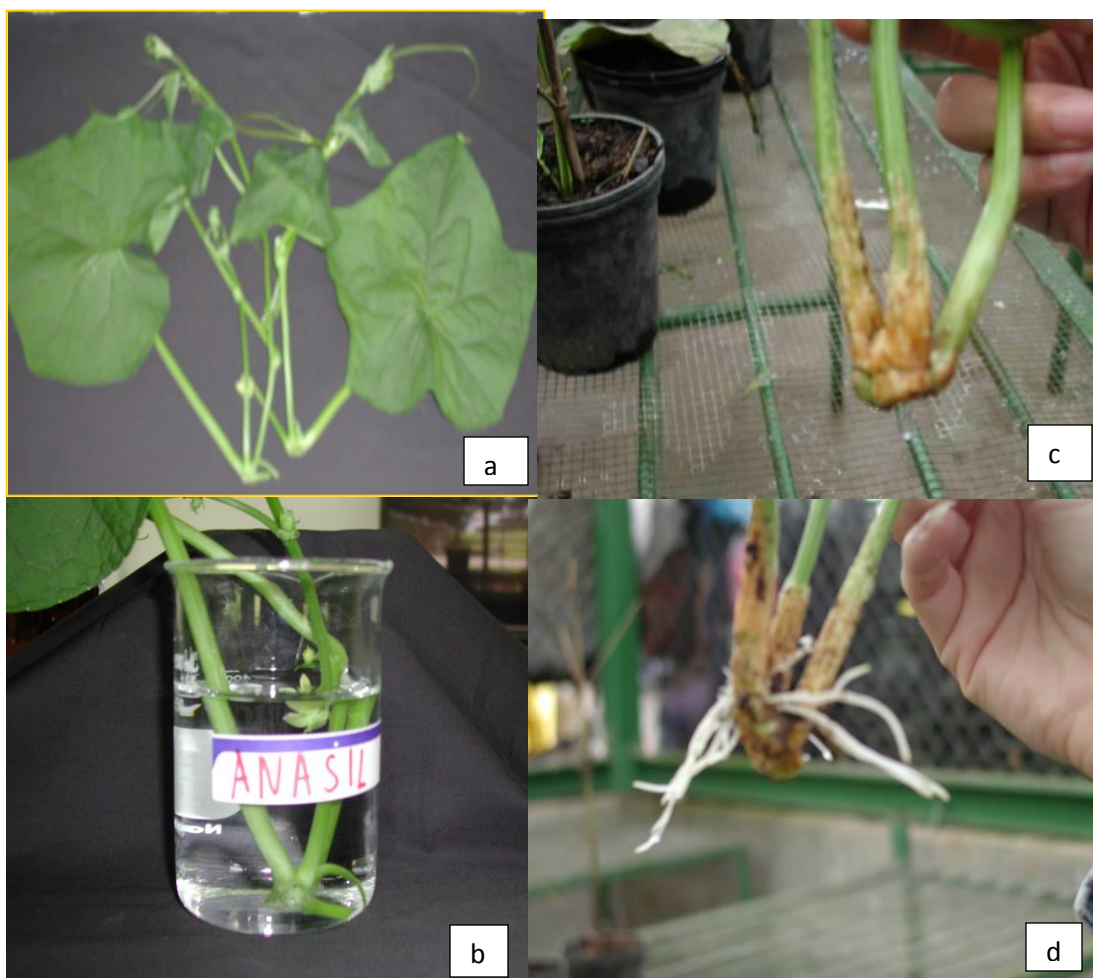


Figura 10. a) Estacas de chayote (*Sechium edule*) b) En solución enraizadora ANASIL c) Inicio del proceso de formación de raíces d) Nótese el sistema radical bien desarrollado

Con esta metodología de enraizamiento de estacas (quelites) de chayote, se ha obtenido 99% de éxito en la producción de nuevas plantas en experimentos repetidos. Por lo anterior, se recomienda se siga como guía práctica para la producción de clones de chayote, donde solo requerirán un pequeño invernadero y riego para la producción del material de siembra que les asegure la uniformidad en la producción que les exige el mercado internacional.

Siembra en campo

Una vez aclimatadas las plantas y desarrolladas en invernadero, se trasladan a un terreno aislado de las siembras comerciales de chayote, acorde a lo estipulado en el Reglamento técnico de certificación de semilla (ONS).



Figura 11. Plantas de chayote (*Sechium edule*) producidas *in vitro* y sembradas en condiciones de campo.

Condiciones climáticas, edáfica y topográfica de parcela de producción de semilla

Las condiciones climáticas de la parcela de aislamiento, para la multiplicación de material genético de la variedad “Quelite”, se debe de localizar a una altura aproximada de 1000 a los 1200 m.s.n.m., con rangos de temperatura entre los 15° y 21°C, y una precipitación pluvial de 1700 a 2000 milímetros anuales. Se debe disponer de una fuente de agua que permita la aplicación de riego, el cual es esencial en este cultivo.

La condición edáfica de la parcela es suelo de textura arcillo arenoso, con buen drenaje, con fertilidad media a buena y alto contenido de materia orgánica.

En cuanto a la topografía del terreno se recomienda plana, con ligera ondulación y protegida de viento fuerte.

Siembra de plantas seleccionadas

Previo al establecimiento de plantas, se realiza una chapea del total de área de siembra y aplicación de herbicida quemante (Paraquat® en una dosis de 2-4 onzas de producto comercial, por bomba de espalda de 18 litros).

Posteriormente se realiza la preparación del terreno, preparan los montículos los cuales se les agrega materia orgánica (aproximadamente 12 Kg mezclado con el suelo), ya que la planta de chayote presenta un sistema radical superficial.

Antes de la siembra de plantas, se establece el sistema de tutoramiento con poste madera y /o bambú, a una altura no menor de 2 metros de altura, con alambre galvanizado No. 12 o No. 16, favoreciendo con ello la iluminación y aeración, además de facilitar las fumigaciones.

Se establecen los puntos de siembra en sistema de 6 x 6 metros, dos plantas por punto de siembra, la cual se fertiliza al fondo con 200 gramos de formula química completa (12-24-12/ 15-30-8).

Posteriormente, a los 160 días después de siembra, se realizan aplicaciones mensuales de Urea a razón de 400 gramos, por cada punto de siembra. Se aplican adicionalmente abonos foliares de formula completa (20-20-20, 15-15-15) cada mes después de iniciada la floración.

La actividad cultural de poda, se aplica después del segundo mes de siembra, con la finalidad de eliminar guías que no presentan buen desarrollo, enfermas o cruzan las espalderas.

La planta de chayote es una liana monoica, en la misma planta hay flores masculinas (de color amarillo pálido) y flores femeninas (de color verdosas), es necesario establecer apiarios, ya que son las abejas las principales polinizadoras, en el cultivo.

El riego, en condiciones de verano, en periodo de crecimiento es fundamental, su aplicación por aspersión por lo menos dos veces por semana.

Principales plagas y enfermedades

Entre las principales enfermedades que pueden afectar las plantas, de la parcela de multiplicación, se deben mencionar:

Fusarium (*Fusarium oxysporium*) el cual es un hongo habitante del suelo, provoca pudrición de raíces. Su tratamiento natural, de control biológico se realiza con el hongo *Trichoderma komingii*, inhibiendo su crecimiento o por medio de solarización del punto de siembra.

Oídio Mildiu polvoso, el cual ataca guías, follaje, puede ser controlado con aplicaciones de fungicidas a base de azufre, bicarbonato de potasio o natural, con aceite de Neen.

La arañita roja (*Tetranychus urticae*), se presenta durante la estación seca y produce un amarillamiento de las hojas y costras claras en los frutos. La mosca blanca (*Bermisia tabaco*) y áfidos (*Aphis spp*) son de las plagas más comunes que pueden afectar la planta de chayote.

El objetivo final es llevar esta plantación hasta la etapa de producción de fruto, con la finalidad de confirmar la idoneidad y pureza varietal de la variedad denominada como "Quelite".

El fruto idóneo debe poseer una simetría, de forma de pera, medida promedio de 10 – 12 centímetros de largo, un peso entre 300 y 400 gramos, piel lisa y brillante, sin estrías, color verde pálido, y sin espina.



Figura 12. Frutos de chayote (*Sechium edule*) mostrando las características deseadas para comercialización.

Se procede a la eliminación de plantas, que no sean fieles representantes de la variedad Quelite, estableciendo un banco de semilla, de esta variedad.

De esta parcela de plantas seleccionadas por su idoneidad de material genético, se obtendrán los brotes para la reproducción clonal y masiva de material de siembra. De esta parcela se podrán tomar quelites para enraizar en invernadero y brotes vegetativos siguiendo las metodologías descritas para la multiplicación masiva en invernadero y laboratorio como se describe en esta guía.

Glosario

Autoclavado: Proceso que permite la esterilización de diversos materiales mediante su sometimiento a presiones y temperaturas elevadas sin llegar a hervir (calor húmedo).

Auxinas: Grupo de fitohormonas que actúan como reguladoras del crecimiento vegetal, esencialmente provocan la elongación de las células; aunque están involucradas en un amplio número de procesos fisiológicos, como la dominancia apical, promover el crecimiento en longitud de la planta, estimular el crecimiento y maduración de frutas, floración, retardan la caída de hojas, flores y frutos jóvenes; entre otros.

BA (benciladenina): Fitohormona utilizada en el proceso de micropropagación para inducir crecimiento de los brotes).

Callo: Masa de células no diferenciadas con la capacidad de producir una planta completa. En las plantas, las células del callo son aquéllas que cubren una herida.

Cámara de transferencia de flujo laminar: Es una cabina que emplea un ventilador para forzar el paso de aire a través de un filtro (HEPA o ULPA) y proporcionar aire limpio y estéril a la zona de trabajo.

Clon: Grupo de plantas que se han producido a partir de una planta originaria, sin reproducción sexual, y genéticamente idénticos a esta última.

Condiciones asépticas: Conjunto de técnicas que permiten mantener las condiciones libres de organismos perjudiciales para un determinado fin.

Crioconservación: Proceso en el cual células o tejidos son congelados a muy bajas temperaturas (entre -80°C y -196°C), usualmente en nitrógeno líquido, para disminuir las funciones vitales de una célula o un organismo y poderlo mantener en condiciones de vida suspendida por mucho tiempo.

Cultivo de tejidos vegetales: Conjunto de técnicas que presentan en común el hecho de que un explante se cultiva asépticamente en un medio de cultivo artificial y se incuba en condiciones ambientales controladas; permitiendo que cada fragmento origine una planta idéntica a la que se le tomó el fragmento, aunque puede ser modificada genéticamente para tener variedades artificiales.

Domo apical: Segmento ubicado en la parte superior del ápice o meristema apical y que se caracteriza por una gran actividad meristemática (sucesiva división celular).

Embriones cigóticos: Embriones que se forman a partir de la unión de los gametos, la doble fecundación y las plantas que se originan son híbridas por la recombinación de sus genes. Estos embriones poseen la testa y el endospermo en las semillas naturales, los cuales proveen protección y nutrición al embrión cigótico.

Estaca: Fragmento de tallo con yemas que se utiliza como forma de propagación asexual o multiplicación de especies vegetales.

Explante: Pequeño fragmento de una planta que se corta y se prepara de forma aséptica para su cultivo en un medio nutritivo y que, por ende, funciona como generadora de nuevas plantas a través de cultivo de tejidos *in vitro*.

Fenotipo: Conjunto de características visibles que un individuo presenta como resultado de la interacción entre su genotipo y el medio en el que se encuentra.

Genotipo: Conjunto de genes que existen en el núcleo celular de cada individuo, en forma de ADN.

Germoplasma: Conjunto de genes que se transmite en la reproducción a la descendencia por medio de gametos o células reproductoras, refiriéndose comúnmente para designar el genoma de las especies vegetales silvestres y cultivadas de interés para la agricultura.

Medio de cultivo: Gel o solución que cuenta con los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH, temperatura, luminosidad y fotoperíodo, el crecimiento de plantas en condiciones asépticas.

Meristemas: Conjunto de células que conforman un tejido siempre joven y poco diferenciado, con una alta capacidad de división celular, por lo que son los responsables del crecimiento vegetal.

Micropropagación: Conjunto de técnicas y métodos de cultivo de tejidos utilizados para multiplicar plantas con un determinado interés, de manera asexual, en forma rápida, eficiente y en grandes cantidades; logrando obtener plantas libres de enfermedades (tales como virosis).

Nucleósido: Corresponden a los precursores de los nucleótidos, los cuales son los que conforman las cadenas de ADN o ARN (material genético).

Phytigel: Nombre comercial del producto utilizado para la gelificación de medios de cultivo, y así permitir que adquieran una estructura semi-sólida.

Quelite: Estaca de chayote que posee de dos a tres nudos y que se utiliza para la propagación vegetativa

Quimioterapia: Uso de determinadas sustancias químicas para el tratamiento de virosis en plantas.

Recursos genéticos: Cualquier material, en este caso de origen vegetal, con algún valor genético (alguna característica particular de importancia) real o potencial, constituyendo la base para el desarrollo de nuevas variedades vegetales o de cultivos, permiten el desarrollo de nuevos productos.

Termoterapia: Técnica para la erradicación de virus en plantas que consiste en exponer a la planta a las altas temperaturas durante un determinado período.

Vitroplantas: Plantas clonadas en recipientes de laboratorio.

Zeatina (Z): Fitohormona utilizada en el proceso de micropropagación para inducir el desarrollo de meristemas de chayote.

Literatura citada

Abdelnour-Esquivel A., Bermudez L.C., Alvarenga S., Rivera C. 2006. Cultivo de meristemas, termo y quimioterapia en chayote (*Sechium edule* Jacq. Sw) para la erradicación del virus del mosaico del chayote (ChMV). Manejo integrado de Plagas y Agroecología 77:17-23.

Abdelnour A., Ramírez C., Engelmann F. 2002. Micropropagación de chayote (*Sechium edule* Jacq. SW.) a partir de brotes vegetativos. Agronomía Mesoamericana 13: 147-151.

Alvarado, I. 2006. Agente de Extensión. Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Paraíso, Cartago. Comunicación personal.

Alvarenga, S.; Abdelnour, A., Brenes, J.; Gatica, A.; Brenes, A.; Chaves, S.; Madriz, J.; Murrel, M. 2006. Informe final de proyecto: "Implementación de un estudio para identificar y obtener *semillas* de chayote (*Sechium edule*) que correspondan a las nuevas exigencias del mercado". FECAC Oriental (Federación de Centros Agrícolas Cantonales del Valle Central Oriental). Centro de Investigación en Biotecnología Instituto Tecnológico de Costa Rica. Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional. 245p.

Alvarenga S., Flores D., Abdelnour-Esquivel. 1999. Micropropagación de fenotipos seleccionados de chayote (*Sechium edule*). Tecnología en Marcha 13: 9-15.

Alvarenga, S; Morera, J. 1992. Micropropagación *in vitro* del Chayote (*Sechium edule* Jacq. Sw.). Tecnología en Marcha. 11(3):31-42.

Ashmore S.E. 1997. Status report on the development and application of *in vitro* techniques for the conservation and use of plant genetic resources. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 67p.

Brenes J., Alvarenga S., Abdelnour A. Enraizamiento de estacas de chayote (*Sechium edule*). Alcances

Tecnológicos. Revista INTA. 2010. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología

Agropecuaria. 8(1):61-69

Brenes, J. 2006. Enraizamiento de estacas de chayote. Taller de capacitación para agricultores de la Federación de Centros Agrícolas Cantonales del Valle Central Oriental. Ujarrás, Cartago, Costa Rica. 9p.

Cassels A.C., Long, R.D. 1982. The elimination of potato viruses X, Y, S and M in meristem and explants culture of potato in the presence of virazole. Potato Res. 25: 165-173.

CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical). 1982. El cultivo de meristemas para el saneamiento de clones de yuca: Guía de estudio. Serie 04SC-02.05. Cali, Colombia. 45p.

Cieslinska M. 2002. Elimination of apple chlorotic leaf spot virus (acls) from pear by *in vitro* thermotherapy and chemotherapy. ISHS Acta Horticulturae 596: VIII International Symposium on

Pear. Ferrara - Bologna, Italy.

CIMPE (Centro Nacional de Política Económica para el Desarrollo Sostenible). Universidad Nacional Heredia, Costa Rica. 2015. Cadenas Globales de mercancías. La cadena de chayote.

http://www.cinpe.una.ac.cr/index.php?option=com_content&view=article&id=553&Itemid=200

Conci, V.C. 2010. Utilización de cultivos de tejidos para la obtención y conservación de plantas libres de enfermedades. Echenique, V.; Clara Rubinstein, Hopp, E.; Mroginski L.; Levitus, G. (eds.). Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Pp. 481-493

Conci V.C., Nome SF. 1991. Virus free garlic (*Allium sativum* L.) plants by thermotherapy and meristema-tip culture. J. Phytopathology 132:186-192.

Converse RH, Tanne E. 1984. Heat therapy and stolon apex culture to eliminate mild yellow-edge virus from Hood strawberry. Phytopathology 74:1315-1316.

COOPESANPAR (Cooperativa de Productores de Chayote de Santiago de Paraíso R.L.).

2000. Desarrollo Agroindustrial del Chayote. Santiago de Paraíso, Cartago, Costa Rica. 28p.

George E., Hall M.A., De Klerk G. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. Vol. 1. 3 ed. Springer. pp. 2-3

Golmirzaie AM, Panta A, Nopo LH. 1994. The contribution of tissue culture of roots and tubers to crop improvement in National Agriculture Research Systems (NARS). In: Advances in Tissue Culture Technology for Improved Planting Material. (4-1994, Kingston, Jamaica). Proc. of Biotech. Conf. p. 98-105.

LIRA R. 1996. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Chayote (*Sechium edule* Jacq.) SW. IPGRI. Roma, Italia. 58p.

Malauri B., Trouslot M., Bertraud J., Bousalem M., Pinel A., Dubern J. 1998. Medium-term and long-term *in vitro* conservation and safe international exchange of yam (*Dioscoria* spp.) germplasm.

Electronic Journal of Biotechnology, Chile 1:1-15.

Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.

Mroginski, L., Sansberro, P.; Flaschland E. 2010. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales. Echenique, V.; Clara Rubinstein, Hopp, E.; Mroginski L.; Levitus, G. (eds.). *Biología y Mejoramiento Vegetal II*. Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Pp. 17-25

Shepard, JF. 1977. Regeneration of plants from protoplasts of potato virus X-infected tobacco. *Virology* 78: 261-266.

PROCOMER (Promotora de comercio exterior de Costa Rica). 2007. Análisis de estadísticas de exportación de Costa Rica. Libro 2007. (En línea). Disponible en <http://procomer.com/PDF/estadisticas/libro-2007.pdf>>> (25/05/10)

Sosa, R. 1997. El poder medicinal de las plantas. Asociación Publicadora Interamericana. Miami, Florida, Estados Unidos de América. P. 123.

Apéndice 2

Reglamento Técnico para la Certificación de Semilla de Chayote (*Sechium edule*)

I. Aplicación de las normas generales de certificación:

En este proceso se aplicarán las normas generales establecidas para la certificación de semilla, a las que serán agregadas las siguientes normas específicas:

II. Variedades Elegibles.

Para la certificación de semilla, se requiere que las variedades estén inscritas en el Registro de Variedades Comerciales, que mantiene la Oficina Nacional de Semillas.

La inscripción de una variedad en este Registro se realizará, según el procedimiento que se establece en la normativa correspondiente.

III. Registro de semilleristas.

Las personas físicas y/o jurídicas interesadas en la producción y comercialización de plántulas in vitro, esquejes, plantas de vivero u otro material vegetal de propagación certificado de chayote, deberán inscribirse en la Oficina Nacional de semillas.

Para registrarse como productor de material de propagación certificado de chayote (semilla), el interesado deberá solicitar su inscripción ante la ONS en el respectivo formulario, aportando la siguiente información:

- a. Nombre o razón social del solicitante.
- b. Número de cédula física o jurídica.
- c. Dirección, número telefónico y correo electrónico.
- d. Ubicación del laboratorio, invernadero y/o campos de multiplicación.
- e. Nombre de la persona responsable de la unidad de producción.
- f. Área del laboratorio (m²), del invernadero y de los campos de producción.
- g. Capacidad instalada de producción (cantidad de plantas por año)
- h. Cancelar el canon correspondiente.
- i. Llevar el control de ventas del material genético, suministrando informes periódicos a la ONS, en los cuales se deberá incluir el nombre del cliente, la variedad y cantidad de plantas in vitro, plantas aclimatadas y esquejes o estacas certificadas vendidas, el número de lote y la categoría.
- j. Aceptar el acatamiento de las disposiciones técnico-administrativas establecidas por la ONS.

IV. Categoría de semilla de chayote

La micro y la macropropagación clonal, reconoce las siguientes categorías de semilla de chayote:

1. Elite: Corresponde a las plántulas libres de enfermedades producidas mediante la micropropagación o propagación clonal in vitro bajo condiciones controladas en laboratorio, a partir del cultivo de explantes de plántulas madres seleccionadas.
2. Básica: Semilla asexual producida en invernadero a partir de material élite hasta un máximo de dos generaciones.

3. Certificada: Material de propagación producido en campos aislados de plantaciones comerciales, a partir de las categorías Elite o Básica.

V. Solicitud de inscripción de las unidades de producción.

La producción de semilla de chayote categoría elite, básica y certificada deberá realizarse en laboratorios, invernaderos y campos de multiplicación respectivamente, debidamente inscritos, ante la oficina Nacional de Semillas.

VI. Fases de multiplicación

1. Selección de plantas madres

La producción de material de siembra de chayote bajo el sistema de certificación, se inicia con la identificación y selección de plantas madres que correspondan con el idiotipo de la variedad a multiplicar. El material vegetal deberá provenir de plantas de alto rendimiento comercial, vigorosas y que no evidencien síntomas de plagas y enfermedades.

2. Multiplicación in vitro

La multiplicación de plántulas in vitro se efectuará siguiendo los protocolos validados para esta especie. El laboratorio deberá facilitar las inspecciones oficiales que se consideren pertinentes. El inspector podrá revisar los protocolos de multiplicación de los materiales in vitro cuando lo estime

necesario. Las plantas in vitro certificadas deberán contar con el análisis oficial fitosanitario correspondiente.

El laboratorio debe contar obligatoriamente con áreas de lavado, preparación de medios de cultivo y soluciones madres, de esterilización e incubación (cuartos de crecimiento).

En el manejo de laboratorio e invernaderos destinados a la multiplicación de semilla de chayote, el productor deberá aplicar las medidas sanitarias de carácter preventivo y de control respectivamente.

3. Control de Calidad en Laboratorio.

- a. Se deberá utilizar como material inicial de multiplicación, brotes vegetativos de plantas madres seleccionadas libre de síntomas virales y de otras enfermedades.
- b. El acceso a los materiales de propagación o multiplicación, en la medida de lo posible, deberá ser restringido y bajo las respectivas normas sanitarias para evitar su contaminación.
- c. Restringir el acceso de personal, a las diferentes áreas de trabajo.

VII. Producción en Invernaderos.

1. Los invernaderos dedicados a la multiplicación de material propagativo de chayote, deberán contar con las siguientes condiciones:

- a. Estar completamente cerrados, techados con láminas de plástico o policarbonato recomendadas y, malla antiáfidos, con la finalidad de impedir el ingreso de plagas.
- b. Sistema de doble puerta, con la respectiva desinfección de zapatos y otros materiales a la entrada de las instalaciones.
- c. El piso debe ser de concreto, lastre endurecido, grava u otro material aislante del suelo para evitar: contaminación por hongos, bacterias, la humedad y facilitar las operaciones dentro del mismo.
- d. El agua para el riego debe estar libre de contaminantes y, ser apta para las aplicaciones de productos químicos.
- e. Los potes deben estar alejados del suelo, por lo que se recomienda utilizar mesas o bancos de multiplicación.
- f. Deben colocarse trampas para monitoreo de áfidos, trips, mosca blanca, entre otras plagas, dentro de las instalaciones.
- g. El sustrato a utilizar debe estar libre de plagas y patógenos, por lo que, deberá desinfectarse adecuadamente; contar con una buena retención de humedad y buen drenaje.

2. *Control de Calidad en invernadero.*

- a. Colocar en lugares visibles las diferentes instrucciones de limpieza y desinfección.

- b. Desinfectar los equipos y herramientas previamente al ingreso a los módulos de los invernaderos.
- c. Desinfectar en forma general los invernaderos con productos específicos, para ese fin, al menos cada seis meses.
- d. Contar con un área apropiada para la desinfección de equipos, herramientas y potes a reutilizar.
- e. Mantener las áreas cercanas a los invernaderos libres de malezas.
- f. Todo residuo o remanente de cosecha debe destruirse y retirarse de las áreas de multiplicación.

VIII. Requisitos para la multiplicación de semilla Elite, Básica y Certificada.

- a) Cumplir con las disposiciones relativas al Registro de Semilleristas.
- b) Inscribir ante la Oficina Nacional de Semillas cada partida o lote de semilla que se vaya a producir, en laboratorio, invernadero o en campos de multiplicación.
- c) El invernadero debe ajustarse a una distribución básica, contando con las siguientes áreas: un pre cuarto de entrada, de esterilización de substratos, bodega, de almacenamiento de material vegetal y de siembra; adicionalmente, disponer con paredes cubiertas de malla antiáfidos y techo de lámina plástica u otro material que permita el paso de la luz.
- d) Se debe impedir el ingreso de animales y así como a personas ajenas al manejo de la semilla.
- e) Cumplir con las normas fitosanitarias y de otros atributos de calidad que establezca la Oficina Nacional de Semillas.

- f) Contar con un libro de registro o bitácora donde se llevará el control de las actividades que se realicen, el cual, estará a disposición para la supervisión por el inspector oficial.
- g) Los campos de multiplicación de esquejes para el enraizamiento bajo condiciones de invernadero y, brotes vegetativos para la multiplicación en laboratorio, deberán estar aislados de plantaciones comerciales de chayote y, reunir las condiciones edáficas y agroclimáticas adecuadas para el desarrollo normal del cultivo. Los mismos deberán alcanzar la fase de producción de fruto, con la finalidad de confirmar la identidad y pureza varietal.

IX. Inspecciones oficiales

Los laboratorios, invernaderos y campos de multiplicación de semilla deberán inspeccionarse, a fin de verificar el cumplimiento de las normas y requisitos establecidos.

Estas inspecciones se realizarán antes de la multiplicación clonal establecimiento de explantes, aclimatación y desarrollo de plántulas así como, durante el establecimiento de plantas madres y producción de esquejes a nivel de campo, si fuera el caso.

En las inspecciones se evaluará, dependiendo del momento de la misma:

- a. Condición de las plantas madres.
- b. Selección de esquejes.
- c. Origen y condición sanitaria y fisiológica de los explantes.
- d. Establecimiento y desarrollo de plántulas en fase de aclimatación.
- e. Desarrollo, condición fitosanitaria y varietal de final de vitroplantas y, plantas de vivero.

- f. Establecimiento, ubicación, desarrollo, condición fitosanitaria, identidad y pureza varietal de los campos de multiplicación.

En función de esta valoración el certificador podrá recomendar las medidas correctivas sujetas a su verificación, la aprobación del lote de semilla o su descarte parcial o total.

Apéndice 3

<p>Objetivo general</p> <p>Establecimiento de un programa de abastecimiento de semilla certificada de chayote en Ujarrás, Cartago, Costa Rica.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ul style="list-style-type: none"> • Multiplicar en forma masiva el material de siembra de chayote para la producción comercial de exportación. • Diseñar e implementar un programa de certificación de semillas. 	<p>Para mayor información, comunicarse con:</p> <p>Dra. Ana Abdelnour Esquivel aabdelnour@itcr.ac.cr</p> <p>MAP Jaime Brenes Madriz jabrenes@itcr.ac.cr</p> <p>TEC Tecnológico de Costa Rica</p>	<p>TEC Tecnológico de Costa Rica</p> <p>Producción de semilla clonal de chayote (<i>Sechium edule</i>)</p> 
---	--	---



- El chayote representa una cantidad importante de divisas en los países productores entre los que Costa Rica es líder.
- Una de las principales limitantes en la producción es el material de siembra ya que el uso de la semilla sexual o fruto genera una gran variación en los frutos cosechados y alto porcentaje de rechazo en las plantas empacadoras.
- El Instituto Tecnológico de Costa Rica ha trabajado en conjunto con los productores en capacitaciones y proyectos como micropropagación de fenotipos seleccionados y erradicación de virus.

Metodología

- El material utilizado para la multiplicación masiva fue el “quelite” porque es el de mayor exportación.
- Las plantas producidas *in vitro* fueron aclimatadas en invernaderos provistos por los productores en Ujarrás, Cartago.
- Una vez aclimatadas, las plantas fueron repartidas en cinco fincas de la zona.



Fotografía: Brotes de chayote utilizados para la multiplicación masiva en el laboratorio

Resultados

- Productores con capacidad de auto-abastecimiento de semilla clonal de calidad.
- Guía técnica para la producción de semilla clonal de chayote
- Reglamento técnico para la certificación de semilla de chayote.

Importancia de la reproducción clonal y certificación de semilla

- Algunas técnicas de reproducción clonal son el enraizamiento de estacas o “Quelites”, la micropropagación para la multiplicación masiva de materiales seleccionados y el cultivo de meristemos para la erradicación de virus.
- La producción de clones de material seleccionado permite aumentar la uniformidad y la aceptación en plantas empacadoras.
- El establecimiento de un programa de abastecimiento de semilla certificada le permitiría a los productores contar con semillas de calidad para asegurar uniformidad y cumplimiento de estándares comerciales internacionales.



Fotografía: Plantas de chayote *in vitro*.