



UNIVERSIDAD NACIONAL DE  
LOJA



**FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS  
NATURALES RENOVABLES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**LABORATORIO DE MICROPROPAGACIÓN VEGETAL**

“PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS PARA LA MULTIPLICACIÓN  
Y ENRAIZAMIENTO DE (*Carica papaya* L.) A PARTIR DE  
VITROPLANTAS”

TESIS DE GRADO PREVIO A  
LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO  
DE INGENIERO AGRÓNOMO

**AUTOR:**

Romel Vicente Arias Loja

**DIRECTOR:**

Ing. For. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.

**CO-DIRECTORA:**

Ing. Agr. Julia Esther Minchala Patiño.

Loja – Ecuador

2018

**CERTIFICACIÓN**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**  
**FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**CERTIFICACIÓN**


Ing. For. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.

**DIRECTOR DE TESIS**

En calidad de Director de la tesis titulada “**PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS PARA LA MULTIPLICACIÓN Y ENRAIZAMIENTO DE (*Carica papaya* L.) A PARTIR DE VITROPLANTAS**”, de autoría del señor egresado de la Carrera de Ingeniería Agronómica **Romel Vicente Arias Loja**, ha sido dirigida, revisada y desarrollada dentro del cronograma aprobado, en su integridad, por lo que autorizo su presentación y publicación.

Loja, 18 de Diciembre del 2017

Atentamente,



---

Ing. For. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.  
**DIRECTOR DE TESIS**

## APROBACIÓN

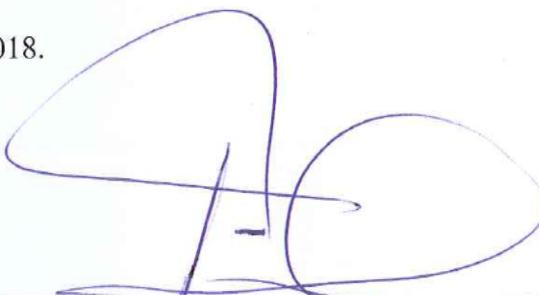
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA  
FACULTADA AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES  
RENOVABLES  
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

## CERTIFICACIÓN

Una vez cumplida la reunión del Tribunal de calificación del Trabajo Final de Tesis **“PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS PARA LA MULTIPLICACIÓN Y ENRAIZAMIENTO DE (*Carica papaya* L.) A PARTIR DE VITROPLANTAS”** de autoría del Sr. Romel Vicente Arias Loja, egresado de la Carrera de Ingeniería Agronómica, se le propuso realizar algunas correcciones, mismas que ya han sido incluidas en el documento final.

En tal virtud, nos permitimos certificar que el trabajo final consolidado de investigación está acorde a los requerimientos de la Carrera de Ingeniería Agronómica, por lo tanto se le autoriza continuar con los trámites correspondientes.

Loja, 19 de febrero del 2018.



---

Ing. Edmigio Valdivieso Caraguay, Mg; Sc.  
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL  
CALIFICADOR



---

Ing. Max Encalada, Mg; Sc.  
VOCAL



---

Ing. Paulina Fernández Guarnizo, Mg; Sc.  
VOCAL

## AUTORÍA

Yo, **Romel Vicente Arias Loja**, declaro ser autor del presente trabajo de tesis y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

**Autor:** Romel Vicente Arias Loja

**Firma:**.....

**Cédula:** 1900571025

**Fecha:** 21 de febrero del 2018

## CARTA DE AUTORIZACIÓN

### CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TEXTO COMPLETO

Yo, Romel Vicente Arias Loja, declaro ser autor de la tesis titulada “**PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS PARA LA MULTIPLICACIÓN Y ENRAIZAMIENTO DE (*Carica papaya* L.) A PARTIR DE VITROPLANTAS**”, como requisito para optar el grado de: Ingeniero Agrónomo, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja, para que con fines académicos, muestre al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con los cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero. Para constancia de su autorización, en la ciudad de Loja, a los veintiún días del mes de febrero del dos mil dieciocho, firma el autor.

**Firma:** .....

**Autor:** Romel Vicente Arias Loja

**Número de cédula:** 1900571025

**Dirección:** Provincia Zamora Chinchipe, Cantón El Panguí, Barrio Las Orquídeas

**Teléfono:** 2578 076 – 2310 408

**Correo electrónico:** [ariasromell10@yahoo.com](mailto:ariasromell10@yahoo.com)

#### DATOS COMPLEMENTARIOS

**Director de tesis:** Ing. For. Víctor Hugo Eras Guamán Mg. Sc.

**Co-directora de tesis:** Ing. Agr. Julia Esther Minchala Patiño

**Tribunal de grado:** Ing. Ing. Edmigio Valdivieso Caraguay, Mg; Sc.

Ing. Max Encalada, Mg; Sc.

Ing. Paulina Fernández Guarnizo, Mg; Sc.

## **AGRADECIMIENTO**

Gracias a mi Universidad, a la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, a la Carrera de Ingeniería Agronómica, al Laboratorio de Micropropagación Vegetal, a mis docentes, a mis compañeros y amigos, gracias por haberme permitido formarme en ella, por haber compartido vivencias, gracias a todas las personas que fueron partícipes de este proceso desde la autoridad máxima hasta el amigo conserje, ya sea de manera directa o indirecta, gracias a todos ustedes, fueron los responsables de realizar su pequeño aporte, que el día de hoy se vería reflejado en la culminación de mi paso por la Universidad.

Este es un momento muy especial que espero perdure en el tiempo, no solo en la mente de las personas a quienes agradecí, sino también a quienes invirtieron su tiempo y dedicación para darle una mirada al proyecto de tesis; así mismo les agradezco de todo corazón a las personas: Ing. For. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc. Director de la tesis, a la Ing. Agr. Julia Esther Minchala Patiño Codirectora de la tesis, al Equipo Técnico del Laboratorio, en las personas de Ing. Agr. Magaly Yaguana Arévalo, Ing. For. Mauricio Sinche Freire e Ing. Agr. Cristian Valarezo Ortega; por el asesoramiento técnico e insumos brindados durante el desarrollo de mi investigación.

## DEDICATORIA

*La vida es hermosa y unas de las principales características de esta hermosura es que la podamos compartir y disfrutar con quienes amamos.*

*Dedico esta tesis a mi padres Germán y Rosa, porque ellos han dado razón a mi vida por sus consejos, su apoyo, paciencia, porque siempre me apoyaron incondicionalmente en la parte moral y económica para llegar a ser un profesional capaz, responsables y eficiente.*

*Resaltar a mi padre por su sacrificio de 18 años fuera de su familia, casa y patria, en busca de mejores días para nosotros, tiempo que no se olvidó, siempre estuvo presente, gracias de todo corazón.*

*A papa Carlos, a la memoria de mamita Teresa, a mis hermanos Geovanny, Jayro y Fessenia que más que hermanos son mis verdaderos amigos, a mi familia por el apoyo que siempre me brindaron día a día en el transcurso de cada año de mi Carrera Universitaria*

*Romel Vicente Arias Loja*

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
CERTIFICACIÓN.....	ii
APROBACIÓN.....	iii
AUTORÍA.....	iv
CARTA DE AUTORIZACIÓN.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	vii
ÍNDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xvi
RESUMEN.....	xix
ABSTRACT.....	xxi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Generalidades del cultivo <i>Carica papaya</i> L.....	3
2.1.1. Origen.....	3
2.1.2. Zonas e importancia del cultivo de <i>Carica papaya</i> L.....	3
2.1.3. Descripción morfológica de la planta de papayo.....	4
2.1.4. Propagación de la papaya.....	6
2.1.4.1. Propagación por semillas y esquejes.....	6
2.2. Cultivo <i>in vitro</i> .....	8
2.3. Micropropagación <i>in vitro</i> .....	8
2.3.1. Establecimiento del cultivo de tejidos <i>in vitro</i> .....	9
2.3.2. Estrategias de la micropropagación.....	9
2.3.3. El cultivo de meristemas, ápices caulinares y yemas axilares.....	9



2.3.4. La organogénesis directa .....	10
2.3.5. La organogénesis indirecta .....	10
2.3.6. Factores que intervienen en la micropropagación .....	11
2.3.6.1. Factores externos .....	11
2.3.6.2. Factores ambientales de incubación .....	12
2.3.6.3. Reguladores de crecimiento.....	13
2.4. Multiplicación de brotes <i>in vitro</i> .....	14
2.5. Enraizamiento <i>in vitro</i> .....	15
2.6. Problemas de la micropropagación.....	15
2.6.1. Pardeamiento (Oxidación fenólica) .....	16
2.6.2. Vitricación.....	16
2.7. Estudios similares sobre la multiplicación y enraizamiento <i>in vitro</i> de plantas .....	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
3.1. Materiales .....	20
3.1.1. Material vegetativo .....	20
3.1.2. Equipo de laboratorio .....	20
3.1.3. Instrumental mecánico de vidriería y otros .....	20
3.1.4. Sustancias químicas .....	20
3.2. Metodología.....	20
3.2.1. Ubicación del área de estudio .....	20
3.2.2. Ubicación geográfica y política del Laboratorio de Micropropagación Vegetal.....	21
3.3. Metodología para probar el balance hormonal auxinas - citoquininas para la inducción de brotes axilares de ( <i>Carica papaya</i> L.) a partir de vitroplantas. ....	21
3.3.1. Desinfección de los explantes.....	22
3.3.2. Preparación del medio de cultivo .....	22
3.3.3. Siembra <i>in vitro</i> de explantes y condiciones de incubación.....	23

3.3.4. Diseño experimental para la fase de multiplicación de explantes de <i>Carica papaya</i> L. ....	24
3.3.4.1. Especificaciones del diseño experimental. ....	24
3.3.4.2. Unidad experimental y evaluación ....	25
3.3.5. Hipótesis del modelo ....	26
3.3.6. Análisis estadístico de datos en la fase de multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L. ....	26
3.4. Metodología para ensayar diferentes concentraciones del balance hormonal de auxinas – citoquininas para la inducción de raíces adventicias en brotes de ( <i>Carica papaya</i> L.) obtenidas a partir de vitroplantas. ....	27
3.4.1. Preparación del medio de cultivo ....	27
3.4.2. Siembra <i>in vitro</i> de vitroplantas y condiciones de incubación ....	28
3.4.3. Diseño experimental para la fase de enraizamiento de vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L. ....	28
3.4.3.1. Especificaciones del diseño experimental. ....	29
3.4.3.2. Unidad experimental y evaluación. ....	29
3.4.4. Hipótesis modelo ....	30
3.4.5. Análisis estadístico de datos en la fase de enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L. ....	30
3.5. Metodología para difundir los resultados de la investigación a los actores sociales interesados, docentes y estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja. ....	31
4. RESULTADOS ....	32
4.1. Fase de multiplicación <i>in vitro</i> de explantes (ápices caulinares y segmentos nodales) de vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L. ....	32
4.1.1. Porcentaje de Contaminación ....	32
4.1.2. Número de brotes formados por explante. ....	32
4.1.3. Longitud de brotes (mm) ....	33
4.1.4. Número de hojas formadas por brote. ....	34
4.1.5. Número de nudos formados por brote ....	35
4.1.6. Porcentaje de formación de callos por explante (estimado) ....	35

4.2.	Fase de enraizamiento <i>in vitro</i> de vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L. con la aplicación de AIA – AS.....	36
4.2.1.	Porcentaje de contaminación .....	36
4.2.2.	Número de brotes formados por vitroplanta .....	36
4.2.3.	Longitud de brotes (mm) .....	37
4.2.4.	Número de raíces formadas por vitroplanta.....	38
4.2.5.	Longitud de raíces por vitroplanta (mm) .....	39
4.3.	Difusión de la información generada.....	40
5.	DISCUSIÓN.....	42
5.1.	Fase de multiplicación de segmentos nodales y ápices caulinares de <i>Carica papaya</i> L. ....	42
5.1.1.	Porcentaje de Contaminación .....	42
5.1.2.	Fase de multiplicación .....	42
5.2.	Fase de enraizamiento de vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L. con la aplicación de AIA y AS. ....	44
5.2.1.	Fase de enraizamiento.....	44
6.	CONCLUSIONES .....	45
7.	RECOMENDACIONES.....	46
8.	BIBLIOGRAFÍA .....	47
9.	ANEXOS .....	53

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Cuadro 1.	Combinación hormonal auxina – citoquinina en la fase de multiplicación de explantes de <i>Carica papaya</i> L.	22
Cuadro 2.	Tratamientos usados para evaluar el efecto de la combinación auxina – citoquinina en la inducción a la multiplicación de explantes de <i>Carica papaya</i> L.	24
Cuadro 3.	Hoja de registro para evaluar la variable de contaminación en la multiplicación <i>in vitro</i> de explantes de <i>Carica papaya</i> L.	25
Cuadro 4.	Hoja de registro para evaluar las variables en la fase de multiplicación de los explantes de <i>Carica papaya</i> L.	25
Cuadro 5.	Matriz de medidas resumen para el análisis de la información de multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L.	26
Cuadro 6.	Tratamientos usados para evaluar el efecto hormonal auxinas – citoquininas en la formación de raíces adventicias en vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L.	29
Cuadro 7.	Hoja de registro para evaluar la variable de contaminación en la fase de enraizamiento en vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L.	29
Cuadro 8.	Hoja de registro para evaluar las variables en la fase de enraizamiento de vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L.	30
Cuadro 9	Matriz de medidas resumen para el análisis de la información de enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L.	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Figura 1.	A) Árbol de <i>Carica papaya</i> L. B) Fruto y semillas de <i>Carica papaya</i> L. Arias 2017.	3
Figura 2.	Mapa de ubicación del Laboratorio de Micropropagación Vegetal, de la Universidad Nacional de Loja.	21
Figura 3.	Sales minerales del MS y Suplementos para la preparación de medio de cultivo para la multiplicación. Arias y Minchala. Loja-2017.	23
Figura 4.	Preparación del medio de cultivo MS suplementado con auxinas – citoquininas. Arias y Minchala. Loja- 2017.	23
Figura 5.	Disección de segmentos nodales y ápices caulinares de <i>Carica papaya</i> L. en un medio para multiplicación. Arias y Minchala. Loja- 2017.	24
Figura 6.	Identificación de tratamientos para multiplicación de <i>Carica papaya</i> L. en medio para multiplicación. Arias y Minchala. Loja- 2017.	24
Figura 7.	Sales minerales del MS y Suplementos para la preparación de medio de cultivo para enraizamiento. Arias y Minchala. Loja-2017.	27
Figura 8.	Preparación del medio de cultivo MS suplementado con AIA y AS. Arias y Minchala. Loja- 2017.	27
Figura 9.	Vitroplanta de <i>Carica papaya</i> L. lista para ser sembrada en un medio de enraizamiento. Arias y Minchala. Loja- 2017.	28
Figura 10.	Siembra de vitroplanta de <i>Carica papaya</i> L. en medio MS para enraizamiento. Arias y Minchala. Loja- 2017.	28
Figura 11.	Ensayo montado para la fase de enraizamiento de <i>Carica papaya</i> L. Arias y Minchala. Loja- 2017.	28

Figura 12.	Número de brotes formados por explante en los diferentes tratamientos aplicados para la multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).	33
Figura 13.	<b>A) y B)</b> Multiplicación <i>in vitro</i> de explantes de <i>Carica papaya</i> L. Laboratorio de Micropropagación Vegetal – UNL. Arias y Minchala 2017.	33
Figura 14.	Longitud promedio de brotes por explante en los diferentes tratamientos aplicados para la multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L. Medias con una letra común nos son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).	34
Figura 15.	Número de hojas por brote de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de multiplicación. Medias con una letra común con son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).	34
Figura 16.	Número promedio de nudos por brotes de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de multiplicación. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).	35
Figura 17.	Porcentaje de formación de callos por explante de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de multiplicación.	36
Figura 18.	Número de brotes por vitroplanta de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de enraizamiento <i>in vitro</i> . Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).	37
Figura 19.	Longitud promedio de brotes por vitroplanta en los diferentes tratamientos aplicados para el enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).	38

Figura 20.	Número promedio de raíces por vitroplanta de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de enraizamiento. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).	39
Figura 21.	<b>A), B) y C)</b> Enraizamiento <i>in vitro</i> de vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L. por organogénesis directa. Laboratorio de Micropropagación Vegetal – UNL. Arias y Minchala 2017.	39
Figura 22.	Longitud promedio de raíces por vitroplanta de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de enraizamiento. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).	40
Figura 23.	<b>A) y B)</b> Difusión de Resultados de Tesis al Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Cuarto Año, de la Carrera de Ingeniería Agronómica, de la Universidad Nacional de Loja. Arias y Minchala 2017.	41

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo</b>	<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Anexo 1.	Tabla de datos para la fase de multiplicación de <i>Carica papaya</i> L.	53
Anexo 2.	Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación de explantes de <i>Carica papaya</i> L., fase de multiplicación.	54
Anexo 3.	Análisis estadístico para el Número de brotes promedio por tratamiento de <i>Carica papaya</i> L., fase de multiplicación.	54
Anexo 4.	Análisis estadístico para la Longitud de brotes promedio por tratamiento de <i>Carica papaya</i> L., fase de multiplicación.	55
Anexo 5.	Análisis estadístico para el Número de hojas por brote de <i>Carica papaya</i> L., fase de multiplicación.	55
Anexo 6.	Análisis estadístico para el Número de nudos por brote de <i>Carica papaya</i> L., fase de multiplicación.	56
Anexo 7.	Tabla de toma de datos para la fase de enraizamiento de <i>Carica papaya</i> L.	57
Anexo 8.	Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación de vitroplantas de <i>Carica papaya</i> L., fase de enraizamiento.	58
Anexo 9.	Análisis estadístico para el Número de brotes de <i>Carica papaya</i> L., fase de enraizamiento.	58
Anexo 10.	Análisis estadístico para la Longitud de brotes de <i>Carica papaya</i> L., fase de enraizamiento.	59
Anexo 11.	Análisis estadístico para el Número de raíces por vitroplanta de <i>Carica papaya</i> L., fase de enraizamiento.	59
Anexo 12.	Análisis estadístico para la Longitud de raíces por vitroplanta de <i>Carica papaya</i> L., fase de enraizamiento.	60
Anexo 13.	Difusión de los Resultados de la Investigación a los Actores Involucrados, Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de	61



Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Cuarto año, de la Carrera de Ingeniería Agronómica, de la Universidad Nacional de Loja.

Anexo 14      Tríptico divulgativo del presente trabajo de Investigación.      62

**PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS PARA LA MULTIPLICACIÓN Y  
ENRAIZAMIENTO DE (*Carica papaya* L.) A PARTIR DE VITROPLANTAS.**

## RESUMEN

*Carica papaya* L., es una especie frutal que ha adquirido relevancia en los últimos años debido a su buena calidad gustativa y a su alto valor nutricional. Las variedades de papaya criolla son más propensas a problemas fitosanitarios, delicada a la manipulación y transporte, los productores la están sustituyendo por especies mejoradas que presentan mejores características para ser comercializadas. Una de las mejores alternativas para la propagación de plantas es el uso de técnicas biotecnológicas como la micropropagación, mediante las técnicas de cultivos *in vitro*, que permiten obtener plántulas inocuas; además, de incrementar el número de individuos a gran escala y en un menor tiempo posible.

La presente investigación se desarrolló dentro del proyecto: **“Desarrollo y Fortalecimiento del Laboratorio de Micropropagación Vegetal.”**, en su etapa de laboratorio. Para la fase de multiplicación de *Carica papaya* L., se utilizó el medio de cultivo basal Murashige & Skoog (MS), adicionando reguladores de crecimiento, auxinas Ácido Indol Acético (AIA) y citoquininas Bencil Amino Purina (BAP) en diferentes concentraciones: AIA: 0,0; 0,5 y 0,5 mg/l; y BAP: 0,5; 0,0 y 0,5mg/l. En esta fase se evaluaron variables como número de brotes por explante, longitud de brotes, número de hojas y número de nudos por brote. La combinación hormonal 0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP, resultó ser la más efectiva en cuanto a la formación de brotes, número de hojas y número de nudos, obteniéndose resultados de 3,0 brotes por explante, con 4,50 hojas y 4,20 nudos por brote. En cuanto al tamaño de los brotes el mejor resultado se obtuvo en la combinación hormonal 0,0 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP, dando una altura de 16,80 mm por explante.

Para la fase de enraizamiento de *Carica papaya* L. se utilizó diferentes concentraciones de Ácido Indol Acético (AIA): 0,5; 0,2 y 0,5 mg/l; y Sulfato de Adenina (AS): 0,0; 0,5 y 0,5 mg/l. Las variables que se evaluaron fueron, número de raíces, longitud de raíces, número de brotes y longitud de brotes por vitroplanta. La concentración hormonal 0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS, resultó ser la más efectiva para las variables número de raíces por vitroplanta y longitud de la raíz, en el cual se obtuvo 0,20 raíces por vitroplanta, con una longitud de 4,30 mm; cabe señalar que las raíces obtenidas corresponden a raíces adventicias, formadas a partir de organogénesis directa. Por otro lado, para las variables de brotamiento y longitud de brotes evaluados en la fase de enraizamiento, la concentración hormonal 0,5 mg/l AIA

+ 0,0 mg/l AS, resultó ser la más efectiva, donde se obtuvo un promedio de 1,90 brotes por vitroplanta con una longitud de 17,20 mm.

**Palabras claves:** *In vitro*, micropropagación, propagación, enraizamiento, papaya.

## ABSTRACT

*Carica papaya* L., is a kind of fruit that has acquired a lot of relevance in the latest years because of its great taste and high nutritional value. The variety of creole papayas are more liable to phytosanitary problems and delicate to the handling. The producers are replacing them by improved breeds that have better features to be market. One of the best alternatives for the spreading of the plants is the use of biotechnological techniques as the micro-propagation, by the use of farming techniques *in vitro*, that permit to obtain innocuous seedling; moreover of increasing individual number in less possible time.

This research was developed inside of the project: **“Development and Strengthening of the Laboratory of Vegetable Micropropagation.”**, in its laboratory stage. In the phase of *Carica papaya* L., multiplication, was used the Murashige & Skoog (MS) basal farming. Adding growth controllers, Auxins: Acid Indol Acetic (AIA). Cytokinins: Benzyl Amine Purine (BAP), in this concentration: AIA: 0,5; 0,5 y 0,5 mg/l; y BAP: 0,5; 0,0 y 0,5 mg/l. In this stage was evaluated variables such us: number of sprouts per explant, sprout length, leaves number and number of knots per sprout. The hormonal combination 0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP was the most effective in regard to sprouts formation and leaves and knots number, obtaining results of 3,0 sprouts per explant, with 4,50 leaves and 4,20 knots per sprout. In regard to sprouts size, the best result was the hormonal combination 0,0 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP, giving a height of 16,80 mm per explant.

To the stage of *Carica papaya* L., rooting, were used different concentrations of AIA, 0,5; 0,2 Y 0,5 mg/l; and Adenine Sulphate (AS) 0,0; 0,5 and 0,0 mg/l. Were evaluated variables such as: roots number, roots length, sprouts number and sprout length by vitroplant. The hormonal concentration 0,5 mg/l AIA; + 0,0 mg/l AS, was the most appropriate to the variables, number of roots per bitroplant and root length, in which it was obtained 0,20 roots per vitroplant, with a length of 4,30 mm. It should be noted that the obtained roots belong to adventitious roots, formed from direct organogenesis. On the other hand to the sprouting and sprouts length variables, evaluated in the rooting stage, the hormonal concentration 0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS was the best, where it was acquired an average of 1,90 sprouts per vitroplant, with a length of 17,20 mm.

**Key words:** *In vitro*, micro-propagation, propagation, rooted, papaya.

## 1. INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya* L.) es un cultivo alternativo de gran importancia económica y alimentaria. Este fruto por su alto valor nutritivo y propiedades medicinales posee características que han contribuido a incrementar su cultivo. La papaya se consume principalmente como fruta; además, en la preparación de refrescos, jugos, mermeladas, fruta en almíbar o cristalizada. También produce látex que se extrae de los frutos verdes y tallo, el cual contiene una enzima que permite la digestión de las proteínas (PROECUADOR, 2015).

Es un cultivo natural de los trópicos y subtropicos, originaria de América Central, se adapta a una amplia variedad de climas, aunque prefiere las zonas cálidas y con alta irradiación solar. (Rodríguez. & Farrés, 2008). A nivel nacional, Santo Domingo de los Tsáchilas es la provincia que más produce papaya en monocultivo, con una producción de 316 ha, Guayas es la segunda mayor productora de papaya, con una superficie cosechada de 231 ha. En el caso de asociación, la provincia de Esmeraldas es la que más área posee (17 %), seguida de Morona Santiago (16 %), Manabí (14 %) y Guayas (11 %) (Solagro, 2015).

Las plantas de papaya tanto jóvenes como adultas están siempre susceptibles de contraer enfermedades como: virus, bacterias y micoplasmas (Bhattacharya, 2011). Dentro de estas enfermedades, aquellas ocasionadas por virus, constituyen el principal grupo ya que ocasionan bajas producciones, frutos de mala calidad y la pérdida de plantaciones (Lima & Sousa, 2001). La mancha anular del papayo se considera la enfermedad viral de mayor importancia económica. Este virus altera la capacidad fotosintética de la planta, lo que implica reducción de la productividad y calidad de las frutas, pérdida de vigor de las plantas y en ocasiones la muerte de estas (Gonsalves, 1998). Según Bhattacharya (2011) las afectaciones fitosanitarias provocan pérdidas permanentes en las plantaciones, para evitar estas pérdidas los productores emplean intensivamente plaguicidas, sobre todo químicos, que perjudican el ambiente y elevan los costos de producción.

Es por ello que mediante la técnica de cultivos *in vitro* se obtiene plántulas inocuas en su etapa inicial del cultivo, ya que los productores de papaya desean tener mejores resultados en sus siembras, cosechas y calidad del producto. Esta técnica tiene gran potencial comercial debido a la velocidad de multiplicación, las plántulas obtenidas son de alta calidad y presentan buena vigorosidad. Además, el alto volumen de plantas producidas en

un periodo reducido y sin patógenos, hacen que esta técnica represente una alternativa muy atractiva para la producción masiva de plantas para la siembra de nuevas parcelas (Amhed, 2001).

Razón por la cual el interés del presente trabajo de investigación que busca suplir la necesidad de rescate y conservación de ésta especie, mediante las técnicas de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales ya que es una estrategia que garantiza la perdurabilidad de los Recursos Fitogenéticos para el futuro de la humanidad y del ambiente, entendiendo y conociendo más sobre la papaya su siembra y cuidado.

La presente investigación se desarrolló dentro del proyecto de **“Desarrollo y Fortalecimiento del Laboratorio de Micropropagación Vegetal,”** constituye la continuación del trabajo investigativo realizado por Sánchez Ullaguari (2016), de la Carrera de Ingeniería Agronómica, de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, de la Universidad Nacional de Loja, quien obtuvo vitroplantas a partir de la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L, las mismas que se utilizaron en la presente investigación, para la fase de multiplicación y enraizamiento de la especie.

#### **Objetivo General:**

- Contribuir a la generación de información sobre los procesos biotecnológicos, que permitan la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de (*Carica papaya* L.), a partir de vitroplantas, la interacción de diferentes concentraciones para la inducción de brotes axilares y raíces adventicias.

#### **Objetivos Específicos:**

- Probar el balance hormonal auxinas - citoquininas para la inducción de brotes axilares de (*Carica papaya* L.) a partir de vitroplantas.
- Ensayar diferentes concentraciones del balance hormonal de auxinas - citoquininas para la inducción de raíces adventicias en brotes de (*Carica papaya* L.) obtenidas a partir de vitroplantas.
- Difundir los resultados de la investigación a los actores sociales interesados, docentes y estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades del cultivo *Carica papaya* L.

#### 2.1.1. Origen

La primera mención escrita que se tiene de la papaya es en la “Historia General y Natural de Las Indias” de Oviedo, quien alrededor del año 1493, en una carta decía haber visto a esta planta creciendo en el Sur de México y Centro América. Actualmente se cultiva en Florida, Hawái, África Oriental Británica, Sudáfrica, Ceilán, India, Islas Canarias, Archipiélago Malayo y Australia (García, 2010).

En los primeros tiempos de la conquista se distribuyó rápidamente por las Antillas y Sudamérica. A finales del siglo XIV y a principios del siglo XV se difundió a las Filipinas, Malasia, Sur de China y Hawái por navegantes portugueses. En los últimos años el 50 % la producción mundial se concentra en Brasil, México y la India (García, 2010).

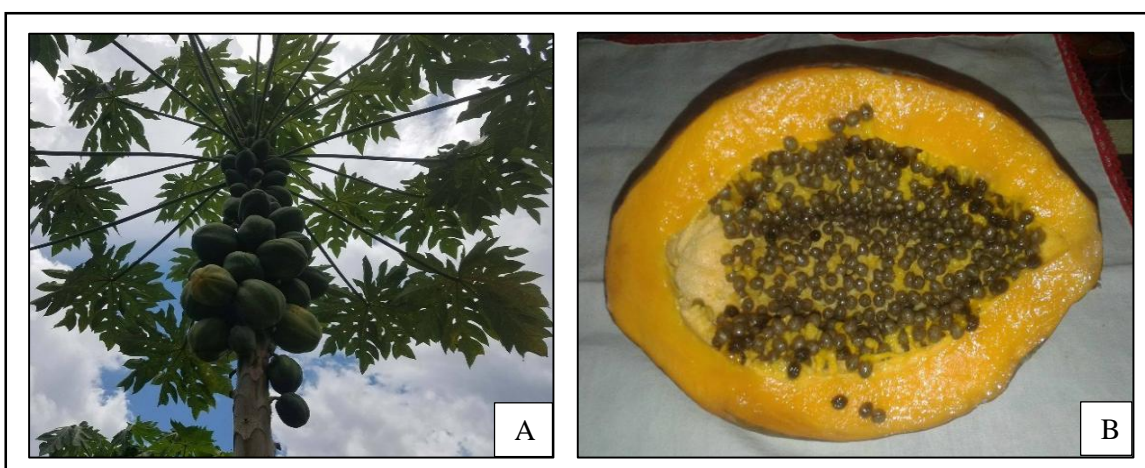


Figura 1. A) Árbol de *Carica papaya* L. B) Fruto y semillas de *Carica papaya* L. Arias 2017.

#### 2.1.2. Zonas e importancia del cultivo de *Carica papaya* L.

Las bondades del cultivo de papaya son múltiples, pues con la tecnificación adecuada alcanza altos niveles de productividad y rentabilidad, lo cual aunado a una creciente demanda en el mercado nacional y de exportación, constituye uno de los subsectores frutícolas de importancia en el Ecuador, esta caricácea se utiliza en la dieta diaria en forma directa o elaborada en mermeladas, compotas, etc. A nivel industrial se utiliza la celulosa, la hemicelulosa y enzimas proteolíticas que se extraen del látex de las frutas tiernas de la



papaya. La papaína es aprovechada como materia prima en la industria jabonera, panificadora, farmacéutica y alimentación para animales domésticos en general (PrefecturaLoja, 2011).

En el Ecuador se cultiva esta fruta tanto en zonas tropicales como subtropicales, siendo la provincia de Loja una zona productora del cultivo de papaya y que se da en los cantones de Catamayo, Espíndola, Catacocha, Macará, Sozoranga y Puyango (PrefecturaLoja, 2011).

### **2.1.3. Descripción morfológica de la planta de papayo**

El papayo es una gran planta herbácea, de rápido crecimiento, con tallo recto, erecto y cilíndrico que puede alcanzar en la madurez una altura de 9 m; el tallo es coronado por su grupo denso de hojas grandes, palmatilobadas. Generalmente es un tallo único, aunque puede ramificar cuando se elimina el punto apical o cuando las plantas llegan a la vejez. El tronco está compuesto de un tejido más carnoso que leñoso, una de las manifestaciones son las cicatrices que van dejando los peciolos al desprenderse. Los peciolos de las hojas maduras se extienden horizontalmente desde el tallo principal hasta alcanzar una longitud aproximada entre 45 y 75 cm, dependiendo del cultivar (Nakasone & Paull., 1998).

Después del trasplante el crecimiento aéreo del papayo es lento, con una tasa de crecimiento de 10 mm por día, aumentando gradualmente hasta llegar a 25 mm/día a los 75 días del trasplante. En esa misma etapa el tallo crece en su circunferencia en una tasa de 2 mm/día. En contraste, el crecimiento de raíces es muy rápido en los primeros 25 días después del trasplante, con una tasa de 20 mm/día, reduciendo su tasa de crecimiento en forma gradual hasta llegar a los 10 mm/día a los 75 días del trasplante y declinar dramáticamente en el inicio de la floración (Nakasone & Paull., 1998).

Otros aspectos de interés relacionados con el tallo y raíz son: **a).** A mayor diámetro del tallo, la floración y el rendimiento aumentan y **b).** La mayor cantidad de raíces se encuentran en los primeros 20 cm de profundidad, extendiéndose en un radio de hasta 1,80 m; las raíces más finas están a un distancia de entre los 80 y 90 cm del tallo, que es la parte exterior inmediata de la zona de goteo (Mirafuentes, 1997).

Las hojas del papayo pueden llegar a tener un área foliar de 1, 625 cm<sup>2</sup> por hoja, con 15 hojas maduras por planta, renovándose en forma constante al caer las hojas viejas y

aparecer las nuevas en un rango de 2 a 3 por semana, dependiendo del ambiente y del manejo del huerto (Nakasone & Paull., 1998).

En cuanto a flores, estas nacen en inflorescencias cimosas, las cuales aparecen en las axilas de las hojas. El tipo de inflorescencia depende del tipo de árbol, masculino, femenino o hermafrodita, aunque el género de las flores puede ser alterado, dependiendo de las genotipo-medio ambiente. Estas interacciones pueden generar muchas modificaciones de formas florales; sin embargo para efectos prácticos, se ha agrupado de seis categorías de flores que se citan a continuación (De los Santos, 1997; Díaz, 2002)

La flor femenina es grande que al abrir sus cinco pétalos lo hacen hasta la base. El ovario, que se convertirá en fruto es grande, los frutos tienen valor comercial en el mercado nacional. La flor hermafrodita pentandria es una modificación del tipo femenina, presenta cinco pétalos con cinco estambres cortos, el ovario tiene cinco surcos profundos longitudinales que deforman al fruto, por lo que tiene poco valor comercial. La flor hermafrodita intermedia parece ser una transición hermafrodita entre pentandria y elongata, presentan cinco pétalos, el número de estambres varía entre dos y diez. El fruto es de forma ovoide, pero deforme por la presencia de surcos irregulares que resultan del desarrollo de estambres carpeloides adheridos al ovario. Esta fruta no tiene valor comercial.

La flor hermafrodita elongata casi siempre se presenta en pequeños racimos de dos o tres flores, presenta cinco pétalos unidos entre sí, con diez estambres, cinco largos y cinco cortos. El ovario es alargado, por lo que forma frutos cilíndricos o piriformes, son los frutos más comerciales en México y Estados Unidos de América. Flor hermafrodita estéril o “cornetilla” a simple vista es parecida a la hermafrodita elongata, pero no desarrolla ovario, por lo cual es estéril. Funciona como flor masculina. La flor masculina típica se presenta en inflorescencias agrupadas en panículas de pedúnculos largos y colgantes, las flores de este tipo tienen el tubo de la corola largo y delgado; presentan diez estambres en dos series de cinco, en una de ellas son más largos que la otra y tiene un pistilo rudimentario, no funcional.

Respecto a la morfología de los frutos de papaya, se componen normalmente por cinco carpelos, unidos a una cavidad central (placenta) que contiene las semillas. El peso de cada fruta oscila entre 255 g a 6,8 Kg, con un grosor de pulpa entre 1,5 a 4 cm. El crecimiento del fruto consta de dos grandes fases: **a)** la postantésis, que dura alrededor de 80 días, que se caracteriza por un gran incremento de peso seco, justo antes del inicio de la etapa de

madures y **b**) la fase de maduración fisiológica, en la cual se presenta un cambio gradual de color de la pulpa, de blanca a rosada, amarilla o salmón, dependiendo del cultivar. En esta fase la acumulación de almidones declina de 0,4 a 0,1 % y a partir de los 110 días de la anthesis se incrementa de forma gradual el contenido de sólidos solubles totales de la pulpa. El proceso de crecimiento total de los frutos puede tardar entre 150 y 164 días (Nakasone & Paull., 1998).

#### **2.1.4. Propagación de la papaya**

La propagación de plantas consiste en efectuar su multiplicación por métodos tanto sexuales como asexuales. La forma más económica y fácil de propagar la papaya es por semillas. Se obtendrán diferentes resultados, según se empleen semillas procedentes de árboles femeninos fecundados con papayas masculinas o semillas procedentes de árboles femeninos y hermafroditas (Ronse & Smets, 1999).

Otra vía de propagación es mediante esquejes obtenidos de las ramificaciones del árbol de forma artificial ya que la papaya no se ramifica hasta cuando tienen tres o cuatro años. Los árboles viejos sufrirán la operación de desmoche o eliminación de la cabeza o cogollo del árbol, lo cual provocará así la producción de ramas o cogollos laterales (Agronegocios, 2005).

##### **2.1.4.1. Propagación por semillas y esquejes**

La forma típica para su propagación, por su eficiencia, ha sido la reproducción sexual (semillas). La propagación vegetativa por medio de estacas o injertos no brinda los efectos deseados, las primeras son de lento desarrollo y las segundas degeneran y no mantienen las características deseadas.

Para obtener semillas de calidad los frutos deben provenir del cruzamiento entre plantas hermafroditas, de esta manera se puede lograr un 66% de plantas hermafroditas y 33% de plantas femeninas, con esta selección existe la certeza de no aparición de plantas masculinas no productivas (Otero, 2003).

El poder germinativo de las semillas de papaya suele ser corto, por lo que la siembra debe efectuarse lo más cerca posible a la época de recolección. Esta puede ser directa sobre el terreno o previa en semillero. Para la siembra en semillero puede emplearse macetas de turba y plástico negro de 10 cm de diámetro y 15 cm de profundidad. Un aspecto importante

es que la tierra del semillero deberá mantenerse húmeda y cuando las plantitas tengan unos 10-15 cm de altura (unos dos meses después de la siembra) pueden ser trasplantadas al terreno de cultivo (Agronegocios, 2005).

Para el uso de esquejes como material vegetal de propagación deben tomarse brotes de 25-30 cm que se cortan y luego se cauterizan con agua caliente a unos 50 °C. Estos esquejes se plantan en macetas que se colocan en lugares protegidos de los rayos solares y con humedad hasta la emisión de raíces. Este método de propagación es muy laborioso y costoso ya que implica el mantenimiento de plantaciones de más de tres años para la obtención de plantas madre (Sierra., 2003).

En la producción de plantas en vivero o cultivo protegido es importante considerar varios factores como la calidad de la semilla, el sustrato, el contenedor, luz, humedad, temperatura y manejo principalmente (aplicación de fungicidas, fertilizante foliar, insecticidas, riegos, etc.). En el cultivo de la papaya la mayoría de los productores utilizan como sustrato tierra de aluvión (limo - arenosa). Pueden utilizarlo para el llenado de las bolsas sólo o mezclados con material orgánico y tierra "pesada" (arcillosa). Las mezclas proporcionalmente tienen relación 1:1:1, esto es: 33% de arena, 33% de materia orgánica (estiércol vacuno, hojarasca, etc.). Ésta debe estar bien descompuesta, seca, cernida y desinfectada) y 33% de suelo franco (Otero, 2003).

Debido a que el sustrato que se utilice para la siembra será el medio de desarrollo del sistema radical y por consiguiente del suministro de los nutrientes y el agua para el óptimo desarrollo de la futura planta, es necesario la desinfección del mismo cuando utilicemos suelo como tal, ya sea sólo o mezclado con materia orgánica (estiércol vacuno, gallinaza, hojarasca, bagazo, etc.). Es común que el suelo sea el hábitat de muchos seres vivos y algunos de éstos son dañinos para el cultivo de la papaya como son: hongos, plagas (particularmente nematodos) y semillas de malezas. El agroquímico más usado para la desinfección del suelo o sustrato es el bromuro de metilo (gas) usando 1 libra / m<sup>3</sup> de suelo, el sustrato se debe tapar con un plástico para asegurar su desinfección y que el gas se distribuya uniformemente. Su aplicación debe hacerse con cuidado ya que es muy tóxico. Se aplica con un dosificador. El sustrato se deja tapado de 48 - 72 horas. Se destapa y se ventila durante 24 horas (Otero, 2003).

## **2.2. Cultivo *in vitro***

Los orígenes del cultivo *in vitro* se remontan a 1902 con los intentos realizados por Haberlandt al cultivar células aisladas de plantas, quien postuló el principio de la totipotencia celular, que es la base teórica sobre la que se sustentan todas las técnicas del cultivo *in vitro* (Brar & Khush, 1994).

El cultivo de tejidos se puede definir como un conjunto de técnicas que permiten cultivar en condiciones asépticas órganos, tejidos, células y protoplastos empleando medios nutritivos artificiales (Jiménez., 1998). Es una técnica que nos brinda grandes aportes prácticos. Sus aplicaciones van desde los estudios teóricos de fisiología y bioquímica vegetal (Lai & Yeh, 2000); (Nash & Davies, 1972) hasta la obtención de plantas libres de patógenos, la propagación masiva (Kitto, 1997), el mejoramiento genético mediante la inducción de mutaciones y la selección *in vitro* (Pérez & Jiménez, 1998).

Para la manifestación de la totipotencia celular en los cultivos vegetales *in vitro* existen dos vías, la organogénesis y la embriogénesis, la regeneración de plantas por una y otra vía depende de las características genéticas de los cultivos y del manejo del cultivo *in vitro*, que tiene en cuenta la manipulación, los medios de cultivo y otras condiciones ambientales (Gómez, 2009).

Se han desarrollado diferentes métodos de propagación a partir del cultivo de tejidos tanto por organogénesis (Hossain, 1993) como por embriogénesis somática (Posada, 1995); (Del Sol, 2001), sin embargo por ser los métodos biotecnológicos hasta el presente más costosos respecto a la vía por semilla botánica su empleo está limitado solamente para genotipos híbridos que lo justifiquen (Elder & Macleod, 2000).

## **2.3. Micropropagación *in vitro***

Es la técnica que permite el desarrollo masivo de nuevas plantas en medios artificiales, bajo condiciones asépticas, a partir de porciones muy pequeñas de plantas (embriones, segmentos, tallos, granos de polen, etc.). Por otra parte, es el resultado de la proliferación de brotes, que son múltiples en condiciones asépticas y elementos químicos para su desarrollo ideal (Hartman, 1990). Las bases de la micropropagación *in vitro* fueron sentadas por (Murashige., 1976), en tanto que en varias revisiones de literatura se han publicado numerosos protocolos al respecto, en diferentes especies cultivadas y silvestres (Tomes, 1982; Villalobos, 1991).

### **2.3.1. Establecimiento del cultivo de tejidos *in vitro***

Los cultivos *in vitro* pueden iniciarse prácticamente a partir de cualquier parte de la planta. Sin embargo, la fuente inicial de material vegetal es determinante para el éxito en el establecimiento de los mismos y se aconseja utilizar plantas sanas y vigorosas (Jiménez, 1998).

Las condiciones de cultivo no solo se adecúan para que las células crezcan y se dividan rápidamente sino también para que la mayor parte de ellas expresen su capacidad de rediferenciación y biosíntesis para una o varias sustancias de interés (Endress, 1994). En varios de los estudios sobre cultivo de células y tejidos vegetales esto se ha tratado de resolver variando los componentes de los medios de cultivo y las condiciones físicas y fisicoquímicas de los procesos, aprovechando las ventajas que ofrece la rápida respuesta de las células *in vitro* ante pequeños cambios en su medio ambiente con respecto a las plantas crecidas por métodos tradicionales (Pérez., 2005).

### **2.3.2. Estrategias de la micropropagación**

Existen muchos métodos para realizar la micropropagación. Estos son: **a).** El cultivo de meristemas, ápices caulinares y yemas axilares, **b).** La organogénesis directa, **c).** La organogénesis indirecta, **d).** La embriogénesis somática, **e).** Los órganos de perennidad, **f).** El microinjerto y **g).** El cultivo de embriones, semillas y esporas. Todos estos métodos presentan ventajas y problemas desde el punto de vista de su multiplicación y fidelidad genética del material propagado (Krikorian, 1991).

### **2.3.3. El cultivo de meristemas, ápices caulinares y yemas axilares**

Como ya se ha indicado, a partir de la década del 60, con la masiva multiplicación de orquídeas mediante ápices caulinares que originaron protocormos (Morel, 1960; Arditti, 1977), se inició la era comercial del cultivo de tejidos. Desde entonces, no solo ápices caulinares, sino también meristemas, yemas axilares y nudos con yemas, han sido utilizados en este propósito. El principio estriba en hacer crecer una planta a partir del explante inicial o quebrar la dominancia apical mediante la aplicación de citoquininas, estimulando la formación de brotes laterales. Estos brotes laterales, estimulados a crecer, repetirán de nuevo el proceso, o serán aislados para iniciar el enraizamiento. De esta manera es posible multiplicar centenares de individuos a partir de un explante inicial.

La mayor ventaja de este método radica en que los explantes utilizados se encuentran determinados para el crecimiento vegetativo, los que una vez satisfechas sus necesidades nutricionales, se desenvolverán naturalmente en plantas íntegras. La alta estabilidad citogenética de estos explantes (D'Amato, 1977), minimiza la posibilidad de variación genética; sin embargo es recomendable establecer un número máximo de plantas que puedan obtenerse de un explante inicial, para evitar una disminución drástica en su vigor fisiológico o la inducción de modificación cromosómicas.

Los meristemas florales de aquellas especies donde es fácil su reversión para el estado vegetativo, sin pasar por la fase de callo, también pueden ser estimados como buenos explantes en este sistema de micropropagación. Ejemplos notables de ello tenemos en plátano y banano (Cronauer & Krikorian, 1985), y coliflor (Torres & Vecchia, 1978).

#### **2.3.4. La organogénesis directa**

Con este método ocurre la formación de yemas adventicias directamente de una parte de la planta sin pasar por la fase de callo. Por cierto que los explantes utilizados contienen rudimentos de yemas que poseen un potencial muy grande de originar meristemas adventicios. El ejemplo más notable con este tipo de propagación ocurre con la violeta africana (*Saintpaulia sp.*) donde es posible propagara millares de individuos a partir de fragmentos de peciolos y discos foliares. Los segmentos de raíces también han sido utilizados para inducir yemas adventicias, tal como se ha reportado en *Brassica* (Lazzeri & Dunwell, 1984) y camote (Delgado, 1995). Se considera que con este método la micropropagación la estabilidad genética es por lo general bastante alta, posiblemente debido a que las yemas adventicias se originan de una o dos capas de células o en algunos casos a partir de una sola célula epidérmica, como ocurre con el tulipán (Wright & Alderson, 1980); sin embargo, Delgado, (1995) reportó la ocurrencia de variación somaclonal, *in vitro* y *ex vitro*, en las plantas de camote regeneradas de raíces.

#### **2.3.5. La organogénesis indirecta**

Este método permite la formación independiente de yemas adventicias y raíces de una parte de la planta, pero de manera indirecta, es decir, pasando previamente por la fase de callo. Las yemas adventicias formadas son después aisladas e inducidas a enraizar.

El descubrimiento clave de (Skoog & Miller, 1957), de que una de las citoquininas, en interacción con las auxinas modulan la diferenciación de órganos en los callos dio pie para

que en muchas especies se regenerasen plantas por este método; sin embargo, se descubrió también la ocurrencia de especies incapaces de inducir callos y en otras cuando los callos fueron inducidos, nunca generaron órganos. Sin duda que para el primer caso, pareciera que la sola inclusión de cualquier hormona vegetal al medio de cultivo no resulta suficiente para promover la división celular y en el segundo caso, las citoquininas no serían estrictamente morfogénicas, es decir, no estarían promoviendo el proceso de inducción sino de expresión en células ya competentes y determinadas para seguir la ruta organogénica.

Este método no resulta el más recomendable para la micropropagación debido que al pasar por la fase de callo es casi seguro que las plantas regeneradas exhiban variación genética e inestabilidad, proceso conocido como “variación somaclonal.”

### **2.3.6. Factores que intervienen en la micropropagación**

El éxito de establecer cultivos viables, está determinado por la edad de la planta donante, la edad fisiológica, el estado de desarrollo y el tamaño del explante. El cultivo se incuba bajo condiciones ambientales de luz, temperatura y humedad controladas, que junto con las fisicoquímicas y nutricionales conducen el desarrollo del explante hacia la formación de una masa celular amorfa denominada callo, o hacia la diferenciación en un tejido organizado que producirá órganos o embriones (Pérez., 2005).

Los ápices o callos obtenidos mediante este procedimiento pueden subcultivarse para su mantenimiento y propagación o inducir su diferenciación para formar órganos (organogénesis), embriones (embriogénesis) o pasarse a un medio de cultivo líquido para obtener células y pequeños agregados en suspensión. Los cultivos se mantienen bajo las mismas condiciones físicas y fisicoquímicas usadas para la inducción de callos. Los cultivos de órganos se puede rediferenciar hasta plantas completas (micropropagación) que luego se transfieren a invernadero (Pérez., 2005).

#### **2.3.6.1. Factores externos**

**a. Planta donante.-** La selección de la planta donante es fundamental en la reproducción clonal; la planta “plus” o “élite” debe ser rigurosamente seleccionada, pues es determinante en el éxito del cultivo de células. Con un material cuidadosamente seleccionado cada especie conserva su homogeneidad y permite mantener el paso de las generaciones (Ortega, 1992).



**b. Edad de la planta donante.-** Los tejidos embrionarios generalmente tienen una alta capacidad regenerativa, conforme una planta envejece su capacidad regenerativa tiende a disminuir, por lo que se tiende a utilizar material procedente de plantas jóvenes. Los vástagos se regeneran más fácilmente cuando se toman de la parte basal de un árbol, debido a que esta zona posee el carácter juvenil, (Pierik, 1990).

**c. Estado fisiológico.-** Este tiene un fuerte efecto sobre la división celular y la regeneración *in vitro*. En general los fragmentos de plantas de estado vegetativo regeneran *in vitro* con más facilidad que los fragmentos de plantas en estado generativo, aunque se puede encontrar algunas excepciones (Ortega, 1992).

**d. Estado sanitario.-** Existe más probabilidad de éxito en un cultivo *in vitro*, si la planta tiene un buen estado de salud en el momento del aislamiento. Si se debe elegir entre individuos de un mismo clon, se deben escoger los más sanos como material experimental, ya que esto repercute sobre el porcentaje de infección después del aislamiento (Ortega, 1992).

#### **2.3.6.2. Factores ambientales de incubación**

**a. Temperatura.-** La temperatura se mantiene constante de 24 a 26°C, dependiendo de la especie experimental, se elige una temperatura más baja 18 °C para especies bulbosas, o una temperatura más alta de 28-29 °C para especies tropicales (Valero, 2009).

**b. Humedad.-** Se sabe que la humedad dentro de los cultivos es alta por la condensación de las paredes de los tubos de ensayo; la humedad del aire del área de incubación solo influirá en la pérdida de agua de los tubos. En cambio, señalan que la humedad dentro del área de incubación puede ser de 70 - 80% (Valero, 2009).

**c. Luz.-** Se considera la duración del día, irradiación y composición espectral; la duración del día se establece entre 14 y 16 horas, aunque también se usa luz continua; para la composición espectral de la luz, se utilizan tubos fluorescentes del tipo blanco frío (Valero, 2009).

**d. Oxígeno.-** Para el buen crecimiento de células y tejidos, la buena aireación es un factor importante, por esta razón es frecuente el uso de aparatos y agitadores. El suministro de oxígeno no se puede facilitar suministrando tapones metálicos, realizando inoculaciones apolares, utilizando medios líquidos, o, inocular sobre puentes de papel, bajo estas condiciones el explante obtiene el oxígeno de las moléculas que se encuentran en el agua del medio de cultivo (Díaz., 2012).

**e. Medio de cultivo.-** Con el medio de cultivo se logra abastecer de nutrimentos al tejido, células u órganos que se desarrollan en él; esta alimentación exógena que requiere el explante es necesaria por el hecho de que las células son heterótrofas. Un medio de cultivo básicamente está compuesto por carbono, nutrimentos minerales y vitaminas; sin embargo, en la mayoría de los casos los tres tipos de sustancias que anotamos antes, no son suficientes para el buen desarrollo del cultivo, por lo que se hace necesario, completar los medios con regulaciones de crecimiento (auxinas y citoquininas) y otros compuestos como aminoácidos, precursores de aminoácidos, antioxidantes, carbón activado, etc. (Roca & Mronginski., 1991).

### **2.3.6.3. Reguladores de crecimiento**

**a. Auxinas.-** Las auxinas producen elongación celular, expansión de los tejidos, división celular (formación de callos), formación de raíces adventicias e inhibición de la formación de vástagos adventicios y axilares. Tienen dos orígenes, auxinas naturales AIA y auxinas sintéticas como ácido indolbutírico (AIB), ácido naftalenacético (ANA) y ácido diclorofenoxiacético (2,4-D) (Pierik, 1990).

**b. Citoquininas.-** Se utilizan frecuentemente para estimular el crecimiento y desarrollo, inducen la formación de vástagos adventicios; sin embargo, inhibe la formación de raíces, promueven la formación de vástagos axilares, además, promueve procesos de morfogénesis, la expansión foliar, y el desarrollo de los cloroplastos, mejorando el desarrollo vegetativo (Davies, 2008) Este tiene dos orígenes, uno natural como la Zeatina (ZEA) y otros sintéticos como Benzilaminopurina (BAP) y Kinetina (KIN).

**c. Giberelinas.-** Existen varios tipos de giberelinas, siendo las más comunes las AG<sub>1</sub>, AG<sub>3</sub> AG<sub>4</sub> AG<sub>7</sub> y AG<sub>9</sub>. En la planta cumplen variadas funciones, como por ejemplo biorregulador esencial en la organización de tejidos, reprimiendo los procesos de formación de callos y la iniciación de órganos en algunos casos, Murashige & Skoog, (1962). Otras funciones destacables de las giberelinas señaladas por (Margara, 1998), son el incremento en el crecimiento de tallos, la inducción de la brotación de yemas, interrumpen el periodo de latencia de las semillas y promueven el desarrollo de los frutos.

**d. Vitaminas.-** (Pierik, 1990) Menciona que la mayor parte de las plantas son capaces de sintetizar *in vitro* sus propias vitaminas, por lo que surge la duda de adicionar a los medios de cultivo mezclas de vitaminas. (Roca & Mronginski., 1991), señalan que probablemente solo se necesitan la inoculación de tiamina (vitamina B1).

**e. Agente gelificante.-** El agente gelificante el más utilizado es el agar, un derivado de alga marina, polisacárido, con elevada masa molecular, no contiene materiales tóxicos y resulta ser el componente más caro de los medios nutritivos sólidos. El agar disuelto forma un gel capaz de retener el agua y absorbe compuestos, la concentración usual del agar es de 0,6 a 0,8% (Pierik, 1990).

**f. Sulfato de adenina.-** Base nitrogenada de purina componente de los ácidos nucleicos y de ciertas coenzimas: la adenina es la base componente de los ácidos ribonucleicos y desoxirribonucleicos (EcuRed, 2017). Las citoquininas son derivados de la adenina que promueven la división celular entre ellas cabe mencionar las siguientes: BA (bencil adenina), K (cinetina o 6-furfuril aminopurina), Zea (zeatina) y 2-iP (N-isopentenil adenina). Las dos primeras son citoquininas sintéticas y las dos últimas naturales. Además de las citoquininas derivadas de adenina, se han detectado una serie de fenilureas sustituidas que tienen similar actividad y son utilizados como citoquininas en algunos protocolos de cultivo de tejidos vegetales (Krikorian, 1991).

#### **2.4. Multiplicación de brotes *in vitro***

Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron de la fase 1 (germinación de semillas) originen brotes de procedencia axilar o adventicia con varios entrenudos. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar. Los tubos son llevados al cuarto de incubación en condiciones ambientales controladas del cuarto de incubación, donde se obtiene yemas axilares, yemas apicales en promedio/micronudo (Pierik, 1990).

Según Alarcón & García, (2006) Una vez que el explante se adapte a las condiciones del laboratorio sin presentar ningún tipo de contaminación, el objetivo de esta etapa es mantener y aumentar la cantidad de brotes para los nuevos ciclos de multiplicación sucesivos y poder destinar parte de ellos a la siguiente etapa de producción (enraizamiento). Es importante señalar que en esta etapa, cualquiera que sea la vía de regeneración empleada, es conveniente evitar la formación de callos para disminuir el riesgo de variación somaclonal. En esta etapa los medios de cultivo, los reguladores de crecimiento como auxinas, citoquininas y ácido giberélico y las condiciones de crecimiento juegan un papel crítico sobre la multiplicación clonal de los explantes.

## **2.5. Enraizamiento *in vitro***

La edad de la planta madre influye en la capacidad de enraizamiento y se recomienda la aplicación de hormonas para la propagación de plantas (Rodríguez, 2012). El proceso de enraizamiento en los brotes propagados *in vitro* requiere generalmente del trasplante a un medio de cultivo con menor concentración de sales. En el medio de Murashige-Skoog (MS), por ejemplo, diluido al 50 % ha dado resultados positivos en diferentes especies. De igual manera, se requiere cambiar el balance hormonal, lo cual consiste en disminuir las citoquininas y aumentar las auxinas exógenas. En algunas especies, la eliminación de las citoquininas exógenas ha sido suficiente estímulo para la diferenciación del sistema radical (Villalobos, 1991).

Durante esta etapa se busca la formación de raíces adventicias, con el fin de convertir los brotes o embriones somáticos en plántulas completas. El tipo de enraizamiento depende de cada especie y la facilidad con la que esta etapa se logre, por ejemplo para las especies herbáceas es mucho más fácil formar raíces que las especies leñosas. Es importante tomar en cuenta que para cada especie es necesario formular un método de enraizamiento ya que no todas actúan de igual forma con los diferentes reguladores de crecimiento existentes (Villalobos, 1991).

Según Rojas & García, (2004) en esta etapa de enraizamiento se da cuando se tiene los subcultivos necesarios para garantizar una cantidad determinada de plántulas *in vitro* o vitroplantas. Los explantes ya propagados dejan de crecer y formar hojas por un período de tiempo según sea la especie y posteriormente son cambiados a un nuevo medio de cultivo en el cual cambiar el balance hormonal favorece a las auxinas, con el fin de inducir la formación y desarrollo de raíces. Generalmente las citoquininas se reducen o desaparecen en esta etapa, hay especies en que se les suspende todo tipo de hormonas y se da la formación de raíces. Al final de esta etapa deberá quedar formada completamente la vitroplanta.

## **2.6. Problemas de la micropropagación**

Tanto el establecimiento de cultivos *in vitro*, como su posterior propagación clonal, están afectados en la práctica por problemas que reducen drásticamente las posibilidades de éxito. Algunos de éstos son: pardeamiento de explantes y medio, y vitrificación, así como contaminación causada por hongos y bacterias (Seemann, 1993).

### **2.6.1. Pardeamiento (Oxidación fenólica)**

Tanto los explantes como el medio de cultivo de algunas especies, sobre todo leñosas, una vez puestas en cultivo *in vitro*, tienen la tendencia a manifestar un pardeamiento que, en forma extrema, lleve a la muerte de los explantes. Este pardeamiento se produce por acción de enzimas oxidasas y las tirosinasas, que se liberan al herirse los tejidos. La inhibición del crecimiento de los explantes, por otro lado, ocurre por la oxidación de los fenoles y la consecuente formación de compuestos quinónicos, altamente activos. Algunas de las medidas para prevenir el pardeamiento son:

- Lavado de explantes por 2 a 24 horas antes de la siembra.
- Absorción de fenoles con carbón activado (3-5 g/L) o polivinilpirrolidona (0,5-2% PVP) de alto peso molecular.
- Incorporación al medio de Glutación reducido (200 mg/L), Feniltiourea (15-20 mg/L) o L-cisteína (10-50 mg/L). Esto es para reducir el potencial redox del medio.
- Desinfectar el material vegetal en agua destilada estéril, en agua de coco o cultivando en medio líquido estacionario por unos días. Con ello se logra reducir la disponibilidad de oxígeno y por lo tanto, la oxidación de fenoles. Usar sustancias antioxidantes, como ácido cítrico (150 mg/L) o ácido ascórbico (100-150 mg/L) (Seemann, 1993).

### **2.6.2. Vitrificación**

Es un desorden fisiológico que se presenta en ciertas especies herbáceas y algunas leñosas, caracterizado por el desarrollo de tejidos traslúcidos, hiperhidratados y succulentos, producto de condiciones poco adecuadas del cultivo. El fenómeno se manifiesta principalmente en las hojas, afecta a los procesos de fotosíntesis e intercambio gaseoso. El problema puede ser disminuido en la práctica mediante las siguientes medidas de manejo:

- Incrementando la concentración de agar y/o sacarosa en el medio de cultivo o reemplazando parcial o totalmente el uso de Gelrite por agar.
- Regulando los niveles de citoquinina. Altas concentraciones de ésta a menudo incrementan el problema.
- Aumentando la intensidad lumínica (Seemann, 1993).

## 2.7. Estudios similares sobre la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de plantas

La micropropagación, es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo *in vitro*, a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas y las partes vegetales más utilizadas para el proceso de micropropagación son las yemas vegetativas y ápices caulinares. Básicamente consiste en el cultivo sobre un medio nutritivo artificial en condiciones asépticas, los tejidos vegetales en condiciones *in vitro*, crecen y se desarrollan si el medio de cultivo es suplementado con reguladores de crecimiento o vitaminas esto depende de acuerdo a la especie (Castillo, 2004).

Las técnicas biotecnológicas juegan un rol importante, para el suministro adecuados de vitroplantas como material de plantación. La germinación *in vitro* posibilita dicho proceso en condiciones asépticas y controladas en cualquier época del año, sin embargo para el establecimiento exitoso se hace necesario prevenir y controlar la contaminación microbiana y oxidación fenólica, ya que constituye uno de los problemas más graves en la micropropagación. Los contaminantes más frecuentes en condiciones *in vitro* son los hongos, las bacterias y las levaduras, denominados “vitropatógenos”. El termino vitropatógeno ha sido utilizado para aquellos organismos que no son necesariamente patógenos para las plantas en el campo, pero si son perjudiciales para las células, tejidos u órganos cultivados *in vitro* (Hernández, 2010).

Solis & Olivera, (2011), desarrollaron un protocolo de propagación *in vitro* de la variedad de papaya PTM-331 a partir de meristemas apicales, con la finalidad de obtener plántulas vigorosas y libres de enfermedades, empleando la técnica de cultivo de tejidos. No se observó contaminación y el mejor resultado en multiplicación se logró con el medio de Murashige & Skoog MS suplementado con 0,5 mg/l BAP, 0,5 mg/l AIA y 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>, con un coeficiente de multiplicación de 3,42 brotes promedio y una longitud de 15,41 mm; mientras que el mejor medio para el enraizamiento fue la combinación de M&S, 0,5 mg/l BAP, 3 mg/l IBA y 5 mg/l Adenina, donde se obtuvo el 83,33% de plantas enraizadas.

Por otro lado Medero & Pérez, (2012) estudiaron la combinación de reguladores de crecimiento en papaya (*Carica papaya* L.) var. “Maradol Roja” sobre la multiplicación y enraizamiento. Se estudió el efecto de diferentes concentraciones de las hormonas 0,22 mg/l BAP, 0,05 mg/l ANA y 0,5-1,0 mg/l AG<sub>3</sub>. Logrando obtener apareamiento de callos

y que el tamaño promedio de longitud de brotes no sobrepasaba los 2 cm y en el enraizamiento se obtuvo un bajo promedio de explantes enraizados con 15,32 %.

Según Guzmán & Manzo, (2003) realizaron estudios en plantas hermafroditas de (*Carica papaya* L.) var. Red Lady para la multiplicación de brotes y enraizamiento, para la multiplicación utilizaron sales minerales de Murashige & Skoog MS suplementado con 2,0 mg/l BAP, 0,2 mg/l ANA, des pues de las 6 semanas se obtiene la inducción de los primeros brotes, los cuales luego se cortan y se cultivan individualmente a medio nutritivo fresco y nuevamente se induce a la formación de brotes pero a las 4 semanas y así sucesivamente durante 5 subcultivos. De cada subcultivo se obtienen en promedio 5,0 brotes por explante, aproximadamente de 1 cm de longitud. En enraizamiento probaron 1,0 mg/l AIB, donde se obtiene al cabo de cuatro semanas la inducción de 4 raíces por explante de 1,3 cm de longitud, todo el ensayo presento un 60 % de enraizamiento.

(Rivero & López, 2016) realizaron diversas investigaciones en la generación de protocolos para obtener plántulas vigorosas y libres de enfermedades en (*Carica papaya* L.). Para su establecimiento *in vitro* utilizó entrenudos de papayo para obtener explantes, también se empleó el medio de Murashige & Skoog (MS) suplementado con diferentes concentraciones de ácido indolacético, 6-bencilaminopurina y ácido giberélico, además no se evidencio contaminación significativa entre tratamientos. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas, siendo el T5 el que evidencio mayor altura y número de hojas. Se concluye que el medio de Murashige & Skoog (MS) suplementado con (0,5 mg/l BAP, 0,5 mg/l AIA y 0,5 mg/l AG<sub>3</sub>), es óptimo para la propagación *in vitro* de (*Carica papaya* L.), evidenciándose resultados promedio de longitud de 4,03 mm y 4,0 de número de hojas promedio por explante a los 55 días de evaluación.

Según Saha & Phatak, (2004) investigaron 4 variedades de *Carica papaya* L. Co-5, Madhur, Pusa Dwarf y Washington. Estas variedades dioicas variaban en rasgos como tamaño del árbol, tamaño de la fruta, color y sabor, seleccionaron brotes axilares de las plantas machos y femeninas de todas las variedades; para la multiplicación se utilizó el medio de Murashige & Skoog MS suplementado con diferentes concentraciones individuales de AIA, ANA (0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 y 5,0 mg / l), BAP, KIN y AS (0,5, 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 y 5,0 mg / l) o AS en un intervalo más alto de (10, 20, 40, 60, 80 y 100 mg / l). Se obtuvieron diferencias significativas en los resultados de las variedades Co-5, Madhur, Pusa Enano y Washington, en el medio de elongación de los explantes con BAP

(5,0 mg / l), AS (10 mg / l) y NAA (2,0 mg / l) dio lugar a 1,93, 1,81, 1,38 y 2,15 respectivamente, además presentaron formación de callos y los explantes axilares inoculados en el medio de multiplicación es decir en el medio MS (6% de sacarosa) con BAP (5,0 mg / l), AS (10 mg / l) y ANA (2,0 mg / l) dieron lugar a 6,16, 5,90, 4,14 y 8,30 brotes de brotes respectivamente.

Por otro lado se han realizados estudios similares en otras especies, según Bazantes, (2016), realizó estudios en multiplicación de explantes de Babaco (*Vasconcellea x heilbornii*), realizaron varios tratamientos en la fase de desinfección, determinándose que el tratamiento más viable es el tratamiento T5 aplicación de NaClO (1,5 %) por 5 minutos. Además en la fase de multiplicación *in vitro* se probaron diferentes reguladores de crecimiento en varias concentraciones, determinándose que el tratamiento M1 (3 mg/l BAP, 0,5 mg/l AG<sub>3</sub> y 0,05 mg/l ANA), permitió obtener el mayor número de brotes. Mediante el tratamiento M1 de la fase de multiplicación se logró obtener 1,36 brotes por cada explante de babaco. Además presento resultados altos en contaminación, siendo el más bajo de 16,7 % de contaminación bacteriana y 3,7 % de contaminación fúngica.



### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Materiales**

##### **3.1.1. Material vegetativo**

- Ápices caulinares e yemas axilares de papaya cultivada *in vitro*.

##### **3.1.2. Equipo de laboratorio**

Dentro de los equipos utilizados en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal se trabajó con:

- Cámara de flujo laminar, balanza analítica, balanza granataria, peachímetro, autoclave, estufa, refrigeradora, mechero de bunsen y horno microondas.

##### **3.1.3. Instrumental mecánico de vidriería y otros**

- Stand de aluminio: pinza simple puntiaguda, pinza simple con punta plana, bisturí; vidriería: cajas petri, platos de aluminio, erlenmeyers, vasos de precipitación, pipetas, probetas, frascos compota tipo garra, papel filtro, papel aluminio, papel kraff, papel parafilm, algodón, guantes, gorros y zapatos quirúrgicos.

##### **3.1.4. Sustancias químicas**

- Hipoclorito de sodio, alcohol, detergente, sales de Murashige y Skoog (MS), sacarosa, tiamina, mio-inositol, ácido nicotínico, piridoxina, glicina; auxinas: Ácido Indol Acético (AIA), Citoquininas: Bencil Amino Purina (6-BAP), Ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) agar, agua destilada e hidróxido de sodio (NaOH).

#### **3.2. Metodología**

##### **3.2.1. Ubicación del área de estudio**

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal, de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, de la Universidad Nacional de Loja, lugar donde se establecieron las respectivas fases de laboratorio *in vitro*: multiplicación y enraizamiento de explantes de *Carica papaya* L. La Zonificación del laboratorio es: Z10.S02.MD.B2.Lab 101.

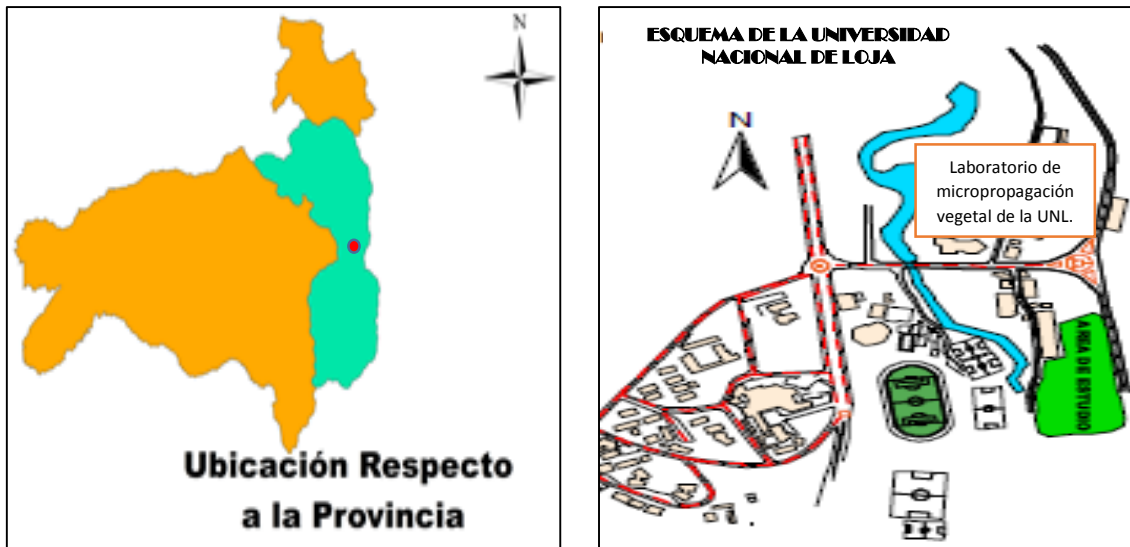


Figura 2. Mapa de ubicación del Laboratorio de Micropropagación Vegetal, de la Universidad Nacional de Loja.

### 3.2.2. Ubicación geográfica y política del Laboratorio de Micropropagación Vegetal.

El Laboratorio de Micropropagación Vegetal, de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, de la Universidad Nacional de Loja, está ubicado a 3 km al sur de la ciudad de Loja entre las siguientes coordenadas geográficas:

- Latitud: 04° 00' 00" S
- Longitud: 79° 12' 00" O

Según Holdridge (1983) ecológicamente corresponde a la zona de vida Bosque Seco Montano Bajo (bs- MB), con una temperatura media anual de 15,3 °C, precipitación de 900, mm/ anuales y una humedad relativa del 71,96 %. Altitud de 2 135 msnm y el clima según Kuppen es templado lluvioso (Sierra, 2012).

### 3.3. Metodología para probar el balance hormonal auxinas - citoquininas para la inducción de brotes axilares de (*Carica papaya* L.) a partir de vitroplantas.

Tomando como base los resultados del trabajo de investigación a nivel de pregrado de Sánchez Ullaguari (2016), se utilizó las vitroplantas en esta fase de multiplicación (ápices caulinares y segmentos nodales), provenientes de la germinación *in vitro* de semillas, de frutos con características sobresalientes de forma, tamaño, madurez fisiología y buenas condiciones fitosanitarias, colectados de árboles de papaya procedente de la parroquia El

Tambo, cantón Catamayo. El material vegetal que se utilizó en esta fase, fueron vitroplantas de 2 a 3 cm de alto y con 2 segmentos nodales conservados en el laboratorio.

La metodología para la fase de multiplicación de explantes de *Carica papaya* L., se tomó en base a la metodología utilizada por Solis & Olivera (2011), quien obtuvo mejores resultados de multiplicación de brotes *Carica papaya* L., con la aplicación de 0,5 mg/l AIA; 0,5 mg/l BAP y 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>, alcanzando un promedio de 3,42 brotes formados por explante. A partir de ello, en el presente trabajo de investigación se probó concentraciones similares a las utilizadas por Solis & Olivera (2011), en Perú.

El objetivo de esta fase fue evaluar el efecto de la combinación hormonal auxina/citoquinina: Ácido Indol Acético (AIA) y Bencil Amino Purina (BAP), AIA en tres concentraciones 0,0 mg/l, 0,5 mg/l y 0,5 mg/l y BAP en 0,5 mg/l, 0,0 mg/l y 0,5 mg/l. (Cuadro 1) con la finalidad de inducir la multiplicación de explantes de *Carica papaya* L.

Cuadro 1. Combinación hormonal auxina – citoquinina en la fase de multiplicación de explantes de *Carica papaya* L.

TRATAMIENTOS	AIA	BAP
T1	0,0 mg/l	0,5 mg/l
T2	0,5 mg/l	0,0 mg/l
T3	0,5 mg/l	0,5 mg/l

Adicionalmente, se agregó Ácido Giberélico (AG<sub>3</sub>) en una concentración de 0,3 mg/l, a todos los tratamientos, con la finalidad de inducir el crecimiento del tallo de los explantes de nudo a nudo.

### 3.3.1. Desinfección de los explantes

Los ápices caulinares y segmentos nodales provenientes de vitroplantas, no recibieron tratamiento de desinfección puesto que es material completamente aséptico.

### 3.3.2. Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo estuvo constituido por sales minerales de Murashige & Skoog (MS), suplementado con tiamina 5 mg/l, mio-inositol 100 mg/l, ácido nicotínico 5 mg/l, piridoxina 1 mg/l, glicina 2 mg/l, sacarosa como fuente de carbohidratos al 3.0 % y agar 0.6 %; AIA y BAP en diferentes concentraciones cada una (Figura 3). En este medio de

cultivo se ensayó tres tratamientos con tres repeticiones cada uno (Cuadro 2). El pH se ajustó a  $5.8 \pm 0.2$  con HCL o NaOH (Figura 4).

El medio de cultivo fue distribuido en frascos de vidrio, 25 ml aproximadamente y luego esterilizados en el autoclave a 120 °C de temperatura y 1.5 Kg/cm<sup>2</sup> de presión, durante 25 minutos, conjuntamente con todo el material de vidriería, disección y fungible, listos para la siembra *in vitro*.



Figura 3. Sales minerales del MS y Suplementos para la preparación de medio de cultivo para la multiplicación. Arias y Minchala. Loja- 2017.



Figura 4. Preparación del medio de cultivo MS suplementado con auxinas – citoquininas. Arias y Minchala. Loja- 2017.

### 3.3.3. Siembra *in vitro* de explantes y condiciones de incubación.

La inoculación *in vitro* de los explantes de *Carica papaya* L. se realizó en la cámara de flujo laminar en condiciones de total asepsia, se utilizó cajas petri, bisturí, pinzas, de las cuales fueron previamente esterilizadas se realizó el aislamiento de los explantes (ápices caulinares y segmentos nodales) de 2 a 3 cm y se procedió a inocularlos, colocando dos explantes por frasco (Figura 5).

Posteriormente, se identificó cada uno de los tratamientos y fueron trasladados al cuarto de incubación, donde se mantuvieron a una temperatura de  $\pm 23$  °C, la temperatura se reguló con ayuda de ventiladores y con un timer (temporizador de luz), se mantuvo el fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad (Figura 6).



Figura 5. Disección de segmentos nodales y ápices caulinares de *Carica papaya* L. en un medio para multiplicación. Arias y Minchala. Loja- 2017.



Figura 6. Identificación de tratamientos para multiplicación de *Carica papaya* L. en medio para multiplicación. Arias y Minchala. Loja- 2017.

### 3.3.4. Diseño experimental para la fase de multiplicación de explantes de *Carica papaya* L.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), en arreglo factorial de 2 x 3, con 3 tratamientos y 3 repeticiones. En el cuadro 2 se observa la definición de los tratamientos evaluados en la combinación de auxinas y citoquininas en la inducción a la multiplicación, a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Carica papaya* L.

Cuadro 2. Tratamientos usados para evaluar el efecto de la combinación auxina – citoquinina en la inducción a la multiplicación de explantes de *Carica papaya* L.

TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN	CÓDIGO
T1	0,0 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP	T1=A1B2
T2	0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l BAP	T2=A2B1
T3	0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP	T3=A2B2

#### 3.3.4.1. Especificaciones del diseño experimental.

Unidad experimental (conjunto de frascos)	5
Número de tratamientos	3
Número de repeticiones	3
Número total de unidades experimentales del ensayo	45
Número de explantes por unidad experimental	10
Número total de explantes del ensayo	90

### 3.3.4.2. Unidad experimental y evaluación

La unidad experimental fue el conjunto de cinco frascos de vidrio, por la cual se inocularon dos explantes por frasco. Las variables que se evaluaron fueron: contaminación, número de brotes por explante, longitud de brotes (mm), número de nudos por brotes y número de hojas por brote.

Para la evaluación de contaminación de los explantes de *Carica papaya* L., se tomaron registros cada tres días durante un lapso de 30 días a partir de la siembra (Cuadro 3).

Cuadro 3. Hoja de registro para evaluar la variable de contaminación en la multiplicación *in vitro* de explantes de *Carica papaya* L.

<b>Especie:</b>		<b>Fecha de siembra:</b>	
<b>Fecha de evaluación:</b>		<b>Tratamiento Nro:</b>	
Frasco	<b>Repetición 1</b>	<b>Repetición 2</b>	<b>Repetición 3</b>
	Explante contaminado	Explante contaminado	Explante contaminado

Para la evaluación de número de brotes por explante, longitud de los brotes (mm), número de nudos por brotes y número de hojas por brote de *Carica papaya* L. se tomaron registros cada cinco días y durante un lapso de 90 días, a partir de la siembra (Cuadro 4).

Cuadro 4. Hoja de registro para evaluar las variables en la fase de multiplicación de los explantes de *Carica papaya* L.

<b>Especie:</b>		<b>Fecha de siembra:</b>		
<b>Fecha de evaluación:</b>		<b>Tratamiento Nro:</b>		
Frasco	<b># Repetición:</b>			
	Longitud brote (mm)	Número de Brotes/explante	Número de Nudos/brotes	Número de Hojas/brotes

### 3.3.5. Hipótesis del modelo

**H0:** La aplicación de diferentes concentraciones hormonales de auxinas – citoquininas no influyen en la inducción de brotes axilares de *Carica papaya* L., entre tratamientos.

**Hi:** La aplicación de diferentes concentraciones hormonales de auxinas – citoquininas influye favorablemente en la inducción de brotes axilares de *Carica papaya* L., entre tratamientos.

### 3.3.6. Análisis estadístico de datos en la fase de multiplicación *in vitro* de *Carica papaya* L.

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos en las diferentes variables evaluadas en la fase de multiplicación *in vitro* de *Carica papaya* L. se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo et al, 2008) versión 2014, en el cual se realizó el análisis de varianza ANOVA estableciendo diferencias significativas con el test de Tukey a un nivel de significancia de 0,05. Se probaron supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad para cada una de las variables en las distintas fases. En el Cuadro 5 se presenta la matriz con las medidas resumen empleada por el análisis de información.

Cuadro 5. Matriz de medidas resumen para el análisis de la información de multiplicación *in vitro* de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo					
Tratamiento					
Repetición					
Error					
Total					
TEST: TUKEY ALFA=0,05					
Error	gl:				
Tratamiento	Medias	n		EE	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					
$\bar{x}$ : Media					

### 3.4. Metodología para ensayar diferentes concentraciones del balance hormonal de auxinas – citoquininas para la inducción de raíces adventicias en brotes de (*Carica papaya L.*) obtenidas a partir de vitroplantas.

Durante el proceso de establecimiento de los ensayos de enraizamiento *in vitro* de explantes (ápices caulinares y segmentos nodales) se realizó el mismo procedimiento descrito en la fase de multiplicación en cuanto a la selección e inoculación, puesto que se utilizó vitroplantas provenientes de la fase de multiplicación.

#### 3.4.1. Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo estuvo constituido por sales minerales de Murashige & Skoog (MS), suplementado con tiamina 1 mg/l, mio-inositol 100 mg/l, piridoxina 1 mg/l, sacarosa como fuente de carbohidratos al 3.0 % y agar 0.6 %; AIA, Sulfato de Adenina (AS) en diferentes concentraciones cada una (Figura 7). Adicionalmente, se agregó Ácido Giberélico ( $AG_3$ ) en una concentración de 0,3 mg/l, a todos los tratamientos, con la finalidad de inducir el crecimiento del tallo de los explantes de nudo a nudo. En este medio de cultivo se ensayó tres tratamientos con tres repeticiones cada uno (Cuadro 6). El pH se ajustó a  $5.8 \pm 0.2$  con HCL o NaOH (Figura 8).

El medio de cultivo se distribuyó en frascos de vidrio, 30 ml aproximadamente y luego esterilizados en el autoclave a 120 °C de temperatura y 1.5 Kg/cm<sup>2</sup> de presión, durante 25 minutos, conjuntamente con todo el material de vidriería, disección y fungible, listos para la siembra *in vitro*.



Figura 7. Sales minerales del MS y Suplementos para la preparación de medio de cultivo para enraizamiento. Arias y Minchala. Loja- 2017.



Figura 8. Preparación del medio de cultivo MS suplementado con AIA y AS. Arias y Minchala. Loja- 2017.



### 3.4.2. Siembra *in vitro* de vitroplantas y condiciones de incubación

La inoculación de vitroplantas de *Carica papaya* L. se efectuó en la cámara de flujo laminar en condiciones de total asepsia, se utilizó cajas petri, bisturí, pinzas, los cuales fueron previamente esterilizados, las vitroplantas fueron colocadas en las cajas petri y con la ayuda del bisturí se eliminó las partes necrosadas (Figura 9), luego fueron inoculados en los frascos con el respectivo medio de cultivo y tratamientos, inoculando dos vitroplantas por frasco (Figura 10).

Posteriormente, se identificó cada uno de los tratamientos y fueron trasladados al cuarto de incubación, donde se mantuvieron a una temperatura de  $\pm 23$  °C, la temperatura se reguló con ayuda de ventiladores y con un timer (temporizador de luz), se mantuvo el fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad (Figura 11).



Figura 9. Vitroplanta de *Carica papaya* L. lista para ser inoculada en un medio de enraizamiento. Arias y Minchala. Loja- 2017.

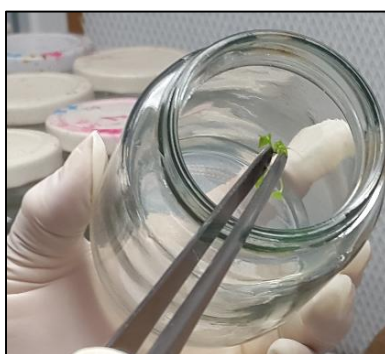


Figura 10. Siembra de vitroplantas de *Carica papaya* L. en medio MS para enraizamiento. Arias y Minchala. Loja- 2017.

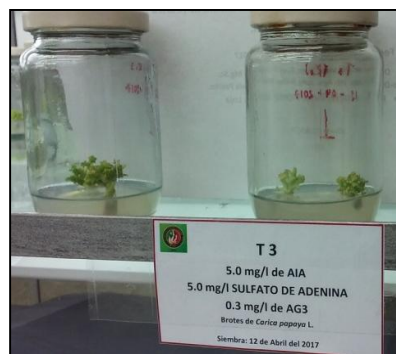


Figura 11. Ensayo montado para la fase de enraizamiento de *Carica papaya* L. Arias y Minchala. Loja- 2017.

### 3.4.3. Diseño experimental para la fase de enraizamiento de vitroplantas de *Carica papaya* L.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), en arreglo factorial de 2 x 3, con 3 tratamientos y 3 repeticiones.

En el cuadro 6 se observa los tratamientos evaluados en la fase de enraizamiento utilizando una auxina Ácido Indol Acético (AIA), una citoquinina Sulfato de Adenina (AS) para la inducción al enraizamiento, a partir de vitroplantas de *Carica papaya* L.

Cuadro 6. Tratamientos usados para evaluar el efecto hormonal auxinas – citoquininas en la formación de raíces adventicias en vitroplantas de *Carica papaya* L.

TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN	CÓDIGO
T1	0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS	T1=A2A1
T2	0,2 mg/l AIA + 0,5 mg/l AS	T2=A1A2
T3	0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l AS	T3=A2A2

### 3.4.3.1. Especificaciones del diseño experimental.

Unidad experimental (conjunto de frascos)	5
Número de tratamientos	3
Número de repeticiones	3
Número total de unidades experimentales del ensayo	45
Número de vitroplantas por unidad experimental	10
Número total de vitroplantas del ensayo	90

### 3.4.3.2. Unidad experimental y evaluación.

La unidad experimental fue el conjunto de cinco frascos de vidrio, por la cual se inocularon dos vitroplantas por frasco. Las variables que se evaluaron fueron: contaminación, número de brotes por vitroplanta, longitud de brotes (mm), número de raíces por vitroplanta y longitud de raíces (mm).

Para la evaluación de contaminación de las vitroplantas de *Carica papaya* L. se tomaron registros cada tres días durante un lapso de 30 días a partir de la siembra (Cuadro 7).

Cuadro 7. Hoja de registro para evaluar la variable de contaminación en la fase de enraizamiento en vitroplantas de *Carica papaya* L.

Especie:		Fecha de siembra:	
Fecha de evaluación:		Tratamiento Nro:	
Frasco	Repeticón 1	Repeticón 2	Repeticón 3
	Vitroplanta contaminada	Vitroplanta contaminada	Vitroplanta contaminada

Para la evaluación de número de brotes por vitroplanta, longitud de brotes (mm), número de raíces por vitroplanta y longitud de raíces (mm), se tomaron registros cada cinco días, durante un lapso de 90 días, a partir de la siembra (Cuadro 8).

Cuadro 8. Hoja de registro para evaluar las variables en la fase de enraizamiento de vitroplantas de *Carica papaya* L.

<b>Especie:</b>		<b>Fecha de siembra:</b>		
<b>Fecha de evaluación:</b>		<b>Tratamiento Nro.:</b>		
Frasco	<b># Repetición:</b>			
	Longitud brote (mm)	Número de Brotes/vitroplanta	Número de Raíces/vitroplanta	Longitud de Raíces

#### 3.4.4. Hipótesis modelo

**H0:** Ensayar diferentes concentraciones del balance hormonal auxinas – citoquininas no promueven la inducción de raíces adventicias en brotes de *Carica papaya* L., entre tratamientos.

**Hi:** Ensayar diferentes concentraciones del balance hormonal auxinas – citoquininas promueven favorablemente la inducción de raíces adventicias en brotes de *Carica papaya* L., entre tratamientos.

#### 3.4.5. Análisis estadístico de datos en la fase de enraizamiento *in vitro* de *Carica papaya* L.

Para el análisis estadístico de datos obtenidos en cada una de las variables para la fase de enraizamiento *in vitro* de *Carica papaya* L., se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo et al, 2008) versión 2014, en el cual se realizó el análisis de varianza ANOVA estableciendo diferencias significativas con el test de Tukey a un nivel de significancia de 0,05. Se probaron supuestos de homogeneidad de varianzas y normalidad para cada una de las variables en las distintas fases. En el Cuadro 9 se presenta la matriz con las medidas resumen empleada por el análisis de información.

Cuadro 9. Matriz de medidas resumen para el análisis de la información de enraizamiento *in vitro* de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo					
Tratamiento					
Repetición					
Error					
Total					
TEST: TUKEY ALFA=0,05					
Error	gl:				
Tratamiento	Medias	n	EE		
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					
$\bar{x}$ : Media					

### 3.5. Metodología para difundir los resultados de la investigación a los actores sociales interesados, docentes y estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja.

Para la difusión de los resultados de la presente investigación y dar cumplimiento a este objetivo se realizó lo siguiente:

- Se socializó los resultados de la investigación, a través de una exposición al equipo técnico y docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y a los estudiantes del cuarto año de la Carrera de Ingeniería Agronómica.
- Se elaboró un tríptico con la finalidad de dar a conocer los resultados obtenidos de la presente investigación.
- Folleto técnico con los resultados del trabajo de Investigación.
- Finalmente, se redactó un artículo científico para difundir los resultados de la investigación, a nivel de la Universidad Nacional de Loja, Carrera de Ingeniería Agronómica y Biblioteca, de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables.

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Fase de multiplicación *in vitro* de explantes (ápices caulinares y segmentos nodales) de vitroplantas de *Carica papaya* L.**

#### **4.1.1. Porcentaje de Contaminación**

Los explantes de *Carica papaya* L., utilizados para la fase de multiplicación *in vitro*, no se desinfectaron en ninguna solución desinfectante, por tratarse de material aséptico provenientes de plántulas germinadas en condiciones controladas de laboratorio (vitroplantas), a pesar de ello el ensayo se vio afectado por el ataque de hongos saprófitos (Anexo 1).

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el porcentaje de contaminación, se pudo determinar con la prueba de Tukey (Anexo 2), que no existe diferencias significativas entre los tratamientos con una  $p= 0,4444$ .

#### **4.1.2. Número de brotes formados por explante**

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el número de brotes formados por explante (Figura 13), se pudo determinar que los datos presentaron mínima variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 8,42 %.

De la misma manera la prueba de Tukey, señaló que existe diferencias significativas entre tratamientos con una  $p= 0,0143$  (Anexo 3), donde se observó que el mejor tratamiento es el T3 (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP), el cual presentó un promedio de brotes por explante de 3,0 frente al tratamiento T2 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l BAP), que alcanzó un promedio de 1,9 brotes. Los valores promedios para el número de brotes por explante se presentan en la figura 12.

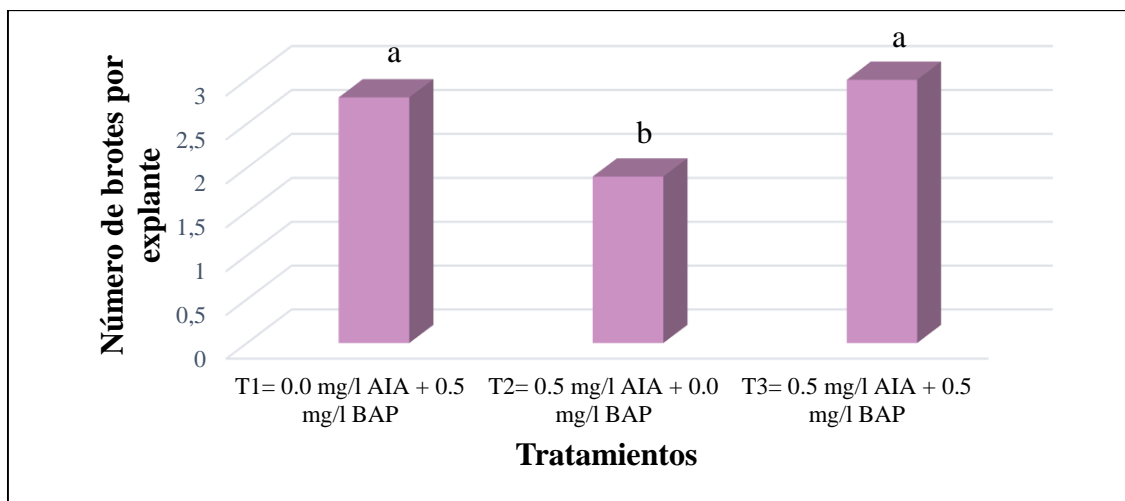


Figura 12. Número de brotes formados por explante en los diferentes tratamientos aplicados para la multiplicación *in vitro* de *Carica papaya* L. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

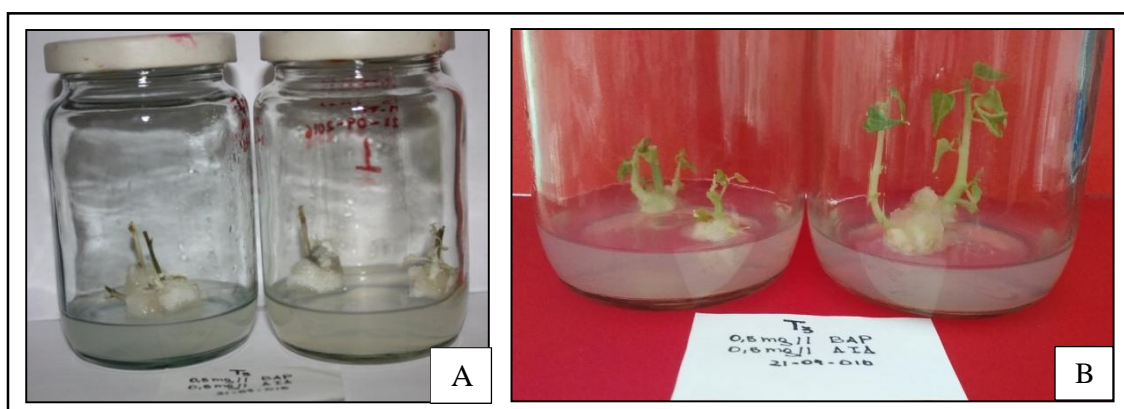


Figura 13. **A)** y **B)** Multiplicación *in vitro* de explantes de *Carica papaya* L. Laboratorio de Micropropagación Vegetal – UNL. Arias y Minchala 2017.

#### 4.1.3. Longitud de brotes (mm)

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para la longitud de brotes por explante, se pudo determinar que los datos presentaron mínima variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 3,26 %. De la misma manera la prueba de Tukey, señaló que existe diferencias significativas entre tratamientos con una  $p= 0,0112$  (Anexo 4), donde se observó que el mejor tratamiento es el T1 (0,0 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP), cuyos brotes alcanzaron un tamaño de 16,80 mm; frente al tratamiento T2 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l BAP), que alcanzó un tamaño de brotes de 14,60 mm. Los valores promedios para la longitud de brotes por explante se presentan en la Figura 14.

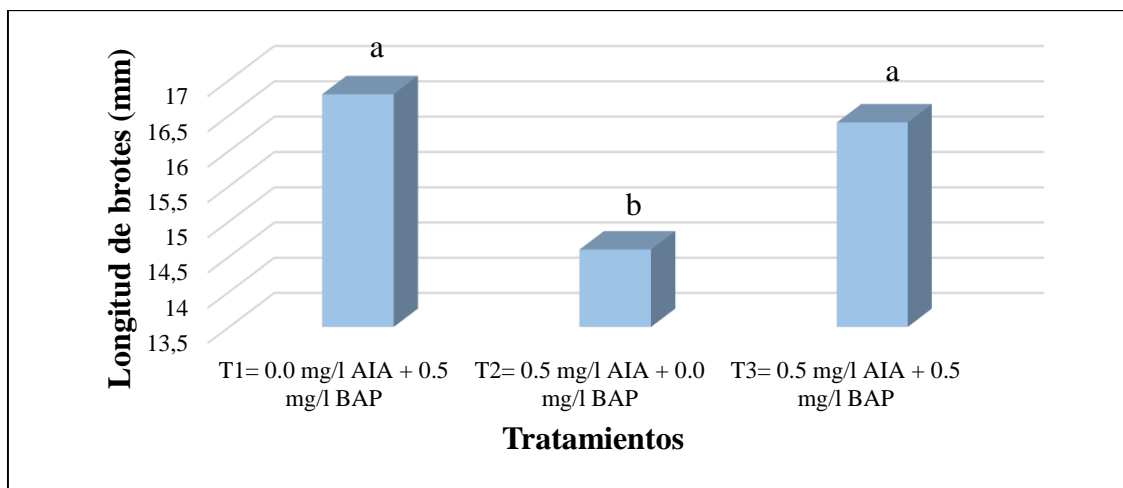


Figura 14. Longitud promedio de brotes por explante en los diferentes tratamientos aplicados para la multiplicación *in vitro* de *Carica papaya* L. Medias con una letra común nos son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.1.4. Número de hojas formadas por brote

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el número de hojas por brote, se pudo determinar que los datos presentaron baja variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 12,63 %. De la misma manera la prueba de Tukey, señaló que existe diferencias significativas entre tratamientos con una  $p = 0,0052$  (Anexo 5), donde se observó que el mejor tratamiento es T3 (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP), con un número de hojas promedio por brote de 4,50; frente a los demás tratamientos T1 y T2 que no mostraron diferencias significativas entre sí. Figura 15.

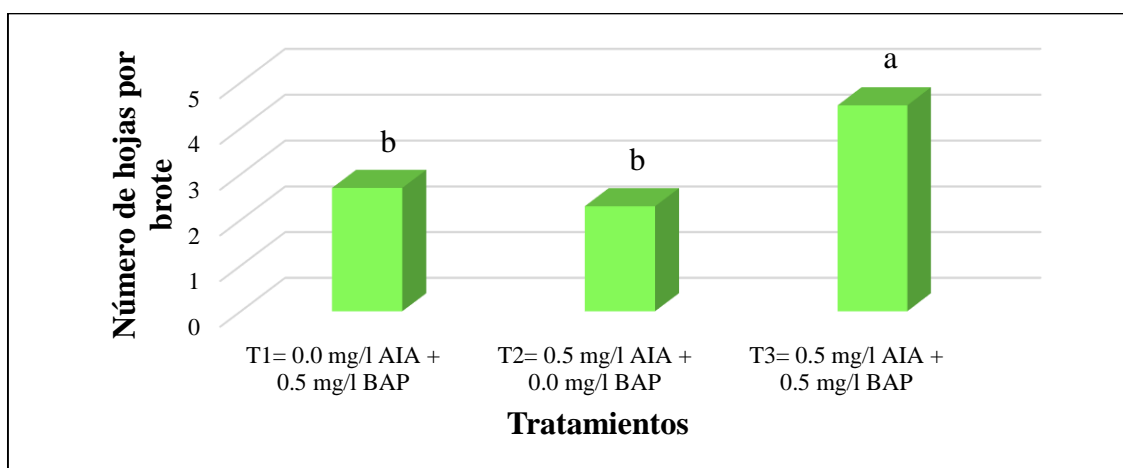


Figura 15. Número de hojas por brote de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de multiplicación. Medias con una letra común con son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.1.5. Número de nudos formados por brote

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el número de nudos por brote, se pudo determinar que los datos presentaron una mínima variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 9,40 %. De la misma manera la prueba de Tukey, señaló que existe diferencias significativas entre tratamientos con una  $p= 0,0289$  (Anexo 6), donde se observó que el mejor tratamiento es T3 (0.5 mg/l AIA + 0.5 mg/l BAP), con un número de nudos promedio por brote de 4,2; frente a los tratamientos T1 (0,0 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP) y T2 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l BAP) en los cuales se observó un promedio de nudos por brote de 3,2 y 3,5 respectivamente. Los valores promedios para el número de nudos por brotes se presentan en la Figura 16.

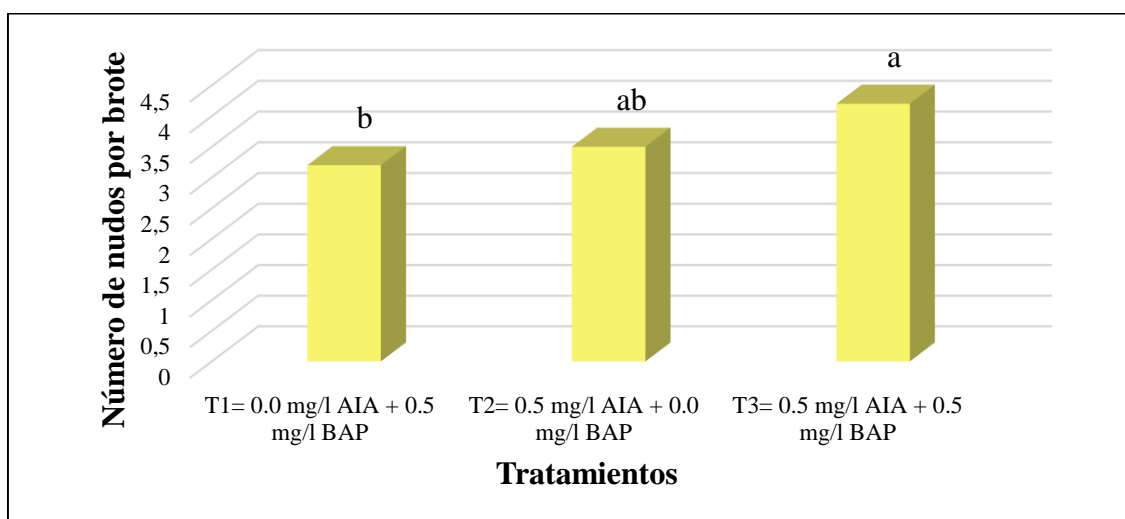


Figura 16. Número promedio de nudos por brote de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de multiplicación. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.1.6. Porcentaje de formación de callos por explante (estimado)

En la fase para la multiplicación de explantes de *Carica papaya* L., con la aplicación de AIA y BAP en diferentes concentraciones, los tratamientos T1 (0,0 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP), T2 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l BAP) y T3 (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP), presentaron multiplicación en la formación de brotes, previo a la formación de callos. El porcentaje de formación de callos se dio en el tratamiento T2 con 31,66 %, seguido del tratamiento T1 con un porcentaje de 13,33 % y en el tratamiento T3 con 8,33 %.



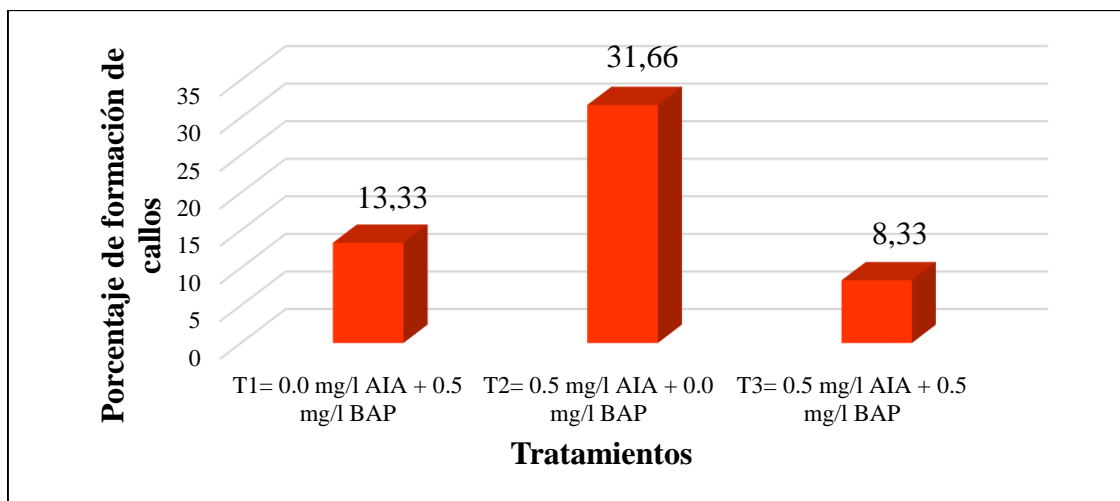


Figura 17. Porcentaje de formación de callos por explante de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de multiplicación.

#### 4.2. Fase de enraizamiento *in vitro* de vitroplantas de *Carica papaya* L. con la aplicación de AIA – AS.

##### 4.2.1. Porcentaje de contaminación

Las vitroplantas de *Carica papaya* L., utilizados en la fase de enraizamiento *in vitro*, no se desinfectaron en ninguna solución desinfectante, por tratarse de material aséptico provenientes de plántulas germinadas en condiciones controladas de laboratorio, sin embargo, existió un bajo porcentaje de contaminación con la presencia de hongos saprófitos y *Penicillium* de color verde (Anexo 7). Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el porcentaje de contaminación, se pudo determinar con la prueba de Tukey (Anexo 8), que no existe diferencias significativas entre los tratamientos con una  $p=0,4444$ .

##### 4.2.2. Número de brotes formados por vitroplanta

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el número de brotes formados por vitroplanta, se pudo determinar que los datos presentaron baja variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 15,64 %. De la misma manera la prueba de Tukey, señaló que existe diferencias significativas entre tratamientos con una  $p=0,0351$  (Anexo 9), donde se observó que el mejor tratamiento es el T1 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS) que presentó un promedio de 1,90 brotes por vitroplanta; frente al tratamiento T3 (0,5 mg/l AIA + 0,5

mg/l AS) que presentó el menor promedio, con un valor de 1,20. Los valores promedios para el número de brotes por vitroplanta se presentan en la Figura 18.

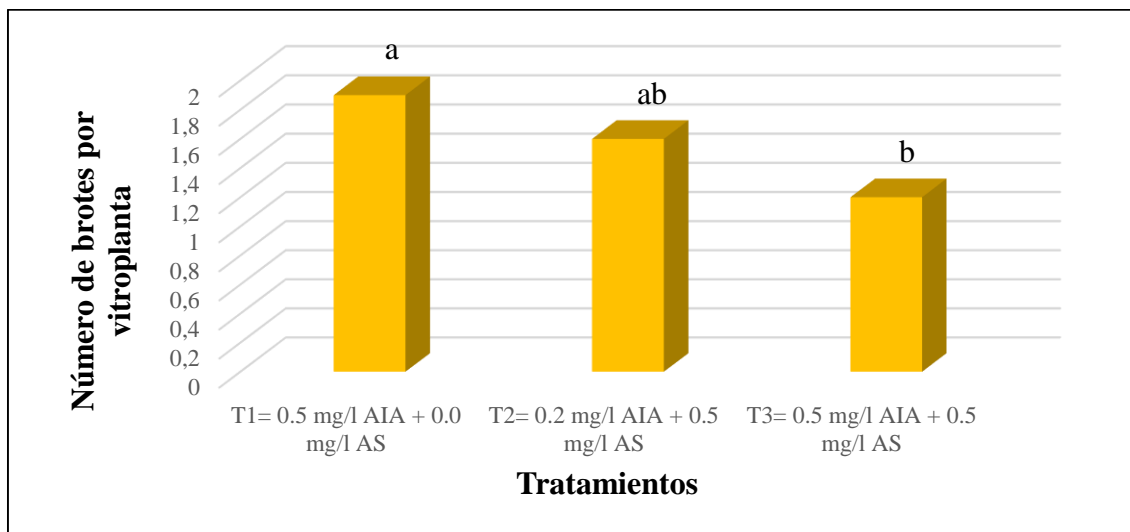


Figura 18. Número de brotes por vitroplanta de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de enraizamiento *in vitro*. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.3. Longitud de brotes (mm)

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para la longitud de brotes, se pudo determinar que los datos presentaron mínima variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 3,38 %.

De la misma manera, la prueba de Tukey, señaló que existe diferencias significativas entre tratamientos con una  $p = 0,0134$  (Anexo 10), donde se observó que el mejor tratamiento es el T1 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS) con un promedio de longitud de brotes de 17,20 mm; frente a los tratamientos T2 (0,2 mg/l AIA + 0,5 mg/l AS) y T3 (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l AS) con valores promedios de 15,70 y 14,80 respectivamente. Los valores promedios para la longitud de brotes por vitroplanta se presentan en la Figura 19.

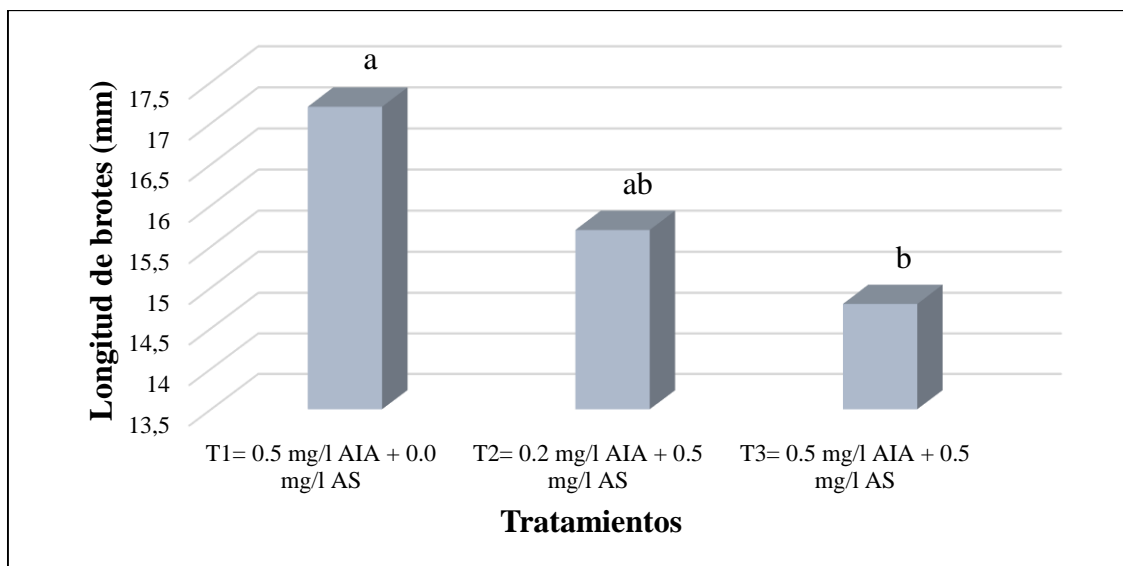


Figura 19. Longitud promedio de brotes por vitroplanta en los diferentes tratamientos aplicados para el enraizamiento *in vitro* de *Carica papaya* L. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.2.4. Número de raíces formadas por vitroplanta

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el número de raíces por vitroplanta (Figura 21), se pudo determinar que los datos presentaron alta variabilidad, con un coeficiente de variación (CV) de 64,15 %.

De la misma manera la prueba de Tukey, señaló que existe diferencias significativas entre tratamientos con una  $p = 0,0146$  (Anexo 11), donde se observó que el mejor tratamiento es el T1 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS) con un promedio de 0,2 raíces por vitroplanta; frente al tratamiento T3 (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l AS) que presentó un enraizamiento nulo. Los valores promedios para el número de raíces por vitroplanta se presentan en la Figura 20.

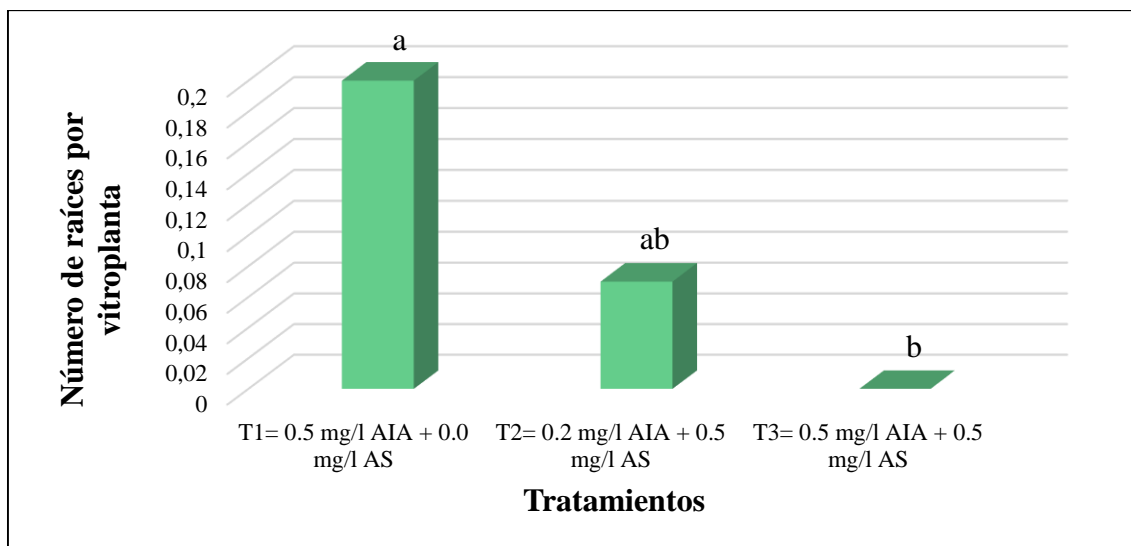


Figura 20. Número promedio de raíces por vitroplanta de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de enraizamiento. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

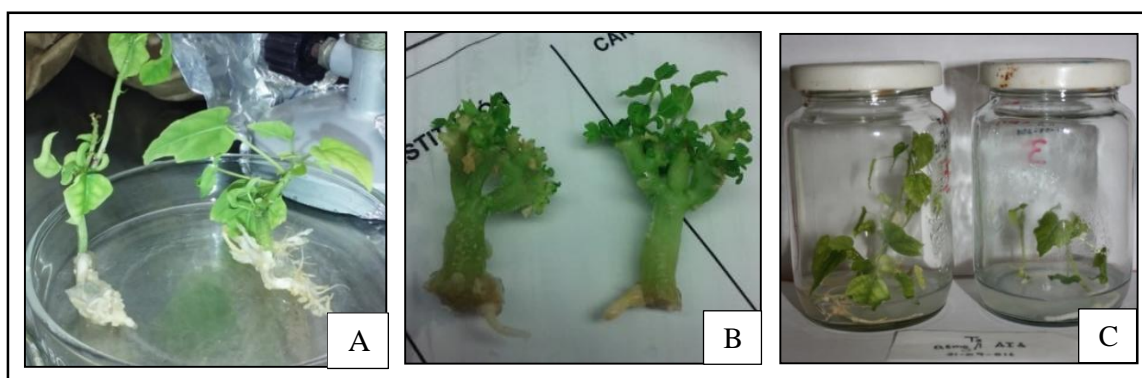


Figura 21. A), B) y C) Enraizamiento *in vitro* de vitroplantas de *Carica papaya* L. por organogénesis directa. Laboratorio de Micropropagación Vegetal – UNL. Arias y Minchala 2017.

#### 4.2.5. Longitud de raíces por vitroplanta (mm)

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para la longitud de raíces por vitroplanta, se pudo determinar que los datos presentaron baja variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 14,27 %. De la misma manera la prueba de Tukey, señaló que existe diferencias significativas entre tratamientos con una  $p = < 0,0001$  (Anexo 12), donde se observó que el mejor tratamiento es el T1 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS) con una longitud promedio de raíces de 4,3 mm; frente al tratamiento T2 (0,2 mg/l AIA + 0,5 mg/l AS) con

un promedio de 0,4 mm y el tratamiento T3 no presentó enraizamiento. Los valores promedios para la longitud de raíces por vitroplanta se presentan en la Figura 22.

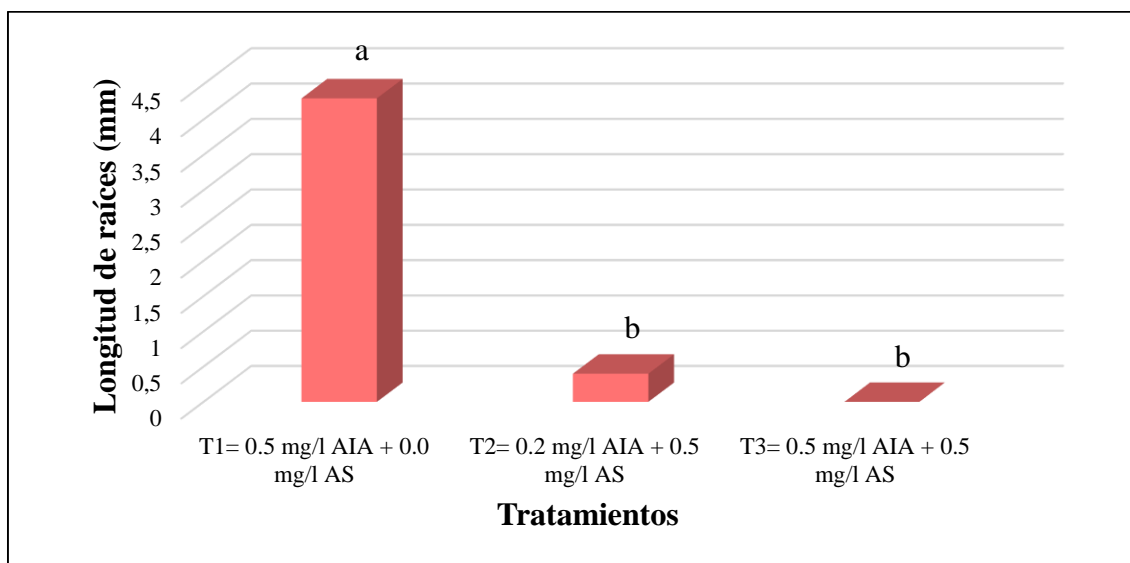


Figura 22. Longitud promedio de raíces por vitroplanta de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de enraizamiento. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3. Difusión de la información generada

Para la difusión de la investigación y dada la importancia que representa la generación de información sobre este tema, se realizaron varias actividades para la correcta difusión de los resultados.

En primera instancia se realizó las visitas técnicas por parte del director de tesis, equipo técnico y docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal, de la Universidad Nacional de Loja, donde se logró aportar con algunas recomendaciones para futuras investigaciones con esta especie. Así mismo, se realizó la exposición de resultados de la investigación a los estudiantes del cuarto año, de la Carrera de Ingeniería Agronómica (Anexo 13; Figura 23), con la finalidad de enriquecer y fortalecer sus conocimientos técnico-científicos en su formación como futuros ingenieros agrónomos. Además, se elaboró y entregó un tríptico divulgativo (Anexo 14), a estudiantes y docentes de la Carrera de Ingeniería Agronómica.

Finalmente se elaboró un Folleto Técnico y un artículo científico con la finalidad de difundir la información a aquellos actores involucrados con el campo agronómico.



Figura 23. A) y B) Difusión de Resultados de Tesis al Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Cuarto Año, de la Carrera de Ingeniería Agronómica, de la Universidad Nacional de Loja. Arias y Minchala 2017.

## **5. DISCUSIÓN**

### **5.1. Fase de multiplicación de segmentos nodales y ápices caulinares de *Carica papaya* L.**

#### **5.1.1. Porcentaje de Contaminación**

Al utilizar los segmentos nodales y ápices caulinares de *Carica papaya* L., los explantes fueron afectados por agentes contaminantes, en porcentajes bajos de 6,67 % en la fase de multiplicación y un porcentaje de 6,67 % en la fase de enraizamiento, agentes contaminantes que al ser analizados microscópicamente en el Laboratorio de Sanidad Vegetal, de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, se determinó que se trata de hongos saprófitos y *Penicillium* de color verde.

La contaminación fue baja puesto que se trabajó con material aséptico, ya que según Hernández, (2010), señala que la contaminación *in vitro* puede tener dos orígenes: a) microorganismos que colonizan la superficie o el interior del explante (endófitos) y b) microorganismos introducidos durante la manipulación en el laboratorio. Los contaminantes más frecuentes en condiciones *in vitro* son los hongos, las bacterias y levaduras, denominados "vitropatógenos". Por otro lado, según Bazantes, (2016), realizó estudios en multiplicación de explantes de Babaco (*Vasconcellea x heilbornii*), en el cual usó combinaciones de auxinas, citoquinas y ácido giberélico, consiguiendo resultados altos en contaminación, siendo el más bajo de 16,7 % de contaminación bacteriana y 3,7 de contaminación fúngica.

#### **5.1.2. Fase de multiplicación**

Los tejidos vegetales en condiciones *in vitro* crecen y se desarrollan si el medio de cultivo es suplementado con reguladores de crecimiento, pueden requerir un ajuste de acuerdo a la especie (Bacchetta, 2008). El éxito en el cultivo de tejidos depende de la selección del medio de cultivo, incluyendo su composición química y su forma física.

En la fase de multiplicación *in vitro* de ápices caulinares y segmentos nodales, la combinación hormonal (auxina-citoquinina) que resultó ser la más efectiva corresponde a 0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP, donde se alcanzó un promedio de formación de brotes, hojas y nudos de 3,0; 4,50 y 4,20 respectivamente. Para la variable longitud de brotes la concentración hormonal más efectiva fue de 0,0 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP, cuyos brotes

alcanzaron un tamaño de 16,80 mm; resultados que se corroboran con los obtenidos por Solís & Olivera, (2011), quienes al utilizar concentraciones similares de AIA, BAP y AG<sub>3</sub>, en la multiplicación de explantes de *Carica papaya* L., obtuvieron los mejores resultados en la combinación hormonal (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP + 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>), resultados de (3,42 y 15,41 mm) en la formación de brotes y longitud, es decir que la combinación de estas hormonas resulta ser efectiva en la multiplicación *in vitro* de explantes, ya que se obtuvo resultados similares en cuanto a la multiplicación.

(Medero & Pérez, 2012), estudiaron la combinación de reguladores de crecimiento en papaya (*Carica papaya* L.) var. “Maradol Roja” sobre la multiplicación, experimento en el cual determinaron que la concentración hormonal de 0,22 mg/l BAP, 0,05 mg/l ANA y 0,5-1,0 mg/l AG<sub>3</sub>, fue la más efectiva logrando obtener apareamiento de callos y un tamaño promedio de longitud de brotes de 2 cm. Así también, según Guzmán & Manzo, (2003), realizaron estudios en plantas hermafroditas de (*Carica papaya* L.) var. Red Lady para la multiplicación de brotes, donde obtuvieron los mejores resultados con un promedio 5,0 brotes por explante, aproximadamente de 1 cm de longitud, con la aplicación de 2,0 mg/l BAP, 0,2 mg/l ANA. Rivero & López, (2016), realizaron diversas investigaciones en la generación de protocolos de multiplicación, para obtener plántulas vigorosas y libres de enfermedades en (*Carica papaya* L.). Para su establecimiento *in vitro* se empleó el medio de Murashige & Skoog (MS) suplementado con 0,5 mg/l BAP, 0,5 mg/l AIA y 0,5 mg/l AG<sub>3</sub>, siendo esta concentración óptima para la propagación, evidenciándose resultados promedio de longitud de 4,03 mm y 4,0 de número de hojas promedio por explante.

Con ello se puede decir que tanto la auxina AIA y la citoquinina BAP utilizadas en concentraciones altas, respecto de los tratamiento aplicados en la presente investigación, son excelentes para la inducción de brotes en *Carica papaya* L., lo que concuerda con lo mencionado por Solís & Olivera, (2015), quienes señalan que el AIA promueve la elongación celular estimulando el crecimiento vegetativo de los explantes, el BAP provoca la división celular y formación de nuevos brotes, permitiendo así la aparición de nudos y a su vez nuevas hojas y la adición de AG<sub>3</sub>, estimula y regula el crecimiento de los explantes es decir de nudo a nudo.



## **5.2. Fase de enraizamiento de vitroplantas de *Carica papaya* L. con la aplicación de AIA y AS.**

### **5.2.1. Fase de enraizamiento**

En la presente investigación en la fase de enraizamiento *in vitro* de vitroplantas de *Carica papaya* L., la concentración hormonal de (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS) resultó ser la más efectiva, permitiendo la formación del mayor número de raíces por vitroplanta con un promedio de 0,2; con una longitud promedio de 4,3 mm, cabe señalar que el enraizamiento obtenido corresponde a raíces adventicias, las cuales se originaron por organogénesis directa.

Estos resultados son similares a los obtenidos por Solis & Olivera, (2011), quienes utilizaron 0,5 mg/l BAP, 3 mg/l IBA y 5 mg/l de adenina y alcanzó un promedio de enraizamiento de 8,6 raíces por explante, con una longitud de 7,4 mm en enraizamiento *in vitro* de *Carica papaya* L.; además, Guzmán & Manzo, (2003), realizaron estudios en plantas hermafroditas de (*Carica papaya* L.) var. Red Lady para enraizamiento, obteniendo el mejor resultado en la concentración hormonal de 1,0 mg/l AIB, donde alcanzó un enraizamiento promedio de 4 raíces por explante de 1,3 cm de longitud. Por otro lado, Medero & Pérez, (2012), estudiaron la combinación de reguladores de crecimiento en papaya (*Carica papaya* L.) var. “Maradol Roja” para el enraizamiento. Se estudió el efecto de diferentes concentraciones de las hormonas 0,22 mg/l BAP, 0,05 mg/l ANA y 0,5-1,0 mg/l AG<sub>3</sub>, donde se obtuvo un bajo promedio de explantes enraizados con 15,32 %.

En cuanto a la evaluación de otras variables en la fase de enraizamiento de vitroplantas de *Carica papaya* L., la mejor brotación se obtuvo en la concentración hormonal de (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS), con un promedio de 1,90 brotes por vitroplanta, con un tamaño de 17,20 mm, lo cual se corrobora con lo mencionado por Solis & Olivera, (2011), quienes señalan que el BAP promueve la diferenciación y división celular y el AIA estimula la elongación celular, regula el crecimiento del tallo, las hojas y las raíces y al desarrollo de ramas laterales. De manera general se puede corroborar lo señalado por Medero & Pérez, (2012), quienes al hacer ensayos en enraizamiento *in vitro* de embriones cogóticos inmaduros var. “Maradol Roja” aplicando concentraciones de 0,22 mg/l BAP, 0,05 mg/l ANA y 0,5-1,0 mg/l AG<sub>3</sub>, llegaron a la conclusión que la presencia de auxinas en baja concentración en el medio de cultivo es indispensable para la formación de raíces *in vitro*.

## 6. CONCLUSIONES

- En la fase de multiplicación y de enraizamiento se evidenció bajos porcentajes de contaminación, que no son significativos estadísticamente, ya que se trabajó con material vegetal aséptico.
- En la fase de multiplicación de *Carica papaya* L., los mejores resultados se obtuvieron en la combinación hormonal 0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP, concluyendo que las concentraciones altas que se utilizó de AIA y BAP respecto de los tratamientos aplicados, son óptimas en la multiplicación de esta especie.
- En la fase de multiplicación de *Carica papaya* L., la utilización de 0,5 mg/l AIA, 0,0 mg/l BAP, permitió la formación de callos en los explantes, estimulando en el crecimiento del tallo de los explantes.
- En la fase de enraizamiento de *Carica papaya* L., se alcanzó los mejores resultados con la aplicación hormonal 0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS, sin embargo, no se alcanzó los resultados reportados en otros estudios.

## 7. RECOMENDACIONES

- En la fase de multiplicación de *Carica papaya* L., realizar nuevos ensayos probando nuevas concentraciones de 0,5 mg/l AIA y 0,5 mg/l BAP, superiores a las utilizadas en la presente investigación, ya que el mejor resultado se obtuvo en la concentración más alta de la combinación hormonal auxina – citoquinina.
- En la fase de enraizamiento de *Carica papaya* L., probar nuevas concentraciones de 0,5 mg/l AIA y 0,0 mg/l AS, superiores a las utilizadas en la presente investigación, ya que con las concentraciones utilizadas se evidencio un enraizamiento mínimo.
- Continuar con la investigación sobre protocolos de adaptación de vitroplantas de *Carica papaya* L., probando diferentes sustratos a condiciones de invernadero.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Agronegocios. (2005). *El cultivo de papaya*. La DICTA, 3-6.
- Alarcón, M., & García, J. R. (2006). Conceptos Básicos y Experiencias con Especies Amazónicas. *Propagación Asexual de Plantas*. 60.
- García, M. A. (2010). *Guía técnica del cultivo de papaya*. El Salvador: Centa.
- Amhed. (2001). *Novel Micropropagation System. OnLine Journal of Biological Sciences*. (Vol. 1). Bangladesh: Scielo.
- Arditti, J. (1977). Clonal propagation of orchids by means of tissue culture: A manual. En: *Orchid Biology I: Reviews and Perspectives*. 203-293.
- Bacchetta, G. B. (2008). *Conservación ex situ de plantas silvestres*. Principado de Asturias: La Caixa.
- Bazantes, K. S. (2016). Establecimiento in vitro y multiplicación de brotes de Babaco (*Vasconcellea x heilbornii*) mediante el uso combinado de reguladores de crecimiento. *UDLA*, 17-65.
- Bhattacharya, R. (2011). Monetary policy transmission in an emerging market setting. *IMF Working Paper*, 3-16.
- Brar, D. S., & Khush, G. S. (1994). *Cell and tissue culture for plant improvement*. New York: Marcel Dekker.
- Castillo, I. A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *INIA Las Brujas*, 1-8.
- Cronauer, S. S., & Krikorian, A. D. (1985). *Aseptic multiplication of banana from excised floral apices* (Vol. 20). Virginia, Estados Unidos: HortScience.
- D'Amato, F. (1977). *Cytogenetics of differentiation in tissue and cell culture*. En: *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*. Berlín, Alemania: Springer-Verlag.
- Davies, P. (2008). *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Kluwer Academic.

- De los Santos. (1997). *Manual de producción de papaya en el Estado de Veracruz*. Veracruz, México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Golfo Centro.
- Del Sol, L. G. (2001). *Efficient plant regeneration from somatic embryogenesis in papaya cv. INIVIT-2000*. *Biotecnología Vegetal y Agricultura Sostenible*. Santo Domingo, Cuba: Instituto de investigación (INIVIT).
- Delgado, G. E. (1995). *Cultura de tejidos de batata doce (Ipomoea batatas (L.) Lam.): Propagacao, morfogenese e variacao somaclonal*. Sao Paulo, Brasil: Tese Ph. D. Universidade de Sao Paulo.
- Di Rienzo et al, F. C. (2008). *InfoStat versión 2014*. Córdoba, Argentina. Related articles
- Díaz. (2002). *Evaluación de cultivares y guía para producir papaya en la costa de Jalisco*. Costa de Jalisco, México: CIR Pasifico-Sur. INIFAP.
- Díaz., G. (2012). Procesos morfogenicos in vitro de cedro (*Cedrela montana* Moritz ex Turcz) inducidos, a partir de semillas, para propagacion y conservacion de germoplasma. 10-21.
- EcuRed. (2017). *Adenina*. Obtenido de <https://www.ecured.cu/Adenina>
- Elder, R. J., & Macleod, W. N. (2000). *Growth, yield and phenology of 2 hybrid papayas (Carica papaya L.) as influenced by method of water application* (Vol. 40(5)). Australia: Australian Journal of Experimental.
- Endress, R. (1994). *Plant Cell Biotechnology*. Berlin, Alemania: Springer-Verlag.
- Gómez, B. G. (2009). Características generales del cultivo de papaya. *Corpoica*, 6-9.
- Gonsalves, D. (1998). Control of papaya ringspot virus in papaya: a case study. *Annual Review of Phytopathology*, 36, 415-437.
- Guzmán, S., & Manzo, G. (2003). *Micropropagación de plantas hermafroditas de papaya Red Lady*. México: Universidad de Colima.
- Hartman, K. (1990). Propagación de plantas. *Programa de Maestría en Ciencias en Horticultura*, 2-6.
- Hernández, Y. G. (2010). Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento In vitro de frutales perennes. *Cultivos Tropicales*, 31(04), 58-69.

- Hossain, M. R. (1993). *High efficient plant regeneration from petiole explants of Carica papaya L. through organogenesis*. (Vol. 13). Plant Cell Reports.
- Jiménez. (1998). Generalidades del Cultivo in vitro. *SlideShare*, 04, 28-34.
- Jiménez., E. (1998). *Cultivo de ápices y meristemas*. En J. Pérez (Ed.), *Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología*. Cuba: Ediciones GEO.
- Kitto, J. M. (1997). *Commercial Micropropagation* (Vol. 32(6)). Alexandria, Virginia (Estados Unidos): American Society For Horticultural Science.
- Krikorian, A. D. (1991). *Propagación clonal in vitro*. En: *Cultivo de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones*. Cali, Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Lai, C. C., & Yeh, S. D. (2000). *Enhancement of papaya axillary shoot proliferation in vitro by controlling the available ethylene*. China: Botanical Bulletin of Academia Sinica Taipei.
- Lazzeri, P. A., & Dunwell, J. M. (1984). *Establishment of isolated root cultures of Brassica species and regeneration from cultured-root segment of Brassica oleracea var.* (Vol. 54). Oxford, Inglaterra: Ann. Bot.
- Lima R, J. Sousa, G. L.-R. (2001). Etiología e estrategias de controle de viroses do mamoeiro no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, 26, 689-702.
- Margara, J. (1998). *Multiplificación vegetativa y cultivo in vitro. Los meristemas y la organogenesis*. Madrid-España.
- Medero, V. B., & Pérez, M. B. (2012). Micropropagación a partir de embriones cigóticos de la papaya (*Carica papaya L.*) var "Maradol roja". *Revista Anales de la Academia de Ciencias de Cuba*, 7(01), 2-5.
- Mirafuentes. (1997). Manual de producción de papaya (*Carica papaya L.*) para el trópico húmedo de México. *Inifap*, 2-14.
- Morel, G. (1960). *Producing virus-free cymbidiums* (Vol. 29). Cambridge, Inglaterra: Am, Orchid. Soc. Bull.
- Murashige., T. (1976). *Manipulation of organ initiation in plant tissue cultures*. (Vol. 18). California: Bot. Bull. Academia Sinica.

- Murashige, & Skoog. (1962). *A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures*. (Vol. 15). Wisconsin-EE.UU: Physiol. Plant.
- Nakasone, & Paull. (1998). *Papaya*. In. *Tropical fruits*. Wallingford, England: CAB Internacional.
- Nash, D. T., & Davies, M. E. (1972). *Some aspects of growth and metabolism of Paul's Scarlet rose cell suspension*. (Vol. 23). Inglaterra: Journal of Experimental Botany.
- Ortega, R. (1992). *Metodología para la propagación in vitro de Carica papaya L*. Santa Clara, Cuba: Universidad Central Las Villas. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Centro de Biotecnología Ingeniería Genética de plantas.
- Otero. (2003). Maradol Roja certificada. *Entomotropica*, 26(01), 12-26.
- Pérez, J., & Jiménez, E. y. (1998). *Aumento de la eficiencia en la micropropagación*. En: *Pérez Ponce, JN (Ed) Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología*. Santa Clara, Cuba: Instituto de Biotecnología de las Plantas.
- Pérez., G. C. (2005). Cultivos de células y tejidos vegetales. *Revista Digital Universitaria*, 6(11), 2-16.
- Pierik, R. (1990). *Cultivos in vitro de plantas superiores*. Madrid: Mundi-prensa.
- Posada. (1995). *Desarrollo de la embriogénesis somática en la fruta bomba (Carica papaya L)*. Santa Clara, Cuba: Universidad Central Marta Abreu de las Villas.
- PrefecturaLoja. (2011). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la provincia de Loja*. Obtenido de [http://www.prefecturaLoja.gob.ec/documentos/pdtot/DIAGNOSTICO\\_ECONOMICO.pdf](http://www.prefecturaLoja.gob.ec/documentos/pdtot/DIAGNOSTICO_ECONOMICO.pdf)
- PROECUADOR. (2015). *Censo de producción de papaya*. Obtenido de [http://www.proecuador.gob.ec/wpcontent/uploads/2015/07/PROEC\\_AS2015\\_PAPAYA.pdf](http://www.proecuador.gob.ec/wpcontent/uploads/2015/07/PROEC_AS2015_PAPAYA.pdf)
- Rivero, A. E., & López, E. M. (2016). Efecto sinérgico del Ácido Indolacético, Ácido Giberélico y Bencilaminopurina en la propagación in vitro de papaya "Carica papaya L.". *Revista del Museo de Historia Natural y Cultura ARNALDO A.*, 23(2), 4-7.

- Roca, & Mronginski. (1991). *Cultivos de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones*. Cali, Colombia: Oritech Internacional S.A.
- Rodríguez, D. (2012). Capacidad de enraizamiento en estacas de setos provenientes de tres poblaciones de *Pinus patula*. Facultad de Ciencias Agrícolas. *Rev. Fitotec.*, 39(4), 32.
- Rodríguez & Farrés, A. T. (2008). Caracterización y evaluación de dos híbridos de papaya en Cuba. *Scielo*, 7.
- Rojas, G. S., & García, L. J. (2004). *Conceptos básicos y experiencias con especies Amazónicas*. Colombia: CORPOICA.
- Ronse, D. L., & Smets, E. F. (1999). *The floral development and anatomy of Carica papaya (Caricaceae)* (Vol. 4). Canada: Canadian Journal of Botany.
- Saha & Phatak, (2004). In vitro culture studies in four dioecious varieties of *Carica papaya* L. using axillary buds from field-grown plants. *Journal of Tissue Research*, 4(2), 211-214.
- Seemann. (1993). *Utilización de técnicas de Micropropagación*. (BARRIGA, & NEIRA., Edits.) Chile: Universidad Austral de Chile.
- Sierra. (2012). *Sistema de clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental*. Quito: Ministerio del Ambiente.
- Sierra. (2003). Cultivo de papayo. *Infojardin*, 2-7.
- Skoog, F., & Miller, C. O. (1957). *Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro* (Vol. 11). Symp. Soc. Exp. Biol.
- Solagro. (2015). Producción de papaya en el Ecuador. *La solución para el agro Solagro*, 1-2.
- Solis, R., & Olivera, J. (2011). Propagación in vitro de *Carica papaya* var. PTM-331 a partir de meristemas apicales. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. *Rev. peru. biol.*, 18(3), 343-347.
- Tomes. (1982). Application of Plant Cell and Tissue Culture to Agriculture & Industry. *Recent Advances in Biotechnology*, 209-226.



- Torres, A. C., & Vecchia, P. T. (1978). *Propagacao vegetativa de couve-flor (Brassica oleracea var. botrytis subvar. cauliflora DC.) in vitro visando ao melhoramento de cultivares de verao* (Vol. 25). Brasil: Rev. Ceres.
- Valero, U. (2009). *Micropropagación y otros métodos de propagación in vitro*. España: Paperkite Editorial. Lleida.
- Villalobos. (1991). *Micropropagación: conceptos, metodología y resultados*. (Vol. 33). México: Conacyt.
- Wright, N. A., & Alderson, P. G. (1980). *The growth of tulip tissues in vitro* (Vol. 109). Acta Hort.

## 9. ANEXOS

Anexo 1. Tabla de datos para la fase de multiplicación de *Carica papaya* L.

<b>Contaminación (%) de explantes</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>T2</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67
<b>T3</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Longitud(mm) de brotes por explante</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	2,63	3,58	7,57	9,73	11,13	12,00	13,30	14,67	16,23	16,80	16,80
<b>T2</b>	2,60	3,57	6,70	7,27	10,20	11,73	12,27	13,27	14,07	14,60	14,60
<b>T3</b>	3,23	4,87	7,43	10,80	11,80	12,77	13,93	15,13	16,00	16,40	16,40
<b>Número de brotes por explante</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	0,00	1,30	2,33	2,47	2,53	2,57	2,57	2,70	2,70	2,80	2,80
<b>T2</b>	0,00	1,23	1,50	1,70	1,70	1,70	1,70	1,80	1,80	1,90	1,90
<b>T3</b>	0,00	1,73	2,13	2,30	2,50	2,60	2,83	2,83	2,90	3,00	3,00
<b>Número de nudos por explante</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	0,00	1,93	2,40	2,77	3,00	3,00	3,00	3,10	3,20	3,20	3,20
<b>T2</b>	0,00	2,10	2,67	2,90	3,10	3,20	3,20	3,33	3,40	3,50	3,50
<b>T3</b>	0,00	2,80	3,23	3,53	3,70	3,70	3,73	3,83	4,13	4,20	4,20
<b>Número de hojas por brote</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	0,00	1,37	1,73	1,73	1,80	1,83	1,87	2,23	2,57	2,70	2,70
<b>T2</b>	0,00	1,17	1,20	1,33	1,43	1,53	1,60	1,87	2,23	2,30	2,30
<b>T3</b>	0,00	1,13	2,50	2,63	2,83	2,90	3,10	3,73	4,30	4,50	4,50

Anexo 2. Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación de explantes de *Carica papaya* L., fase de multiplicación.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	$\bar{x}$
% Contaminación	9	0,50	0,00	150,00	2,22
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	177,78	4	27,78	1,00	0,5000
Tratamiento	88,89	2	44,44	1,00 ns	0,4444
Repetición	22,22	2	11,11	1,00	0,4444
Error	177,78	4	44,44		
Total	355,56	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=19,39990</b>					
Error: 44,4444	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T2	6,67	3		3,85 a	
T1	0,00	3		3,85 a	
T3	0,00	3		3,85 a	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 3. Análisis estadístico para el Número de brotes promedio por tratamiento de *Carica papaya* L., fase de multiplicación.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	$\bar{x}$
Número de brotes/explante	9	0,88	0,76	8,42	2,56
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	2,06	4	0,52	7,36	0,0395
Tratamiento	2,06	2	1,03	14,71 *	0,0143
Repetición	0,00	2	0,00	0,00	>0,9999
Error	0,28	4	0,07		
Total	2,34	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=0,76991</b>					
Error: 0,0700	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T3	3,00	3		0,15 a	
T1	2,80	3		0,15 a	
T2	1,90	3		0,15 b	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 4. Análisis estadístico para la Longitud de brotes promedio por tratamiento de *Carica papaya* L., fase de multiplicación.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	$\bar{x}$
Longitud de brotes/explante	9	0,90	0,80	3,26	15,93
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	8,89	4	2,22	9,13	0,0273
Tratamiento	8,24	2	4,12	16,93 *	0,0112
Repetición	0,65	2	0,32	1,33	0,3610
Error	0,97	4	0,24		
Total	9,86	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=1,43546</b>					
Error: 0,2433	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	16,80	3		0,28 a	
T3	16,40	3		0,28 a	
T2	14,60	3		0,28 b	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 5. Análisis estadístico para el Número de hojas por brote de *Carica papaya* L., fase de multiplicación.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	$\bar{x}$
Número de hojas por brote	9	0,93	0,86	12,63	3,16
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	8,62	4	2,16	13,47	0,0137
Tratamiento	8,24	2	4,12	25,75 *	0,0052
Repetición	0,38	2	0,19	1,19	0,3937
Error	0,64	4	0,16		
Total	9,26	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=1,16399</b>					
Error: 0,1600	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T3	4,50	3		0,23 a	
T1	2,70	3		0,23 b	
T2	2,30	3		0,23 b	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 6. Análisis estadístico para el Número de nudos por brote de *Carica papaya* L., fase de multiplicación.

<b>ANÁLISIS DE LA VARIANZA</b>					
<b>VARIABLE</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>CV</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Número de nudos por brote	9	0,57	0,14	9,40	3,63
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	1,61	4	0,40	1,32	0,3961
Tratamiento	1,58	2	0,79	2,60 *	0,0289
Repetición	0,03	2	0,01	0,04	0,9575
Error	1,21	4	0,30		
Total	2,82	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=1,60269</b>					
Error: 0,3033	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T3	4,20	3		0,32	a
T2	3,50	3		0,32	a b
T1	3,20	3		0,32	b
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 7. Tabla de toma de datos para la fase de enraizamiento de *Carica papaya* L.

<b>Contaminación (%) de vitroplantas</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67
<b>T2</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67
<b>T3</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Longitud(mm) de brotes por vitroplanta</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	13,67	14,17	14,50	15,00	16,03	16,20	16,27	16,77	17,03	17,20	17,20
<b>T2</b>	13,60	13,87	14,30	14,57	14,83	14,93	15,33	15,43	15,50	15,70	15,70
<b>T3</b>	10,17	10,77	11,60	12,17	13,03	13,57	13,93	14,40	14,67	14,80	14,80
<b>Número de brotes por vitroplanta</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	0,00	0,60	0,83	0,97	1,23	1,43	1,53	1,57	1,70	1,90	1,90
<b>T2</b>	0,00	0,53	0,83	0,87	1,00	1,20	1,33	1,37	1,50	1,60	1,60
<b>T3</b>	0,00	0,43	0,73	0,83	0,93	1,00	1,03	1,10	1,17	1,20	1,20
<b>Número de raíces por vitroplanta</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	0,00	0,00	0,13	0,13	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
<b>T2</b>	0,00	0,00	0,00	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
<b>T3</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
<b>Longitud de raíces por vitroplanta</b>											
<b>Tratamiento</b>	<b>Días</b>										
	1	10	20	30	40	50	60	70	80	90	Total
<b>T1</b>	0,00	0,00	0,48	0,85	0,92	1,50	2,19	2,87	3,57	4,30	4,30
<b>T2</b>	0,00	0,00	0,33	0,34	0,35	0,35	0,35	0,35	0,40	0,40	0,40
<b>T3</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Anexo 8. Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación de vitroplantas de *Carica papaya* L., fase de enraizamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	$\bar{x}$
% Contaminación	9	0,71	0,43	150,00	4,44
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	444,44	4	111,11	2,50	0,1983
Tratamiento	88,89	2	44,44	1,00 ns	0,4444
Repetición	355,56	2	177,78	4,00	0,1111
Error	177,78	4	44,44		
Total	622,22	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=19,39990</b>					
Error: 44,4444	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	6,67	3		3,85 a	
T2	6,67	3		3,85 a	
T3	0,00	3		3,85 a	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 9. Análisis estadístico para el Número de brotes de *Carica papaya* L., fase de enraizamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	$\bar{x}$
Número de brotes/vitroplanta	9	0,75	0,50	15,64	1,56
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	0,83	4	0,21	3,02	0,1545
Tratamiento	0,74	2	0,37	5,41 *	0,0351
Repetición	0,09	2	0,04	0,63	0,5765
Error	0,27	4	0,07		
Total	1,10	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=0,76069</b>					
Error: 0,0683	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	1,90	3		0,15 a	
T2	1,60	3		0,15 a b	
T3	1,20	3		0,15 b	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 10. Análisis estadístico para la Longitud de brotes de *Carica papaya* L., fase de enraizamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	$\bar{x}$
Longitud del brote/vitroplanta	9	0,89	0,78	3,38	15,9
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	9,17	4	2,29	7,95	0,0347
Tratamiento	8,82	2	4,41	15,29 *	0,0134
Repetición	0,35	2	0,17	0,60	0,5912
Error	1,15	4	0,29		
Total	10,32	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=1,56257</b>					
Error: 0,2883	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	17,20	3		0,31 a	
T2	15,70	3		0,31 a b	
T3	14,80	3		0,31 b	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 11. Análisis estadístico para el Número de raíces por vitroplanta de *Carica papaya* L., fase de enraizamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV	$\bar{x}$
Número de raíces/vitroplanta	9	0,84	0,67	64,15	0,09
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	0,07	4	0,02	5,14	0,0710
Tratamiento	0,06	2	0,03	9,27 *	0,0146
Repetición	0,01	2	0,03	1,00	0,4444
Error	0,01	4	0,01		
Total	0,08	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=0,16801</b>					
Error: 0,0033	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	0,20	3		0,03 a	
T2	0,07	3		0,03 a b	
T3	0,00	3		0,03 b	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					



Anexo 12. Análisis estadístico para la Longitud de raíces por vitroplanta de *Carica papaya* L., fase de enraizamiento.

<b>ANÁLISIS DE LA VARIANZA</b>					
<b>VARIABLE</b>	<b>N</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> Aj</b>	<b>CV</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>
Longitud de raíces/vitroplanta	9	0,99	0,99	14,27	1,56
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	34,12	4	8,53	170,60	0,0001
Tratamiento	33,86	2	16,93	338,60 *	< 0,0001
Repetición	0,26	2	0,13	2,60	0,1890
Error	0,20	4	0,05		
Total	34,32	8			
<b>TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=0,65069</b>					
Error: 0,0500	gl:4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	4,30	3		0,13	a
T2	0,40	3		0,13	b
T3	0,00	3		0,13	b
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )					

Anexo 13. Difusión de los Resultados de la Investigación a los Actores Involucrados, Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Cuarto año, de la Carrera de Ingeniería Agronómica, de la Universidad Nacional de Loja.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**  
**FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES**  
**RENOVABLES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**REGISTRO DE ASISTENTES A LA SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS DE LA TESIS**  
**“PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS PARA LA MULTIPLICACIÓN Y**  
**ENRAIZAMIENTO DE (*Carica papaya* L.) A PARTIR DE VITROPLANTAS”.**

Loja, 14 de Noviembre del 2017

Nº	NOMBRES Y APELLIDOS	CARRERA	CICLO	FIRMA
1	Kerwin Joel Elizalde Sánchez	Ing. Agronómica	VIII	
2	Leidy Estefani Gallegos Sangua	Ing. Agronómica	VIII	
3	Junior Zaramillo Alejandro Caba	Ing. Agronómica	VIII	
4	Pablo César Espinoza Cobdova	Ing. Agronómica	VIII	
5	Anhelina Maribel Lima Balazcar	Ing. Agronómica	VIII	
6	Cynthia Katherine Ortiz Valdez	Ing. Agronómica	VIII	
7	Leidy Alexandra Cerrero Abad	Ing. Agronómica	VIII	
8	Diego Fernando Labanda Cajamarca	Ing. Agronómica	VIII	
9	Rebeca Ximera Herrera Manchero	Ing. Agronómica	VIII	
10	Juan Andres Buri Buri	Ing. Agronómica	VIII	
11	Daniela Cecibel Farez Armijos	Ing. Agronómica	VIII	
12	Eustavo Israel Córdova Vivanco	Ing. Agronómica	VIII	
13	José Lucio González Amijos	Ing. Agronómica	VIII	
14	Melissa Alexandra Romero Zambrano	Ing. Agronómica	VIII	
15	Dhuliane Maribel Caba Suárez	Ing. Agronómica	VIII	
16	Verónica del Cisne Castillo Jaramillo	Ing. Agronómica	VIII	
17	Enka Tatiana Gómez Guayllas	Ing. Agronómica	VIII	
18	Jhanna Maribel Silva Suárez	Ing. Agronómica	VIII	
19	Janeth Margarita Carrión León	Ing. Agronómica	VIII	
20	Cristina Nathaly Espinoza Martínez	Ing. Agronómica	VIII	

## Anexo 14. Tríptico divulgativo del presente trabajo de Investigación.

### INTRODUCCIÓN

Dentro de los frutales la papaya se presenta como un cultivo alternativo de gran importancia económica y alimentaria. (PROEcuador, 2015). A nivel nacional, Santo Domingo de los Tsáchilas es la provincia que más produce en monocultivo, con 316 ha., seguida del Guayas con 231 ha. En el caso de estar asociada, Esmeraldas posee más área (17%), seguida de Morona Santiago (16%) (Solagro, 2015). El método convencional a través de semillas es el resultado de la polinización cruzada, así como la dificultad de producir clones de plantas hermafroditas (Bhattacharya R., 2011). La técnica de cultivos *in vitro* permite obtener tejidos inocuos, además excelentes características productivas en campo y también maximizar la propagación de plántulas en un periodo reducido (Agroentorno, 2012).

Es por ello el interés del presente proyecto busca suplir la necesidad de rescate y conservación de esta especie amenazada mediante las técnicas de cultivo *in vitro* de tejidos vegetales ya que es una estrategia que garantiza la perdurabilidad de los recursos Fitogenéticos.

### OBJETIVOS

#### General

Contribuir a la generación de información sobre los procesos biotecnológicos, que permitan la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de (*Carica papaya* L.), a partir de vitroplantas, la interacción de diferentes concentraciones para la inducción de brotes axilares y raíces adventicias.

#### Específicos

- ◊ Probar el balance hormonal auxinas - citoquininas para la inducción de brotes axilares de (*Carica papaya* L.) a partir de vitroplantas.
- ◊ Ensayar diferentes concentraciones del balance hormonal de auxinas - citoquininas para la inducción de raíces adventicias en brotes de (*Carica papaya* L.) obtenidas a partir de vitroplantas.
- ◊ Difundir los resultados de la investigación a los actores sociales interesados, docentes y estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja.

### METODOLOGÍA

#### 1. Ubicación del área de estudio.

La presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal, de la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, de la Universidad Nacional de Loja, lugar donde se establecieron los respectivos ensayos de laboratorio *in vitro*: multiplicación y enraizamiento de explantes de *Carica papaya* L. La Zonificación del laboratorio es: Z10.S02.MD.B2.Lab.101.



#### 2. Metodología para Probar el balance hormonal auxinas - citoquininas para la inducción de brotes axilares de (*Carica papaya* L.) a partir de vitroplantas.

La unidad experimental fue el conjunto de cinco frascos de vidrio, por la cual se inocularon dos explantes por frasco. Las variables que se evaluaron fueron porcentaje de contaminación, porcentaje de mortalidad, días a la contaminación, días a la mortalidad, longitud de brotes (mm), número de brotes por explante, número de nudos por brotes y número de hojas por brote, con cuyos datos se realizó el análisis estadístico (ANOVA), con la prueba estadística de Tukey al 0,05 % de probabilidad.

#### 3. Ensayar diferentes concentraciones del balance hormonal de auxinas - citoquininas para la inducción de raíces adventicias en brotes de (*Carica papaya* L.) obtenidas a partir de vitroplantas.

La unidad experimental fue el conjunto de cinco frascos

de vidrio, por la cual se inocularon dos vitroplantas por frasco. Las variables que se evaluaron fueron porcentaje de contaminación, porcentaje de mortalidad, días a la contaminación, días a la mortalidad, longitud de brotes (mm), número de brotes por explante, número de raíces por explante y longitud de raíces, con cuyos datos se realizó el análisis estadístico (ANOVA), con la prueba estadística de Tukey al 0,05 % de probabilidad.

### RESULTADOS

#### 1. Fase de multiplicación *in vitro* de (*Carica papaya* L.) a partir de vitroplantas, con la aplicación de AIA, BAP y AG<sub>3</sub>

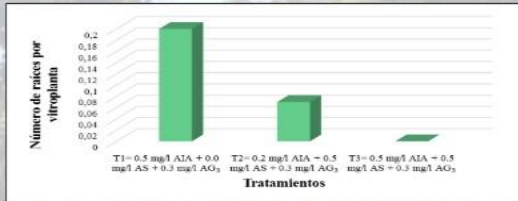


#### Número de brotes formados por explante

Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el número de brotes formados por explante, se pudo determinar que los datos presentaron mínima variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 8,42 %. De la misma manera la prueba de Tukey, indica que existen diferencias significativas entre tratamientos con una  $p=0,0143$ , donde se observó que el mejor tratamiento es el T3 (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP + 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>), el cual presentó un promedio de brotes por explante de 3,0 frente al tratamiento T2 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l BAP + 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>), que alcanzó un promedio de 1,9 brotes.

**2. Fase de enraizamiento in vitro de (*Carica papaya* L.) obtenidas a partir de vitroplantas, con la aplicación de AIA, AS y AG<sub>3</sub>.**

**Número de raíces por explante**



Según el análisis de varianza (ANOVA), aplicado para el número de raíces por vitroplanta, se pudo determinar que los datos presentaron alta variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 64,15 %. De la misma manera la prueba de Tukey, indica que existen diferencias significativas entre tratamientos con una  $p= 0,0146$ , donde se observó que el mejor tratamiento es el T1 (0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS + 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>) con un promedio de 0,2 raíces por vitroplanta, frente al tratamiento T3 (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l AS + 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>) que presentó un enraizamiento nulo.

**CONCLUSIONES**

- En las fases de multiplicación y enraizamiento se evidenció la presencia de contaminación relativamente baja, ya que se trabajó con material vegetal aséptico.
- En la fase de multiplicación de *Carica papaya* L. alcanzó una máxima multiplicación en la interacción hormonal 0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP + 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>, concluyendo que las concentraciones altas que se utilizó de AIA, BAP y AG<sub>3</sub> respecto de los tratamientos aplicados, son óptimas en la multiplicación de esta especie, ya que AIA promueve a la elongación celular y estimulación de crecimiento vegetativo de explantes, BAP induce a la división celular y la formación de nuevos brotes, permitiendo así la aparición de nudos y a su vez nuevas hojas; y, a su vez el AG<sub>3</sub>, estimula, controla y regula el

crecimiento de los tallos de los explantes de nudo a nudo.

- En la fase de multiplicación de *Carica papaya* L., la utilización de 0,5 mg/l AIA, 0,0 mg/l BAP y 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>, permitió la formación de callos en los explantes, inhibiendo en el desarrollo y crecimiento de los explantes.
- En la fase de enraizamiento de *Carica papaya* L. alcanzó un máximo en la aplicación hormonal 0,5 mg/l AIA + 0,0 mg/l AS + 0,3 mg/l AG<sub>3</sub>, cuyos resultados son relativamente bajos.

**RECOMENDACIONES**

- En la fase de multiplicación de *Carica papaya* L., realizar nuevos ensayos probando nuevas concentraciones de AIA, BAP y AG<sub>3</sub>, inferiores y medias a las utilizadas en la presente investigación, ya que el mejor resultado se obtuvo en la concentración más alta de la interacción Auxina, Citoquinina y Ácido Giberélico.
- En la fase de enraizamiento de *Carica papaya* L., probar nuevas concentraciones de AIA, AS y AG<sub>3</sub>, superiores a las utilizadas en la presente investigación, ya que con las concentraciones utilizadas se evidenció un enraizamiento mínimo.
- Continuar investigando sobre protocolos de adaptación de vitroplantas de *Carica papaya* L., probando sustratos a condiciones de invernadero.



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**

**FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

**Laboratorio de Micropropagación Vegetal**

**“PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS PARA LA MULTIPLICACIÓN Y ENRAIZAMIENTO DE (*Carica papaya* L.) A PARTIR DE VITROPLANTAS.”.**

**AUTOR:** Romel Vicente Arias Loja  
**DIRECTOR:** Ing. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.  
**CODIRECTORA:** Ing. Julia Esther Minchala Patiño.  
 Loja – Ecuador

**2017**