



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS
NATURALES RENOVABLES

CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

“PROCESOS MORFOGÉNICOS *IN VITRO* DE
PAPAYA CRIOLLA (*Carica papaya* L.),
INDUCIDOS A PARTIR DE SEMILLAS”.

TESIS DE GRADO PREVIO A LA
OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA:

Guissella Katherine Sánchez Ullaguari

DIRECTOR:

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

CO-DIRECTORA:

Ing. Agr. Julia Esther Minchala Patiño.

1859
2018

En los
mejores puestos, sino
los más preparados,
aunque no sean genios.



CERTIFICACIÓN

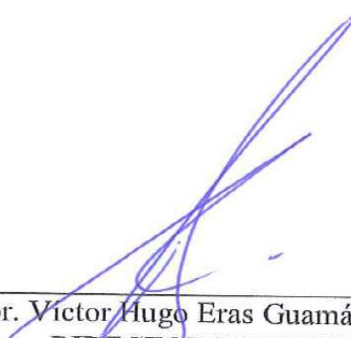
Ing. For. Victor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.

DIRECTOR DE TESIS

En calidad de Director de la tesis titulada “**PROCESOS MORFOGÉNICOS *IN VITRO* DE PAPAYA CRIOLLA (*Carica papaya* L.), INDUCIDOS A PARTIR DE SEMILLAS**”, de autoría de la señorita egresada de la Carrera de Ingeniería Agronómica **Guissella Katherine Sánchez Ullaguari**, ha sido dirigida, revisada y aprobada en su integridad; por lo que autorizo su presentación y publicación.

Loja, 29 de junio de 2017

Atentamente,



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

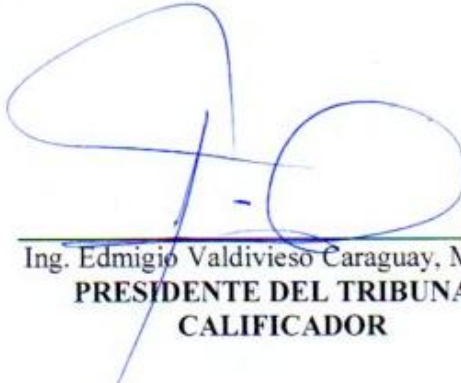
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

CERTIFICACIÓN

Una vez cumplida la reunión del Tribunal de calificación del Trabajo Final de Tesis “**PROCESOS MORFOGÉNICOS *IN VITRO* DE PAPAYA CRIOLLA (*Carica papaya L.*), INDUCIDOS A PARTIR DE SEMILLAS**” de autoría de la señorita **Guissella Katherine Sánchez Ullaguari**, egresada 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 marzo del 2018.


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


Ing. Paulina Fernández Guarnizo, Mg. Sc.
VOCAL


Ing. Max Encalada Córdova, Phd.
VOCAL

AUTORÍA

Yo, **Guissella Katherine Sánchez Ullaguari**, declaro ser autora 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.

Autora: Guissella Katherine Sánchez Ullaguari

Firma: 

Cédula: 1105901860

Fecha: Loja, 27 de junio de 2018

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

Yo, Guissella Katherine Sánchez Ullaguari, de la tesis titulada **"PROCESOS MOFOGÉNICOS *IN VITRO* DE PAPAYA CRIOLLA (*Carica papaya* L.), INDUCIDOS A PARTIR DE SEMILLAS"**, como requisito para obtener el grado de: Ingeniera Agrónoma, 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 esta autorización, en la ciudad de Loja, a los veinte siete días del mes de junio del 2018. Firma la autora.

Firma: 

Autora: Guissella Katherine Sánchez Ullaguari

Número de cédula: 1105901860

Dirección: Provincia Loja, Cantón Loja, Parroquia Sucre, Barrio Miraflores Bajo.

Correo electrónico: guise_29_@hotmail.com

Teléfono celular: 2-585595 - 0985057025

DATOS COMPLEMENTARIOS

Director de Tesis: Ing. For. Mg. Sc., Victor Hugo Eras Guamán

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

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

Ing. Paulina Fernández Guarnizo, Mg. Sc.

Ing. Max Encalada Córdova, Phd.

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mis sinceros agradecimientos a todos quienes hicieron posible la culminación de la presente investigación:

A la Universidad Nacional de Loja, a la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables y a todos los docentes por sus conocimientos y experiencias brindadas durante los años de vida universitaria

Al Ing. Víctor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc., director de tesis, por su tiempo, guía, orientación, apoyo incondicional y asesoramiento en la realización exitosa de la presente investigación.

Al Ing. José Moreno Serrano, Mg. Sc., por su valioso apoyo y asesoramiento en la realización del presente trabajo de investigación.

Al Laboratorio de Micropropagación Vegetal, por el financiamiento otorgado para la realización de esta investigación; de manera especial a la Ing. Julia Minchala Patiño, Ing. Magali Yaguana Arévalo, Ing. Mauricio Sinche Freire, Ing. Cristian Valarezo Ortega, por permitirme formar parte del proyecto de investigación, por su apoyo desinteresado, por la dedicación de su tiempo, por haber compartido conmigo sus conocimientos, siempre les estaré muy agradecida.

Y finalmente, a mis compañeros y amigos de la Universidad, que durante cinco años de carrera supieron brindarme su apoyo y paciencia y con quienes tuve la dicha de compartir momentos inolvidables de aprendizaje.

DEDICATORIA

A Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida, por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más, por estar conmigo en todo momento y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante este período.

A mí querido padre Víctor Manuel Sánchez Hidalgo, que, aunque no esté físicamente con nosotros, sé que desde el cielo siempre me cuida y me guía en cada paso que doy.

A mí querida madre Maruja Esperanza Ullaguari Balcázar, por ser el pilar fundamental de mi vida, quien me ha acompañado en cada paso que doy, enseñándome a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos.

A mis hermanos, Johanna, Tania, Cristian, Jessenia y a mi cuñado Miguel, por estar conmigo y apoyarme siempre, en cada momento de mi vida. Mis sobrinos, Joel y Andrés, para que vean en mí un ejemplo a seguir.

¡Gracias de todo corazón!

Guissella K. Sánchez Ullaguari.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Pág.
CERTIFICACIÓN	ii
APROBACIÓN	ii
AUTORÍA	vii
CARTA DE AUTORIZACIÓN	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
ÍNDICE GENERAL	viii
ÍNDICE DE CUADROS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Descripción de la especie <i>Carica papaya</i> L	3
2.1.1. Origen	3
2.1.2. Taxonomía	4
2.1.3. Descripción morfológica	4
2.1.4. Problemas del cultivo	5
2.1.5. Zonas e importancia del cultivo de papaya	5
2.2. Consideraciones generales sobre la Micropropagación	6
2.2.1. Micropropagación	6
2.2.2. Propagación <i>in vitro</i>	6
2.2.3. Ventajas y desventajas de la micropropagación	6
2.2.4. Selección del inóculo	7
2.3. Factores externos en la micropropagación	7
2.3.1. Planta donante	7
2.3.2. Estado sanitario	8
2.3.3. Explante	8

2.4.	Fases de la micropropagación	8
2.4.1.	Fase de elección de la planta madre y explante	9
2.4.2.	Fase de establecimiento o implantación <i>in vitro</i>	9
2.4.3.	Fase de multiplicación o proliferación <i>in vitro</i>	10
2.4.5.	Fase de enraizamiento <i>in vitro</i>	10
2.4.6.	Fase de adaptación al suelo o aclimatación	11
2.5.1.	Reguladores de Crecimiento	12
2.6.	Factores ambientales de incubación	14
2.7.	Estudios similares sobre germinación y brotamiento de <i>Carica papaya</i> L.	15
3.	METODOLOGÍA	18
3.1.	Ubicación del Área de Estudio	18
3.1.1.	Fase de campo.	18
3.1.2.	Fase de laboratorio	19
3.2.	Metodología para evaluar el efecto de AG3 aplicando distintas concentraciones en la germinación de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	20
3.2.1.	Selección de frutos.	20
3.2.2.	Desinfección de frutos	20
3.2.3.	Preparación del medio de cultivo.	21
3.2.4.	Siembra <i>in vitro</i> de semillas y condiciones de incubación.	22
3.2.5.	Diseño Experimental para la fase de germinación <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L.	23
3.2.5.1.	Especificaciones del diseño experimental	23
3.2.5.2.	Unidad experimental y evaluación	24
3.2.6.	Hipótesis del modelo	24
3.2.7.	Análisis estadístico de datos de germinación <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L.	25
3.3.	Metodología para probar el efecto del balance hormonal auxina-citoquinina, en la fase de crecimiento y desarrollo de brotes a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de <i>Carica papaya</i> L.	25
3.3.1.	Obtención y selección de explantes de <i>Carica papaya</i> L.	26
3.3.2.	Preparación del medio de cultivo.	26
3.3.3.	Siembra <i>in vitro</i> de explantes y condiciones de incubación.	26

3.3.4.	Diseño experimental para la fase de brotamiento de <i>Carica papaya</i> L.	27
3.3.4.1.	Especificaciones del diseño experimental	28
3.3.4.2.	Unidad Experimental y evaluación	28
3.3.5.	Hipótesis del modelo	29
3.3.6.	Análisis estadístico de datos	30
3.4.	Metodología para la difusión de los resultados de la investigación a los actores involucrados, docentes y estudiantes de la Carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad Nacional de Loja.	30
4.	RESULTADOS	32
4.1	Fase de germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	32
4.1.1.	Ensayo 1 (Sin escarificación de mesotesta de semillas de <i>Carica papaya</i> L.)	32
4.1.1.1.	Porcentaje de contaminación.	32
4.1.1.2.	Porcentaje de semillas germinadas.	32
4.1.1.3.	Número de días a la germinación.	33
4.1.1.4.	Porcentaje de mortalidad.	34
4.1.2.	Ensayo 2 (Escarificación de mesotesta de semillas de <i>Carica papaya</i> L.)	34
4.1.2.1.	Porcentaje de contaminación.	34
4.1.2.3.	Porcentaje de semillas germinadas.	34
4.1.2.4.	Número de días a la germinación.	35
4.1.2.5.	Porcentaje de mortalidad.	36
4.1.3.	Ensayo 3 (Extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días).	36
4.1.3.1.	Porcentaje de contaminación.	36
4.1.3.2.	Porcentaje de germinación.	36
4.1.3.3.	Número de días a la germinación	36
4.1.3.4.	Porcentaje de mortalidad	37
4.2.	Fase de brotamiento <i>in vitro</i> de explantes de (ápices caulinares y segmentos nodales) de vitroplantas de <i>Carica Papaya</i> L.	37
4.2.1.	Porcentaje de contaminación.	37
4.2.2.	Porcentaje de mortalidad	38

4.2.5.	Número de brotes/explante	38
4.2.6.	Longitud de los brotes (mm)	39
4.2.7.	Número de hojas formadas por brote	39
4.2.8.	Número de nudos/brote	40
4.3.	Difusión de la información generada	42
5.	DISCUSIÓN	43
5.1.	Fase de germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	43
5.2.	Fase de brotamiento <i>in vitro</i> de ápices caulinares y segmentos nodales de <i>Carica papaya</i> L.	44
6.	CONCLUSIONES	47
7.	RECOMENDACIONES	48
8.	BIBLIOGRAFÍA	49
9.	ANEXOS	54

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Contenido	Pág.
Cuadro 1.	Composición de medios de cultivo para células vegetales	11
Cuadro 2.	Descripción de los diferentes tratamientos para la germinación de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	23
Cuadro 3.	Hoja de registro para evaluar la variable: porcentaje de contaminación en la germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	24
Cuadro 4.	Hoja de registro para evaluar las variables en la fase de germinación de <i>Carica papaya</i> L.	24
Cuadro 5.	Matriz de medidas resumen para el análisis de la información de germinación <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> L.	25
Cuadro 6.	Tratamientos para evaluar la interacción auxinas-citoquininas en el crecimiento y desarrollo de brotes de <i>Carica papaya</i> L.	29
Cuadro 7.	Hoja de registro para evaluar las variables: porcentaje de contaminación y mortalidad en fase de brotamiento <i>in vitro</i> de explantes de <i>Carica papaya</i> L.	30
Cuadro 8.	Hoja de registro para evaluar las variables en la fase de brotamiento de explantes de <i>Carica papaya</i> L.	30
Cuadro 9.	Matriz de medidas resumen para el análisis de la información de brotamiento <i>in vitro</i> de <i>Carica papaya</i> .	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Contenido	Pág.
Figura 1.	A) Árbol de <i>Carica papaya</i> L. B) Frutos de <i>Carica papaya</i> L. y C) Semilla de <i>Carica papaya</i> L.	3
Figura 2.	Mapa de ubicación de la parroquia El Tambo.	18
Figura 3.	Mapa de ubicación del Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja	19
Figura 4.	Selección del material vegetal (<i>Carica papaya</i> L.), en campo. Loja-2016.	20
Figura 5.	Colecta de fruto en campo de <i>Carica papaya</i> L. Loja- 2016	20
Figura 6.	Preparación del material vegetal (<i>Carica papaya</i> L.), para su traslado al laboratorio. Loja-2016.	28
Figura 7.	Desinfección del fruto dentro de la cámara de flujo laminar. Loja-2016.	29
Figura 8.	Extracción de semillas de <i>Carica papaya</i> L. Loja-2016.	29
Figura 9.	Preparación del medio de cultivo MS suplementado con AG ₃ . Loja-2016	30
Figura 10.	Medición de pH del medio de cultivo MS., suplementado con AG ₃ . Loja- 2016.	22
Figura 11.	Siembra <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L. Loja-2016.	22
Figura 12.	Identificación de tratamientos de <i>Carica papaya</i> L., en un medio para germinación. Loja- 2016.	22
Figura 13.	Sales minerales del MS y Suplementos para la preparación de medio de cultivo para brotamiento. Loja- 2016	26

Figura 14.	Preparación de medio de cultivo MS suplementado con Auxinas – Citoquininas. Loja- 2016	26
Figura 15.	Medición del pH de medio de cultivo Murashige & Skoog. Loja 2016.	26
Figura 16.	Disección de ápices caulinares y segmentos nodales de <i>Carica papaya</i> L., para la fase de brotamiento. Loja-2016.	27
Figura 17.	Siembra de segmentos nodales y ápices caulinares de <i>Carica papaya</i> L., en medio para brotamiento. Loja- 2016.	27
Figura 18.	Porcentaje de germinación de los diferentes tratamientos aplicados en la germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	33
Figura 19.	A), B) y C) Germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L., sin escarificación de mesotesta. Laboratorio de Micropropagación Vegetal- UNL. 2016.	33
Figura 20.	Curva de germinación acumulativa de los distintos tratamientos aplicados para la germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	34
Figura 21.	A) y B) Germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L., con escarificación de mesotesta. Laboratorio de Micropropagación Vegetal- UNL. 2016.	35
Figura 22.	Curva de germinación acumulativa de los distintos tratamientos aplicados para la germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	35
Figura 23.	A) y B) Germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L., con extracción de sarcotesta y secado al ambiente. Laboratorio de Micropropagación Vegetal- UNL. 2016.	36
Figura 24.	Curva de germinación acumulativa de los distintos tratamientos aplicados para la germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Carica papaya</i> L.	37

Figura 25.	Brotamiento de explantes de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de brotamiento <i>in vitro</i> .	38
Figura 26.	A) y B) Brotamiento <i>in vitro</i> de explantes de <i>Carica papaya</i> L. Laboratorio de Micropropagación Vegetal- UNL. 2016.	39
Figura 27.	Promedio de hojas por brotes de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de brotamiento <i>in vitro</i> .	40
Figura 28.	Promedio del número de nudos por brotes de <i>Carica papaya</i> L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de brotamiento.	41
Figura 29.	A) y B) Difusión de Resultados de Tesis al Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Quinto Año de la Carrera de Ingeniería Agronómica. Jardín Botánico Reinaldo Espinoza- UNL. 2016	42

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Contenido	Pág.
Anexo 1.	Tabla de toma de datos para el ensayo 1 (sin escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	55
Anexo 2.	Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación, ensayo 1 (sin escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	55
Anexo 3.	Análisis estadístico para el porcentaje de germinación, ensayo 1 (sin escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	56
Anexo 4.	Tabla de toma de datos para el ensayo 2 (con escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	56
Anexo 5.	Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación, ensayo 2 (con escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	57
Anexo 6.	Análisis estadístico para el porcentaje de germinación, ensayo 2 (con escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	57
Anexo 7.	Tabla de toma de datos para el ensayo 3 (extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	58
Anexo 8.	Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación, ensayo 3 (extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	58
Anexo 9.	Análisis estadístico para el porcentaje de germinación, ensayo 3 (extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	59

Anexo 10.	Análisis estadístico para el porcentaje de mortalidad, ensayo 3 (extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días) para germinación de <i>Carica papaya</i> L.	59
Anexo 11.	Tabla de datos para el ensayo de brotamiento de <i>Carica papaya</i> L.	60
Anexo 12.	Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación de explantes de <i>Carica papaya</i> L., ensayo de brotamiento	63
Anexo 13.	Análisis estadístico para el porcentaje de mortalidad de explantes de <i>Carica papaya</i> L., ensayo de brotamiento.	63
Anexo 14.	Análisis estadístico para el número de brotes promedio por tratamiento de <i>Carica papaya</i> L., ensayo de brotamiento.	64
Anexo 15.	Análisis estadístico para la longitud de brotes (mm) promedio por tratamiento de <i>Carica papaya</i> L., ensayo de brotamiento.	64
Anexo 16.	Análisis estadístico para el número de hojas por brote de <i>Carica papaya</i> L., ensayo de brotamiento.	65
Anexo 17.	Análisis estadístico para el número de nudos por brote de <i>Carica papaya</i> L., ensayo de brotamiento.	65
Anexo 18.	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.	66
Anexo 19.	Tríptico divulgativo del presente trabajo de Investigación.	67

**“PROCESOS MORFOGÉNICOS *IN VITRO* DE PAPAYA CRIOLLA
(*Carica papaya* L.), INDUCIDOS A PARTIR DE SEMILLA”**

RESUMEN

La papaya (*Carica papaya* L.) es una importante fruta de la familia Caricaceae, con alto valor nutricional y económico, es cultivada en diversas regiones tropicales y subtropicales del mundo. Es originaria de América Central y se caracteriza por ser un cultivo que en corto tiempo y de forma continua durante todo el año es productiva desde el punto de vista económico, siendo muy apreciada principalmente para su consumo en fresco.

Esta especie por su morfología floral, posee árboles hembras, machos y hermafroditas, cada una originando diferentes tipos de frutos en cuanto a forma y calidad; de igual manera, al ser afectada por diferentes plagas, enfermedades que reducen la longevidad de las plantaciones y a su baja germinación, dificulta su producción y comercialización. Una de las mejores opciones para generar plantas sanas, con desarrollo homogéneo y libre de patógenos es el uso de herramientas biotecnológicas como la micropropagación, mismas que se constituyen en una alternativa idónea para propagar plantas. Mediante las técnicas de cultivo *in vitro* se puede obtener plántulas de calidad, incrementar el número de individuos por unidad de superficie de cualquier especie objeto de conservación, en este contexto la micropropagación de la especie *Carica papaya* L., se realizó con el propósito de generar información sobre los procesos morfogénicos, que permitan la propagación *in vitro* de *Carica papaya* L.

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el marco del proyecto de “**Desarrollo y Fortalecimiento del Laboratorio de Micropropagación Vegetal**”, en dos fases: fase de campo que correspondió a la recolección del material vegetal en la parroquia El Tambo, cantón Catamayo, provincia de Loja; y la segunda fase se la realizó en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja.

Para la micropropagación de *Carica papaya* L., se utilizó el medio de cultivo basal MS (Murashige y Skoog 1962), adicionando diferentes reguladores de crecimiento, tanto en la fase de germinación y brotamiento. Para la fase de germinación de semillas *in vitro* de *Carica papaya* L., se realizaron tres ensayos: sin escarificación de mesotesta, escarificación de mesotesta y extracción de sarcotesta secado al ambiente, adicionando ácido giberélico (AG₃) en concentraciones de 0.0; 1.0 y 1.5 mg/l, las variables evaluadas fueron porcentaje de germinación, número de días a la germinación, porcentaje de contaminación y porcentaje de mortalidad. El ensayo con escarificación de mesotesta y con una concentración hormonal de 1.5 mg/l de ácido giberélico (AG₃) resultó ser la más efectiva

para la germinación de semillas, en el cual se obtuvo el 71,11 %, iniciando la germinación a los 20 días.

Para la fase de brotamiento *in vitro* de *Carica papaya* L., se combinó auxinas y citoquinas en diferentes concentraciones: ácido naftalenacético (ANA) (0.2 mg/l), bencilaminopurina (BAP) (0.2 y 2.0 mg/l) y kinetina (KIN) (0.2 y 2.0 mg/l). En esta fase se evaluaron variables como número de brotes por explante, longitud de brote, número de nudos y hojas por brote. La combinación hormonal 0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l BAP resultó ser la más efectiva para la formación de brotes, número de nudos y hojas, obteniéndose resultados de 6,00 brotes por explante, con 5,14 nudos por brote y 5,17 hojas por brote respectivamente. En cuanto a la longitud de los brotes el mejor resultado se obtuvo en la combinación hormonal 0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l KIN, con una longitud de 26,01 mm por brote.

Palabras clave: Papaya, *in vitro*, micropropagación, germinación, brotamiento.

ABSTRACT

Papaya (*Carica papaya* L.) is an important fruit of the Caricaceae family, with high nutritional and economic value, which is cultivated in various tropical and subtropical regions of the world. It is originally from Central America and is characterized for being a crop that in a short time and continuously throughout the year is productive from the economic point of view, being much appreciated mainly for its consumption in fresh.

This species, due to its floral morphology, has female trees, males and hermaphrodites, each one originating different types of fruits in terms of form and quality; In the same way, being affected by different pests, diseases that reduce the longevity of the plantations and their low germination, hinders their production and commercialization. One of the best options to generate healthy plants, with homogeneous and pathogen-free development is the use of biotechnological tools such as micropropagation, which are an ideal alternative to propagate plants. Through *in vitro* culture techniques, quality seedlings can be obtained, increasing the number of individuals per unit area of any species under conservation, in this context the micropropagation of the species *Carica papaya* L., was carried out with the purpose of generating information on morphogenic processes that allow the *in vitro* propagation of *Carica papaya* L.

This research work was developed within the framework of the project "Development and Strengthening of the Plant Micropropagation Laboratory", in two phases: field phase that corresponded to the collection of plant material in the parish of El Tambo canton Catamayo, province of Loja; and the second phase was carried out in the Plant Micropropagation Laboratory of the National University of Loja.

For the micropropagation of *Carica papaya* L., the MS basal culture medium (Murashige and Skoog 1962) was used, adding different growth regulators, both in the germination and sprouting phase. For the germination stage of *in vitro* seeds of *Carica papaya* L., three tests were carried out: without mesotesta scarification, mesotesta scarification and dried sarcotesta extraction to the environment, adding gibberellic acid (AG3) in concentrations of 0.0; 1.0 and 1.5 mg / l, the evaluated variables were percentage of germination, number of days to germination, percentage of contamination and percentage of mortality. The assay with scarification of mesotesta and with a hormonal concentration of 1.5 mg / l of

gibberellic acid (AG3) was the most effective for germination of seeds, in which 71.11% was obtained, initiating germination at 20 days.

For the *in vitro* sprouting phase of *Carica papaya* L., auxins and cytokines were combined in different concentrations: naphthaleneacetic acid (ANA) (0.2 mg / l), benzylaminopurine (BAP) (0.2 and 2.0 mg / l) and kinetin (KIN) (0.2 and 2.0 mg / l). In this phase variables such as number of shoots per explant, shoot length, number of nodes and leaves per shoot were evaluated. The hormonal combination 0.2 mg / l ANA + 0.2 mg / l BAP was the most effective for the formation of shoots, number of nodes and leaves, obtaining results of 6.00 shoots per explant, with 5.14 knots and 5.17 leaves per sprout respectively. Regarding the length of the outbreaks, the best result was obtained in the hormonal combination 0.2 mg / l ANA + 0.2 mg / l KIN, with a length of 26.01 mm per outbreak.

Keywords: Papaya, *in vitro* micropropagation, germination, brotamiento.

1. INTRODUCCIÓN

En Ecuador la papaya (*Carica papaya* L.), es una especie importante en la economía del país, debido a su fruta de alto rendimiento y valor nutritivo, al contenido de vitaminas, proteínas y elementos indispensables para el organismo, ampliamente apreciada por ser uno de los pocos frutales con producción continua durante todo el año después de iniciada la fructificación (Saldaña, 2012).

Su principal forma de consumo es como fruta fresca, aunque en algunos países la explotan para extraer el látex que contiene la fruta inmadura, del cual principalmente se obtiene la papaína, una enzima proteolítica utilizada como base de ablandadores de carne y otros usos industriales y farmacológicos (Peréz, 2008).

La producción de papaya representa hoy en día uno de los productos con mayor demanda en los mercados mundiales, generando ingresos a las familias dedicadas a su cultivo, debido a que las exportaciones agrícolas han aumentado su participación porcentual en la economía nacional en las últimas tres décadas. A nivel nacional, Santo Domingo de los Tsáchilas es la provincia que más produce papaya en monocultivo (30%) con una producción de 316 ha, distribuidas en 131 UPAs. Guayas es la segunda mayor productora de *Carica papaya* bajo el mismo sistema, con una superficie cosechada de 231 ha repartidas en 373 UPAs. En el caso de estar asociada, la provincia de Esmeraldas es la que más área posee (17%), seguida de Morona Santiago (16%), Manabí (14%) y Guayas (11%) (Solagro, 2014).

Como muchos otros cultivos agrícolas, la papaya puede ser afectada por diferentes plagas y enfermedades que reducen la longevidad de las plantaciones, así como su producción y calidad de frutos. Dentro de las enfermedades se destacan las producidas por virus, provocando cuantiosos daños al cultivo (Lorenzetti *et al.*, 2013). El método convencional para el cultivo de papaya a través de semillas es heterogéneo como resultado de la polinización cruzada (Bhattacharya, 2011).

Lesbel, Morales y González (2000) mencionan que la papaya emite varios tipos de flores con diferente proporción de hembras, machos y hermafroditas y cada una origina un tipo diferente de fruto en cuanto a forma y calidad, principalmente dificulta la producción y comercialización de semillas entre los productores de este cultivo.

Esta problemática productiva crea un ambiente ideal y necesario para investigar protocolos de propagación sexual en condiciones de cultivo *in vitro* como una alternativa eficaz para la conservación y perdurabilidad de los recursos fitogenéticos.

Es por ello, que es de gran importancia realizar estudios alternativos que permitan la protección y difusión de la especie, ya que aún no se ha reportado investigaciones suficientes acerca del desarrollo de protocolos de propagación *in vitro* de *Carica papaya* L. El cultivo de tejidos *in vitro* constituye una opción eficaz para propagar plantas, con ello se puede obtener plántulas con desarrollo homogéneo, libres de patógenos; asimismo, incrementar el número de individuos por unidad de superficie, optimizando el uso de factores ambientales y nutricionales y con ello conservar el genotipo de especies promisorias.

En ese sentido, el propósito de esta investigación fue validar un protocolo para la producción de plantas de papaya mediante la técnica de cultivo *in vitro* que permitan aprovechar el material vegetal de *Carica papaya* L, facilitando el acceso a la información de metodologías que puedan aumentar el porcentaje de formación de brotes, a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de plantas germinadas *in vitro*; siendo posible continuar con las siguientes fases para obtener plantas de *Carica papaya* L., libres de plagas y enfermedades; y, un desarrollo de plantas homogéneo.

Los objetivos que orientaron la presente investigación fueron:

Objetivo General

- Contribuir al establecimiento de la metodología para la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.; y a la interacción de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento en la fase de brotamiento.

Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de ácido giberélico (AG₃) aplicando distintas concentraciones en la germinación de semillas de *Carica papaya* L.
- Probar el efecto del balance hormonal auxina-citoquinina, en la fase de crecimiento y desarrollo de brotes a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Carica papaya* L.
- 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. Descripción de la especie *Carica papaya* L.

La papaya es un frutal tropical que en los últimos cinco años ha sostenido mayor crecimiento en las zonas costeras de Ecuador. Posee sabor agradable, un alto valor nutritivo al ser una fuente excelente de vitamina C, alto contenido de fibra y folato, que es una vitamina B requerida para la producción de glóbulos rojos normales, además de ser un gran auxiliar para la digestión, la papaya roja es rica en vitamina A (Franco, 2014).

El uso de la papaína como ablandador natural de carnes y en la industria cervecera como clarificador, al ser una planta de fácil crecimiento y producción temprana de frutos permite tener una tasa interna de retorno rápida y en casos con tecnología adecuada alta, han hecho que la papaya esté cobrando gran importancia en los últimos años (Franco, 2014).

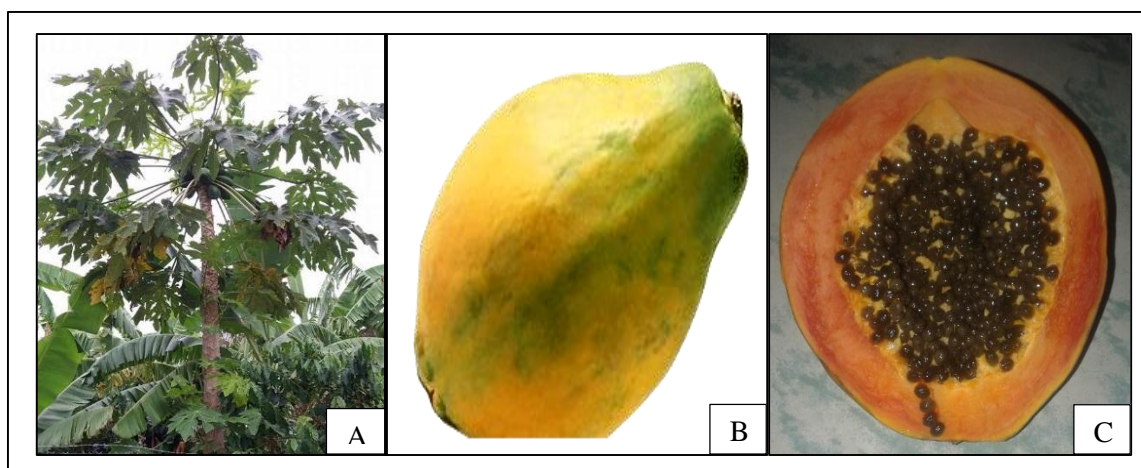


Figura 1. A) Árbol de *Carica papaya* L. B) Frutos de *Carica papaya* L.; y, C) Semilla de *Carica papaya* L.

2.1.1. Origen

El papayo es originario de América Central (Sur de México), actualmente se cultiva en Florida, Hawái, África Oriental, Británica, Sudáfrica, Ceilán, India, Islas Canarias, Archipiélago Malayo y Australia. Fue descrita por primera vez en 1526 por el cronista español Oviedo, quien la encontró en las costas de Panamá y Colombia.

La dispersión de la papaya a grandes rasgos, inicia aproximadamente en el año 1500 de nuestra era, cuando los españoles llevaron semillas a Panamá y República Dominicana. En el siglo correspondiente, marinos y portugueses las llevaron a Filipinas, Malasia y la India (Alvaréz, 2010).

2.1.2. Taxonomía

La *Carica papaya* L. se la conoce en la mayoría de países con los nombres comunes: Papaya, Lechosa, Fruta bomba, entre otras.

Taxonómicamente presenta la siguiente clasificación:

- Reino:** Vegetal
- Subreino:** Embriofita
- División:** Antophyta
- Subdivisión:** Angiospermas
- Clase:** Dicotiledonea
- Orden:** Parietales
- Familia:** Caricaceae
- Género:** *Carica*
- Especie:** *papaya* (Carisem, 2000).

2.1.3. Descripción morfológica

El papayo es una planta con tallo delgado y erecto, de crecimiento rápido, sencillo o algunas veces ramificado, algo flexible de 2 a 10 metros de altura, cilíndrico, suave, esponjoso-fibroso, hueco de color gris o café grisáceo, de 10 a 30 centímetros de diámetro y endurecido por la presencia de cicatrices grandes y prominentes, causadas por la caída de las hojas e inflorescencias.

Las hojas son abroqueladas con pecíolos hueco y cilíndricos cerca del limbo, algo achatadas en el punto de unión con el tronco. El limbo de las hojas es grande, palmeada con lóbulos profundos, dentados, de color verde oscuro en el haz y verde claro en el envés estas se caen a medida que el árbol crece dejando cicatrices en la corteza. Las nervaduras son hundidas de color blanco amarillento.

La raíz es nabiforme, crece casi vertical en terrenos profundos, su estructura es similar a la del tallo, excepto en su corteza que es blanca.

Las inflorescencias son axilares, colgantes y brácteas. El fruto es una baya ovoide, oblonga, periforme o casi cilíndrica, grande, carnoso de color verde amarillento a anaranjado o amarillo cuando madura. Presenta numerosas semillas aparéntales de color negro, arredondeadas u ovoides, encerradas en un arilo transparente sub-ácido, sus cotiledones son ovoide-oblongo aplanados y de color blanco (Barros, 2009).

2.1.4. Problemas del cultivo

Primero: La complejidad de sus manifestaciones sexuales. Sus tipos florales están mezclados de diferentes maneras, dando lugar a árboles de diversa naturaleza sexual, las plantas hembra, son homocigóticas con respecto al gen de la femineidad, mientras que las hermafroditas y machos también lo llevan, pero de manera recesiva. Lo ideal sería propagar plantas hermafroditas del tipo elongata que garantizan muy buena producción. Sin embargo, el mayor inconveniente está en que el sexo solo puede ser determinado cuando sus flores broten, provocando grandes pérdidas debido al descarte de plantas improductivas (Rodríguez, 1967).

Segundo: Otro problema grave es la extremada susceptibilidad que presenta a las enfermedades, de las cuales, dos causan grandes pérdidas económicas: *Collototrichum gloesporioides* (antracnosis) y el virus de la mancha anular (PSRV) siendo el factor más limitante de este cultivo; afecta el rendimiento, el tamaño de la fruta como la calidad de la misma y es la que se encuentra más ampliamente distribuida en las zonas productoras del mundo, originando pérdidas en la producción que van del 5% al 100% (Edward, *et al.*, 2012).

2.1.5. Zonas e importancia del cultivo de papaya

En el Ecuador, esta caricácea es muy importante ya que 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.

En nuestro país se cultiva esta fruta tanto en zonas tropicales como subtropicales, siendo la provincia de Loja una zona para la subsistencia del cultivo de papaya y que se da en los cantones de Catamayo, Espíndola, Paltas, Macará, Sozoranga y Puyango. (Prefectura Loja, 2011).

2.2. Consideraciones generales sobre la Micropropagación

2.2.1. Micropropagación

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, polen, etc.). Por otra parte, es el resultado de la proliferación de brotes, que son multiplicados en condiciones asépticas y elementos químicos para su desarrollo ideal (Hartman y Kester, 1997).

Existen dos tipos de propagación de plantas que se observan en la naturaleza: sexual (por semilla) y asexual (vegetativamente), en las cuales se puede lograr una diversidad de técnicas de siembra dependiendo del tipo de especie que se vaya a propagar (Mulliken, 1998).

2.2.2. Propagación *in vitro*

La expresión cultivo *in vitro* de plantas, es una manera de cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia (ausencia de gérmenes), y el control de los factores que afectan el crecimiento. La micropropagación es una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo *in vitro*, a través de la micropropagación, a partir de un fragmento (explante) de una planta madre, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. La tecnología de cultivo *in vitro* permite mejorar el acceso a una gran cantidad de plantas a partir de cantidades mínimas de material vegetal (Castillo, 2004).

2.2.3. Ventajas y desventajas de la micropropagación

Según Seemann (1993), la micropropagación es una técnica que ha mostrado importantes ventajas en comparación con los métodos convencionales de propagación en algunas especies. Estas ventajas se pueden resumir como sigue:

- Incremento acelerado del número de plantas derivadas por genotipo.
- Reducción del tiempo de multiplicación.
- Posibilidad de multiplicar grandes cantidades de plantas en una superficie reducida, a bajos costos y en tiempos económicamente rentables.

- Mayor control sobre la sanidad del material que se propaga.
- Facilidad para transportar el material *in vitro* de un país a otro con menos restricciones aduaneras.
- Posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual sólo existan pocos individuos.

Hartman y Kester (1997) mencionan que la micropropagación a escala comercial posee características particulares que podrían crear problemas y por ende limitan su uso. Estas desventajas se pueden resumir como sigue:

- Requerimiento de costoso y sofisticado material de trabajo, entrenamiento del personal y especialización técnica.
- Alto costo inicial de las labores.
- La contaminación puede causar altas pérdidas en corto tiempo.
- Se requiere un volumen alto, más o menos continuo en el sistema de distribución de materiales e insumos.

2.2.4. Selección del inóculo

La micropropagación puede iniciarse a partir de cualquier parte de la planta: órganos, tejidos o células, es por eso que la selección del inóculo depende de los objetivos que persigue la investigación. Si la especie aun no es investigada *in vitro* se recomienda usar diferentes fuentes de inóculos como: hojas, tallo, meristemos, semillas, flores. Para la elección del inóculo es importante considerar la calidad de la planta madre, edad fisiológica tanto de la planta madre como del inóculo, la época del año y el tipo y tamaño del inóculo (Barba, *et al.* 2001).

2.3. Factores externos en la micropropagación

2.3.1. Planta donante

La selección de la planta donante es fundamental en la reproducción clonal; la planta madre 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).

2.3.2. 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).

2.3.3. Explante

Explante es cualquier parte vegetal que ha sido separada de la planta, que puede ser un tejido (fragmentos de hojas, tallos, raíces, pétalos, etc.). Con excepción de los óvulos y el polen, los explantes están constituidos por tejidos y/o células somáticas. Cuando se extrae un explante de la planta se debe tener en cuenta el tamaño, la fuente, la edad fisiológica del mismo. La asepsia de los explantes y las condiciones de esterilidad, donde se desarrolla el proceso de establecimiento del material vegetal *in vitro*, es de vital importancia para el éxito de la técnica de cultivo de tejidos vegetales (Ramos, 2012).

Según Suárez (2011), el manejo de los explante se tiene que realizar de la siguiente forma.

- **Preparación del explante:** una vez seleccionada la planta y la parte de la planta que dará origen al material, se limpia y lava cuidadosamente, luego se elimina parte del tejido externo y posteriormente se procede a la desinfección superficial.
- **Escisión del explante:** se debe hacer todo dentro de la cámara de flujo y con todo el material esterilizado; después que el tejido esté lavado se puede colocar unos segundos sobre un papel filtro para que se seque un poco, luego se procede al aislamiento del explante que deseamos cultivar (embrión, meristemo, etc.) y lo introducimos en el medio destinado para su desarrollo en esta etapa.

2.4. Fases de la micropropagación

Remache (2011), menciona que dentro del proceso de micropropagación se pueden diferenciar varias fases, tales como: 1) Elección de la planta madre (donante) y explante, 2) Establecimiento o implantación *in vitro*, 3) Multiplicación o proliferación *in vitro*, 4) Enraizamiento *in vitro* y 5) Adaptación al suelo o aclimatación

2.4.1. Fase de elección de la planta madre y explante

Durante esta etapa se elige la planta madre a partir de la cual se obtiene el explante, el cultivo prácticamente puede iniciarse a partir de cualquier parte de la planta. Sin embargo, Jiménez (1998), menciona que 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.

2.4.2. Fase de establecimiento o implantación *in vitro*

Una vez seleccionado el mejor explante, es necesario desinfectarlo superficialmente, para evitar la contaminación por microorganismos como bacterias y hongos, que pueden crecer en el medio de cultivo y competir con el explante. Para la desinfección se pueden emplear diferentes compuestos, siendo los más comunes las soluciones de hipoclorito de sodio y de calcio, el peróxido de hidrógeno, el nitrato de plata, el cloro comercial, el alcohol a diferentes porcentajes, entre otros.

La selección y concentración de los desinfectantes y el tiempo de desinfección se determinan, en gran medida, por las características del explante; pero en la práctica, generalmente se establecen experimentalmente por ensayo y error (Villalobos y Thorpe 1991).

Marín (2009), menciona que el inicio del cultivo es una fase muy delicada en la que la porción de tejido vegetal que sirve de inóculo (explante) debe sobre sobrevivir al aislamiento del resto de la planta original y comenzar el crecimiento *in vitro*.

El medio de cultivo debe proporcionar al explante todo lo que necesita para vivir y desarrollarse: nutrientes (sales minerales y compuestos orgánicos como azúcares y vitaminas) y reguladores de crecimiento que estimulen su desarrollo. Existen dos factores que son particularmente importantes en el establecimiento del cultivo: el explante y la esterilización.

Los ingredientes del medio en el que se cultivará el explante dependen de la respuesta que se busque obtener. Si se desea proliferación de brotes axilares se añadirán citocininas y si se desea obtener callos se utilizarán auxinas. Generalmente se usa sacarosa como fuente de carbono y minerales dependiendo del tipo de planta. El medio basal más usado para esta etapa es el medio Murashige-Skoog (MS) (Castillo, 2008). La fase del establecimiento *in vitro* termina cuando se logra tener cultivos en crecimiento.

2.4.3. Fase de multiplicación o proliferación *in vitro*

Durante la fase de multiplicación se espera observar que los explantes que sobrevivieron la fase anterior originen nuevos brotes con varias hojas. Periódicamente estos brotes se tienen que subcultivar en un nuevo medio para aumentar el número de plantas, esta actividad se debe realizar en una cámara de flujo laminar o en un lugar que permita mantener condiciones asépticas.

En esta etapa los medios de cultivo, los reguladores del crecimiento como auxinas, giberelinas y citocininas y las condiciones de crecimiento juegan un papel muy importante sobre la multiplicación clonal de los explantes, ya que se pretende lograr la mayor tasa de multiplicación vegetativa (Remache, 2011).

Jácome (2012), menciona que la fase de multiplicación o proliferación comprende dos etapas:

- 1) Etapa de inducción:** implica el empleo de altas concentraciones de reguladores del crecimiento (generalmente de auxinas más que de citocininas), para favorecer la dediferenciación.
- 2) Etapa de multiplicación:** requiere un balance hormonal adecuado para favorecer los procesos de diferenciación y multiplicación celular, durante esta fase el sistema es más dependiente de citocininas.

2.4.5. Fase de enraizamiento *in vitro*

Villalobos y Thorpe (1991) manifiestan que el proceso de enraizamiento en los brotes propagados *in vitro* requiere generalmente del trasplante a un medio de cultivo con menor concentración de sales. 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 citocininas y aumentar las auxinas exógenas. En algunas especies, la eliminación de las citocininas exógenas ha sido suficiente estímulo para la diferenciación del sistema radical.

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 para 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 (Rodríguez, 2012).

2.4.6. Fase de adaptación al suelo o aclimatación

Finalmente, se lleva a cabo la última etapa de la micropropagación, que consiste en la adaptación al suelo. Los explantes enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o fracaso de todo el proceso depende de la aclimatación, es por esto que la adaptación al suelo se considera como crítica, pues hay muchas probabilidades de que la planta muera por no estar bien acondicionada (Segretín, 2010).

2.5. 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 y Mroginski, 1991).

Cuadro 1. Composición de medios de cultivo para células vegetales

COMPONENTES	CARACTERÍSTICAS
Agua destilada	Representa el 95 % del medio nutriente
Fuente de carbono	Generalmente se usa sacarosa. La fuente de carbono se necesita porque los explantes no son completamente autótrofos, y no pueden cubrir sus necesidades con la fotosíntesis que pueden realizar <i>in vitro</i> .
Sustancias inorgánicas	Macroelementos (N, P, K, Ca, Mg, S) y microelementos (Fe, Co, Zn, Ni, B, Al, Mn, Mo, Cu, I) en una proporciones adecuada según la planta elegida.

Continuación cuadro 1..

Vitaminas	Vitaminas B1, B2, B6, Vitamina H, Vitamina E.
Hormonas y reguladores de crecimiento	Auxinas: Promueven la elongación celular, la formación de callos y raíces adventicias, inhiben la formación de brotes axilares adventicios y, a veces inhiben la embriogénesis. Citoquininas: promueven la división celular, regulan el crecimiento y el desarrollo de los tejidos vegetales.
	Otras: giberelinas, ácido abscísico, etileno.
Mezcla de sustancias poco definidas	Extracto de levadura, extractos vegetales
Materiales inertes	Se usan como soporte: agar, agarosa, otros polisacáridos, lana de vidrio, papel de filtro, arena

Fuente: Biotecnología (UNQ, 2006)

2.5.1. Reguladores de Crecimiento

Los reguladores de crecimiento se refieren al conjunto de productos sintéticos que influyen en el crecimiento y desarrollo de las plantas, como también a las hormonas que son compuestos orgánicos sintetizados por las mismas plantas. Las sustancias hormonales críticas en el cultivo de tejidos son las auxinas y citoquininas, estas intervienen en la elongación y división celular, formación de brotes y raíces, y en la germinación de las semillas (Pierik, 1990).

Las hormonas reguladoras del crecimiento son compuestos orgánicos importantes que se incluyen en el medio de cultivo, el tipo y concentración empleada de estos en el medio de cultivo depende del objetivo del cultivo *in vitro* (Jordan y Casaretto, 2006).

A medida que se han identificado un mayor número de reguladores de crecimiento y estudiado los efectos y concentraciones endógenas, se ha hecho evidente que cada uno de ellos no sólo influye en las respuestas de muchas partes del vegetal, sino que tales respuestas dependen de la especie, del órgano del vegetal, del estado de desarrollo, de las concentraciones endógenas y exógenas, de las interacciones entre reguladores de crecimiento y de diversos factores ambientales. Por lo tanto, es riesgoso generalizar acerca

de los efectos de los reguladores de crecimiento sobre los procesos de crecimiento y desarrollo en un tejido u órgano vegetal en particular (Salisbury y Ross, 2001).

2.5.1.1. Auxinas.

Son un grupo de fitohormonas que tienen la capacidad de producir un agrandamiento y alargamiento celular, y al mismo tiempo, promueven la división celular (formación de callos) y formación de raíces adventicias en el cultivo de tejidos. Además, promueven la dominancia apical o inhibición del desarrollo de las yemas laterales por la yema apical (Mroginski y Roca, 1991). Con una baja concentración de auxina predomina la formación de raíces adventicias, mientras que con altas concentraciones de auxina no se producen raíces, en su lugar se produce la formación de callo (Pierik, 1990).

Las auxinas (IAA, IBA, NAA o 2,4-D) se añaden frecuentemente a los medios nutritivos. El IAA, que se produce de forma natural en las plantas, se añade en concentraciones de 0,01 - 10 mgL⁻¹. Las auxinas sintéticas, y relativamente más activas (IBA, NAA, y 2,4-D), se utilizan en concentraciones de 0,001 - 10 mg/L. La utilización del 2,4-D se debería limitar al máximo, ya que puede inducir mutaciones. También el 2,4-D puede inhibir la fotosíntesis, cosa que no ocurre con otras auxinas como NAA, IBA e IAA. A veces la adición de auxinas estimula el crecimiento de plántulas (Suárez, 2011).

2.5.1.2. Citoquininas.

Las citocininas o citoquininas son derivados de la adenina que promueven la división celular. Entre las más utilizadas están: BAP (6-Bencilaminopurina), KIN (kinetina o 6-furfuril aminopurina), Zea (Zeatina), 2-iP (N-isopentenil adenina). Las dos primeras son citoquininas sintéticas y las dos últimas naturales. Las Citoquininas producen efectos fisiológicos como división celular, regulación de la morfogénesis, rompimiento de la dominancia apical, retraso de la senescencia foliar, promoción de la maduración de los cloroplastos. Las Citoquininas en interacción con las auxinas, regulan la diferenciación *in vitro*. La relación elevada de citoquininas/auxinas produce tallos, la relación baja de citoquininas/auxinas produce raíces (Krikorian, 1982). Las citoquininas son producidas en las zonas de crecimiento como los meristemos, en la punta de las raíces (zonas próximas del ápice) y son transportadas vía acropétala (de abajo hacia arriba), moviéndose a través de la savia en los vasos correspondientes al xilema desde el

ápice de la raíz hasta el tallo o brote, estimulando la división celular en tejidos no meristemáticos (Suárez, 2011).

2.5.1.3. Giberelinas

Las giberelinas son esencialmente hormonas estimulantes del crecimiento al igual que las auxinas, coincidiendo con éstas en algunos de sus efectos biológicos, ya que estimulan la elongación de tallos y estimulan germinación de semillas en numerosas especies (Soberón *et al.*, 2005), la elongación de tallos, el desarrollo de raíces y la floración (Gray y Estelle, 1998).

Las giberelinas inducen la elongación de los entrenudos y el crecimiento de los meristemos o yemas *in vitro*. También pueden romper la dormancia de embriones aislados o yemas, generalmente inhiben la formación de raíces adventicias y también la formación de vástagos adventicios, (Pierik, 1990). Las giberelinas especialmente el AG₃, han demostrado ser necesarias para el cultivo de ápices o meristemas caulinares de varias especies vegetales (Mroginski y Roca, 1991).

2.6. Factores ambientales de incubación

- **Luz.** - El comportamiento de muchos cultivos depende de la calidad, intensidad y fotoperiodo de la luz que reciben, dado que varias enzimas involucradas en el desarrollo y en el metabolismo secundario son influenciadas por la luz. La mayoría de los cultivos desarrollan a una intensidad luminosa entre 5 a 25 W/m² (1000 a 5000 lux). Si bien la calidad de la luz puede determinar diferentes respuestas morfogénicas, en general se utiliza luz blanca, pobre en longitudes de onda larga (Ramos, 2012).
- **Temperatura.** - La mayoría de tejidos en cultivos crecen bien en temperaturas próximas a los 25°C ± 2°C, pero hay que tener presentes las temperaturas usuales a las que crecen usualmente las especies de las cuales se obtienen los explantes (Serrano, *et al.* 1991).
- **Humedad.** - La Humedad en condiciones *in vitro* la humedad dentro de los recipientes es casi 100 %. Por eso la planta *in vitro* en general no desarrolla adecuados sistemas de regulación hídrica tales como cera, estomas, cutículas, etc. (Abdelnour y Escalant, 1994).

- **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).

2.7. Estudios similares sobre germinación y brotamiento de *Carica papaya* L.

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales resulta una herramienta potente, básica y necesaria, en la propagación de plantas que presentan dificultad para multiplicarse vegetativamente, abarcando una serie de técnicas para su manipulación y control. 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 pueden requerir un ajuste de acuerdo a la especie (Bacchetta, *et al.*, 2008). El éxito en el cultivo de tejidos depende de la selección del medio de cultivo, incluyendo su composición química y su forma física.

Pérez (2000), señala que las semillas de *Carica papaya* L., están protegidas por una cubierta de tejido duro, lo que hace suponer que, en estado natural, las estructuras internas de las semillas se encuentran libres de hongos y de bacterias, por lo tanto, si se extraen e inoculan en condiciones asépticas podrían germinar y desarrollarse *in vitro* sin problemas de contaminación

Entre las principales fuentes de contaminación se citan los explantes, el ambiente de los locales de trabajo, los operadores y las técnicas deficientes de esterilización. Además, los microorganismos pueden diseminarse por ácaros, trips y hormigas (Pype, Everaert y Debergh, 1996). El ambiente de los locales de trabajo es una fuente de contaminación, ya sea directa o indirectamente. Se plantea que a través de las corrientes de aire, las partículas del suelo cargadas de esporas y células de microorganismos son arrastradas y penetran por los acondicionadores de aire, son transportadas e introducidas por el hombre y permanecen en el ambiente por condiciones higiénicas inadecuadas (Hernández, 2010).

Muñoz (2009), Analizó la introducción y germinación de semillas *in vitro* de *Vasconcellea pubescens* a partir de la evaluación de diferentes desinfectantes y la composición nutritiva del medio de cultivo con diferentes concentraciones de AG3, siendo con la germinación de

semillas provenientes de Chovellén, se obtuvo como resultado que con los tratamientos 0 o 1 mgL⁻¹ de GA3 en el medio MS se obtiene la mayor respuesta germinativa de 30% y 33% aproximadamente el primer mes.

Romero (2012) estudio la germinación *in vitro* y propagación clonal de papaya Maradol, evaluando tres concentraciones de MS y el establecimiento de dos tipos de explantes en la propagación, obteniendo como resultado que al sembrar semillas en MS 100 fueron las primeras en romper la mesotesta, a treinta días de la siembra se obtuvo un 90 % de germinación. En cuanto a la inducción de brotación múltiple de yemas apicales y axilares, procedentes de plántulas germinadas *in vitro* de cuatro meses de edad, en el medio MS 100 %, complementado con ANA y BAP, ambos con 0.1 mg L⁻¹, obtuvieron como resultado para los explantes de yemas axilares un promedio de 2.8 brotes y de explantes de yemas apicales un promedio de 1.25 brotes.

Guzmán y 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, después 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.

Roque y Ardisana (2006) estudiaron la obtención de posturas de papaya (*Carica papaya* L.) var. Maradol roja por cultivo *in vitro* de segmentos nodales de plantas jóvenes, en donde evaluaron la influencia de la 6-BAP y la kinetina, obteniendo que con kinetina se alcanzó un promedio de dos brotes por cada segmento nodal establecido, lo cual evidencia que fue posible la formación de brotes secundarios que procedían de yemas axilares primarios. En esta variable la kinetina en las tres concentraciones empleadas (2.32, 4.6, 9.2 $\mu\text{mol.L}^{-1}$), fue el regulador del crecimiento que mostró los mejores resultados, sin diferir estadísticamente entre sí, por lo que la menor concentración resulta la más recomendable desde el punto de vista económico.

Medero y 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 AG3. Logrando obtener apareamiento de callos y que el tamaño promedio de longitud de brotes no sobrepasaba los 2 cm.

Solis y Olivera (2011) desarrollaron un protocolo de propagación *in vitro* de la variedad de papaya PTM-331 a partir de meristemos 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 AG3, con un coeficiente de multiplicación de 3,42 brotes promedio y una longitud de 15,41 mm.

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 AG3 y 0,05 mg/l ANA), permitió 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. METODOLOGÍA

3.1. Ubicación del Área de Estudio

La investigación se desarrolló en dos fases: campo y laboratorio.

3.1.1. Fase de campo.

La recolección del material vegetal necesario para establecer los diferentes ensayos planteados en los objetivos de estudio se realizó en la parroquia El Tambo, perteneciente al cantón Catamayo de la provincia de Loja. Está localizado al Sur-Este del Cantón Catamayo, al Norte del Río Catamayo que corresponde a la zona alta de la Cuenca hidrográfica del Río Catamayo-Chira, en la región interandina del Ecuador. Se encuentra a 50 Km de la ciudad de Loja, en el centro de la Provincia de Loja. Ubicado geográficamente entre las siguientes coordenadas:

Latitud: 04°01'32'' y 04°02'44'' Sur

Longitud: 79°11'18'' y 79°12'38'' Oeste; y,

Altitud: 1300 a 2800 msnm.

Según la clasificación bioclimática y ecológica del Ecuador (Cañadas, 1983), la zona de influencia de la parroquia El Tambo posee un clima subtropical seco; y, de acuerdo a los pisos altitudinales la zona se clasifica en Bosque Seco Pre montano (bs-PM), Bosque Seco Montano bajo (bs-MB), Bosque Seco Montano (bs-M), su temperatura media es de 19,06 °C, con una precipitación anual 739,44 mm y humedad relativa 71,96%.

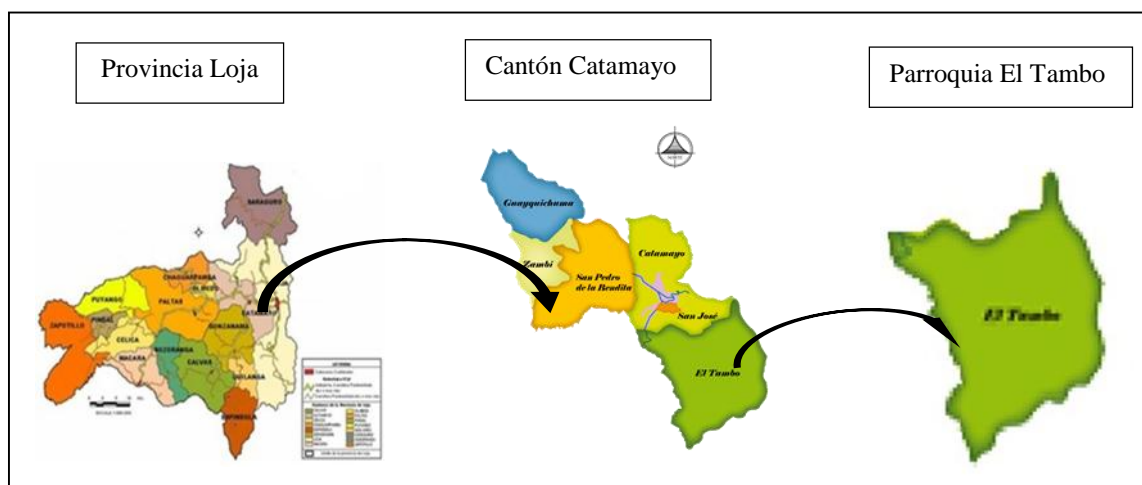


Figura 2. Mapa de ubicación de la parroquia El Tambo.

3.1.2. Fase de laboratorio

Se realizó 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, ubicado a 3 km de la ciudad de Loja entre las siguientes coordenadas geográficas:

- Latitud: 04° 00' 00" S
- Longitud: 79° 12' 00" O
- Altitud: 2 135 msnm

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 %. El clima según Kuppen es templado lluvioso (Sierra, 2012).



Figura 3. Mapa de ubicación del Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja.

3.2. Metodología para evaluar el efecto de AG3 aplicando distintas concentraciones en la germinación de semillas de *Carica papaya* L.

3.2.1. Selección de frutos.

Se seleccionó árboles de sexo hermafrodita de la variedad “Criolla”, tomando en cuenta que estuvieran en buenas condiciones fitosanitarias, con buena cantidad y calidad de frutos; y, estado óptimo de vigor, para posteriormente con la ayuda de una podadora proceder a cortar los frutos con pedúnculo teniendo presente las siguientes características sobresalientes de forma, tamaño, madurez fisiológica y saneamiento, efectuado el corte se envolvió los frutos en papel periódico humedecido y fueron colocados en una funda de papel para ser trasladados al Laboratorio de Micropropagación Vegetal, para su pre-desinfección (Figura 4, 5 y 6).



Figura 4. Selección del material vegetal (*Carica papaya* L.) en campo. Loja-2016



Figura 5. Colecta de fruto en campo de *Carica papaya* L. Loja-2016



Figura 6. Preparación del material vegetal (*Carica papaya* L.) para su traslado al laboratorio. Loja-2016

3.2.2. Desinfección de frutos

Se seleccionó un fruto, en buenas condiciones fisiológicas (tamaño, forma y estado de madurez) y fitosanitarias (libres de plagas y enfermedades), los primeros pasos de desinfección se realizó dentro del área de preparación y lavado, en donde se lavó externamente el fruto con detergente más agua corriente; y, con la ayuda de una esponja se eliminó toda impureza, se realizó enjuagues con agua destilada, se roció alcohol al 70% quedando listo para ser llevado a la cámara de flujo laminar, inmersión en la solución de hipoclorito de sodio en concentraciones del 50% por 30 minutos (Figura 7), dentro de cámara se cortó los extremos del fruto con la ayuda de un cuchillo estéril y se extirpó una tajada, con la ayuda de espátula y pinza se tomaron las semillas maduras y con un bisturí

se eliminó la sarcotesta, estas semillas no fueron desinfectadas debido a que se encuentran dentro del fruto y por lo tanto están libres de patógeno (Figura 8).

Cabe destacar que se ejecutaron tres ensayos, el primer ensayo constó de la siembra de semillas de *Carica papaya* L. sin escarificación de la mesotesta, el segundo ensayo con escarificación de la mesotesta para ayudar al proceso germinativo, estos dos primeros ensayos fueron realizados en laboratorio dentro de cámara de flujo laminar; y, el tercer ensayo donde se extrajo la sarcotesta de las semillas y se secaron al ambiente por 3 días, para luego ser llevadas al laboratorio.



Figura 7. Desinfección del fruto dentro de la cámara de flujo laminar. Loja-2016



Figura 8. Extracción de semillas de *Carica papaya* L. Loja-2016.

3.2.3. Preparación del medio de cultivo.

Se preparó el medio de cultivo con las sales minerales MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado con 1 mg/l de tiamina, 100 mg/l de mio-inositol, sacarosa como fuente de carbohidratos al 3.0%, agar 0.6% como agente gelificante y ácido giberélico (AG_3) en tres concentraciones: 0.0; 1.0 y 1.5 mg/l (Muñoz, 2009), (Figura 9.). En este medio de cultivo se ensayó tres tratamientos con tres repeticiones cada uno (Cuadro 2). El pH se ajustó a 5.8 ± 0.2 con ácido clorhídrico (HCL) o hidróxido de sodio (NaOH) (Figura 10).

Se distribuyó 10 ml de medio de cultivo en cada tubo de ensayo para ser esterilizados en autoclave a 120 °C de temperatura y 1,5 kg/cm² de presión, durante 25 minutos.



Figura 9. Sales minerales del MS y Suplementos para la preparación de medio de cultivo para germinación. Loja -2016.



Figura 10. Preparación del medio de cultivo Murashige & Skoog, suplementado con Ags. Loja -2016.

3.2.4. Siembra *in vitro* de semillas y condiciones de incubación.

La inoculación *in vitro* de las semillas de *Carica papaya* L., se realizó en la cámara de flujo laminar en condiciones asépticas, se extirpó la mesotesta de las semillas y se procedió a sembrarlas, colocando una semilla por tubo de ensayo (Figura 11).

Posteriormente, se identificó cada uno de los tratamientos, luego fueron trasladados al cuarto de incubación, donde se mantuvieron a una temperatura de ± 23 °C y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad (Figura 12).



Figura 11. Siembra *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L. Loja -2016



Figura 12. Identificación según tratamientos de *Carica papaya* L, en medio de germinación Loja -2016

3.2.5. Diseño Experimental para la fase de germinación *in vitro* de *Carica papaya* L.

Se utilizó un diseño complementa al azar (DCA), con 3 tratamientos y 3 repeticiones.

FACTORES	NIVELES
Concentraciones de AG₃	0.0 mg/l
	1.0 mg/l
	1.5 mg/l

En el cuadro 2 se observa los tratamientos evaluados en la germinación de semillas de *Carica papaya* L.

Cuadro 2. Descripción de los diferentes tratamientos para la germinación de semillas de *Carica papaya* L., en diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG₃)

TRATAMIENTO	AG₃	CÓDIGO
T1	0.0 mg/l	T1
T2	1.0 mg/l	T2
T3	1.5 mg/l	T3

3.2.5.1. Especificaciones del diseño experimental

Unidad experimental (conjunto de tubos de ensayo)	15
Número de tratamientos	3
Número de repeticiones	3
Número de unidades experimentales por tratamiento	5
Número de total de tubos de ensayo por tratamiento	45
Número total de unidades experimentales del ensayo	15
Número total de tubos para el ensayo	135
Número de semillas por unidad experimental	15
Número total de semillas	135

3.2.5.2. Unidad experimental y evaluación

La unidad experimental fue el conjunto de 15 tubos de ensayo, para lo cual se inoculo una semilla por tubo de ensayo. Las variables que se evaluaron fueron: porcentaje de contaminación, porcentaje de germinación, días a la germinación y porcentaje de mortalidad. Para la evaluación de contaminación de semillas de *Carica papaya* L. se tomaron registros cada tres días durante el lapso de 30 días a partir de la siembra (Cuadro 3).

Cuadro 3. Hoja de registro de datos, para evaluar la variable porcentaje de contaminación en la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.

Especie:			
Fecha de siembra:			
Fecha de evaluación:			
Tratamiento N°:			
N° de tubos de ensayo	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3
	N° de semillas contaminadas	N° de semillas contaminadas	N° de semillas contaminadas

Para la evaluación del porcentaje de germinación, días a la germinación y porcentaje de mortalidad de *Carica papaya* L., se tomaron registros cada cinco días, durante el lapso de 30 días a partir de la siembra (Cuadro 4).

Cuadro 4. Hoja de registro de datos, para evaluar las variables en la fase de germinación de *Carica papaya* L.

Especie:									
Fecha de siembra:									
Fecha de evaluación:									
Tratamiento N°:									
N° de tubos de ensayo	Repetición 1			Repetición 2			Repetición 3		
	Días a la germinación	N° de semillas germinadas	N° de plantas muertas	Días a la germinación	N° de semillas germinadas	N° de plantas muertas	Días a la germinación	N° de semillas germinadas	N° de plantas muertas

3.2.6. Hipótesis del modelo

H₀. El efecto del ácido giberélico, aplicado a las semillas en diferentes concentraciones no influye en la germinación de semillas de *Carica papaya* L., entre tratamientos.

H₁. El efecto del ácido giberélico, aplicado a las semillas en diferentes concentraciones influye favorablemente a la germinación de semillas de *Carica papaya* L., entre tratamientos.

3.2.7. Análisis estadístico de datos de germinación *in vitro* de *Carica papaya* L.

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos en las diferentes variables evaluadas en la fase de germinación *in vitro* de *Carica papaya* L., se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo et al. 2008) versión 2014, en el cual se realizó un 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 los distintos ensayos. En el Cuadro 5 se presenta la matriz con las variables empleadas para el análisis de varianza.

Cuadro 5. Matriz de variables usadas para el análisis de la información de germinación *in vitro* de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² 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)					
C.V: coeficiente de variación					
E.E: error estándar					

3.3. Metodología para probar el efecto del balance hormonal auxina-citoquinina, en la fase de crecimiento y desarrollo de brotes a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Carica papaya* L.

La metodología para la fase de brotamiento de explantes de *Carica papaya* L., se tomó en base a la metodología utilizada por Guzmán y Manzo (2003), quienes obtuvieron los mejores resultados de brotamiento de brotes *Carica papaya* L., con la aplicación de 2,0 mg/l BAP; 0,2 mg/l ANA, alcanzando un promedio de 5,0 brotes formados por explante.

A partir de ello, en el presente trabajo de investigación se probó concentraciones similares a las utilizadas por (Guzmán y Manzo, 2003), en México.

3.3.1. Obtención y selección de explantes de *Carica papaya* L.

Para esta fase se utilizó vitroplantas, a partir de la germinación de semillas *in vitro* de 5 cm de altura promedio, con 1 a 2 nudos.

3.3.2. Preparación del medio de cultivo.

El medio de cultivo estuvo constituido por las sales minerales MS (Murashige & Skoog, 1962), suplementado con 1 mg/l de tiamina, 100 mg/l de mio-Inositol, sacarosa como fuente de carbohidratos al 2 %, agar 0,6 % como agente gelificante y se adicionó la interacción de tres hormonas ANA, BAP y KIN en distintas concentraciones (Figura 13). En este medio de cultivo se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con cuatro tratamientos y tres repeticiones (Cuadro 6). El pH se ajustó a 5.8 ± 0.2 con HCL o NaOH (Figura 14 y 15).

El medio de cultivo fue distribuido en frascos de vidrio aproximadamente 25 ml en cada frasco de vidrio para ser esterilizados en autoclave a 120 °C de temperatura y 1,5 kg/cm² de presión, durante 25 minutos.



Figura 13. Sales minerales del MS y Suplementos para la preparación de medio de cultivo para brotamiento. Loja- 2016



Figura 14. Preparación de medio de cultivo MS suplementado con Auxinas-Citoquininas. Loja-2016.



Figura 15. Medición del pH de medio de cultivo Murashige & Skoog. Loja-2016.

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 asépticas, sobre cajas Petri estériles se realizó la disección de

los explantes (ápices caulinares y segmentos nodales) con un promedio de dos nudos y un tamaño de 2 a 3 cm, una vez obtenidos los explantes se procedió a sembrarlos, a razón de dos explantes por cada frasco (Figura 16).

Posteriormente se identificó cada uno de los tratamientos para su traslado al cuarto de incubación, en donde se mantuvieron a una temperatura de ± 23 °C y fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad (Figura 17).



Figura 16. Diseción de ápices caulinares y segmentos nodales de *Carica papaya* L., para la fase de brotamiento. Loja-2016



Figura 17. Siembra de segmentos nodales y ápices caulinares de *Carica papaya* L., en medio para brotamiento. Loja-2016

3.3.4. Diseño experimental para la fase de brotamiento de *Carica papaya* L.

Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), en arreglo factorial 2x2, con 4 tratamientos y 3 repeticiones.

FACTORES	NIVELES
Tipo de auxinas- citoquininas	ANA (A1)
	BAP (B1)
	KIN (K1)
Dosis en mg/l	0.2 mg/l (D1)
	2.0 mg/l (D2)

En el cuadro 6 se observa la definición de los tratamientos evaluados en la interacción de auxinas–citoquininas en el crecimiento y desarrollo de brotes, a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Carica papaya* L.

Cuadro 6. Tratamientos para evaluar la interacción de auxinas–citoquininas en el crecimiento y desarrollo de brotes de *Carica papaya* L.

TRATAMIENTO	AUXINAS/CITOQUININAS	CÓDIGO
T1	0,2 mg/l de ANA + 0,2 mg/l de BAP	T1 = A1B1D1
T2	0,2 mg/l de ANA + 2,0 mg/l de BAP	T2 = A1B1D2
T3	0,2 mg/l de ANA + 0,2 mg/l de KIN	T3 = A1K1D1
T4	0,2 mg/l de ANA + 2,0 mg/l de KIN	T4 = A1K1D2

3.3.4.1. Especificaciones del diseño experimental

Unidad experimental (conjunto de frascos)	5
Número de tratamientos	4
Numero de repeticiones	3
Número de unidades experimentales por tratamiento	3
Número de total de frascos por tratamiento	15
Número total de unidades experimentales del ensayo	12
Número total de explantes por frasco	2
Numero de explantes por unidad experimental	10
Número total de explantes	120

3.3.4.2. Unidad Experimental y evaluación

La unidad experimental fue el conjunto de cinco frascos de vidrio, para lo cual se inocularon 10 explantes, 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, número de brotes por explante, número de nudos por brotes y número de hojas por brote. Para la evaluación de contaminación y mortalidad de los explantes de *Carica papaya* L., se tomaron registros cada tres días durante el lapso de 30 días a partir de la siembra (Cuadro 7).

Cuadro 7. Hoja de registro de datos, para evaluar las variables: porcentaje de contaminación y mortalidad en fase de brotamiento *in vitro* de explantes de *Carica papaya* L.

Especie:						
Fecha de siembra:						
Fecha de evaluación:						
Tratamiento N°:						
Frasco	Repetición 1		Repetición 2		Repetición 3	
	Explante muerto	Explante contaminado	Explante muerto	Explante contaminado	Explante muerto	Explante contaminado

Para la evaluación de longitud de brotes (mm), número de brotes por explante, número de nudos por brotes y número de hojas por brote de *Carica papaya* L., se tomaron registros cada cinco días y durante el lapso de 90 días a partir de la siembra (Cuadro 8).

Cuadro 8. Hoja de registro de datos, para evaluar las variables en la fase de brotamiento de explantes de *Carica papaya* L.

Especie:				
Fecha de siembra:				
Fecha de evaluación:				
Tratamiento N°:				
Frasco	Repetición #			
	Longitud brote (mm)	Número de brotes	Número de nudos/brote	Número de hojas/brote

3.3.5. Hipótesis del modelo

H₀. La aplicación de diferentes concentraciones de auxinas y citoquininas, no promueven la elongación y división celular para la formación de brotes de los ápices caulinares de *Carica papaya* L., entre tratamientos.

H₁. La aplicación de diferentes concentraciones de auxinas y citoquininas, promueven favorablemente la elongación y división celular para la formación de brotes de los ápices caulinares de *Carica papaya* L., entre tratamientos.

3.3.6. Análisis estadístico de datos

Para el análisis estadístico de los datos obtenidos en cada uno de los ensayos se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2008) versión 2014, en el cual se realizó en análisis de varianza ANAVA 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 los distintos ensayos. En el Cuadro 9 se presenta la matriz con las medidas resumen empleada para el análisis de la información.

Cuadro 9. Matriz de medidas usadas para el análisis de la información de brotamiento *in vitro* de *Carica papaya*.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² 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 ($p > 0,05$)					
C.V: coeficiente de variación					
E.E: error estándar					

3.4. Metodología para la difusión de los resultados de la investigación a los actores involucrados, 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 de quinto 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 FARNR.

4. RESULTADOS

4.1 Fase de germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.

4.1.1. Ensayo 1 (Sin escarificación de mesotesta de semillas de *Carica papaya* L.)

4.1.1.1. Porcentaje de contaminación.

Las semillas de *Carica papaya* L., utilizadas para la fase de germinación *in vitro* no se realizó desinfección debido a que las semillas se encuentran dentro del fruto y por lo tanto están libres de patógeno, a pesar de ello se evidenció un bajo porcentaje de contaminación (Anexo 1).

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

4.1.1.2. Porcentaje de semillas germinadas.

En los resultados obtenidos en la germinación *in vitro* (Figura 19) aplicando distintas concentraciones de ácido giberélico (AG_3), se pudo determinar que los datos presentaron una mínima variabilidad, con un coeficiente de variación (CV) de 12,24 %. De la misma manera, el análisis de varianza (ANOVA), mostró que existieron diferencias significativas entre tratamientos con una $p= 0,0302$ (Anexo 3), donde se observó que el tratamiento con mayor porcentaje de germinación fue el T3 (1.5 mg/l AG_3) con un valor de 51,11 % frente al tratamiento T1 (0.0 mg/l AG_3) que presentó un promedio de germinación del 33,33 %. Los valores promedios del porcentaje de germinación se presentan en la Figura 18.

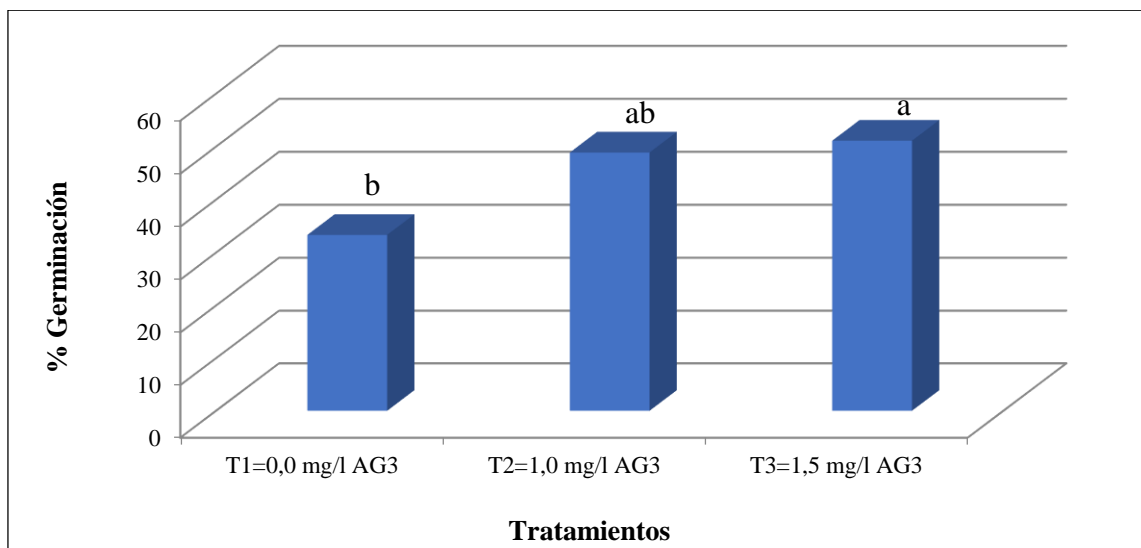


Figura 18. Porcentaje de germinación de los diferentes tratamientos aplicados en la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

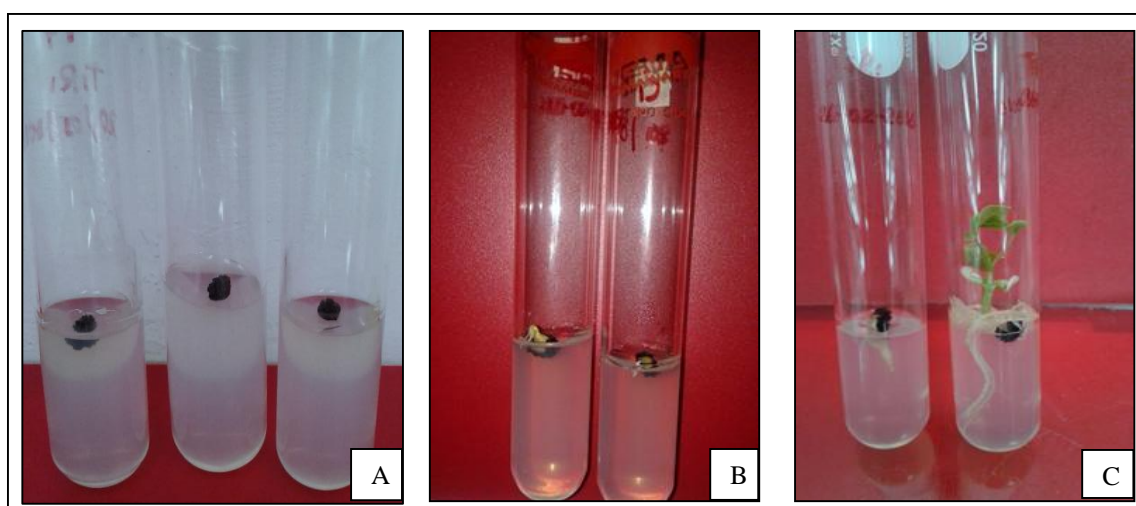


Figura 19. A), B) y C) Germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L., sin escarificación de mesotesta. Laboratorio de Micropropagación Vegetal - UNL. 2016

4.1.1.3. Número de días a la germinación.

En general la velocidad de germinación fue similar para los dos primeros tratamientos evaluados, iniciando la germinación a los 26 días, el T1 con un porcentaje de 2,22 %, estabilizándose a los 80, días con un porcentaje de 33,33 %; para el T2, se evidenció un porcentaje de germinación de 4,44 %, estabilizándose a los 84 días, con 48,89 % ;y,

tratamiento T3 presentó un porcentaje de germinación de 2,22 % a los 30 días de evaluación, estabilizándose a los 80 días, con un porcentaje de 51,11 % (Figura 20; Anexo 1).

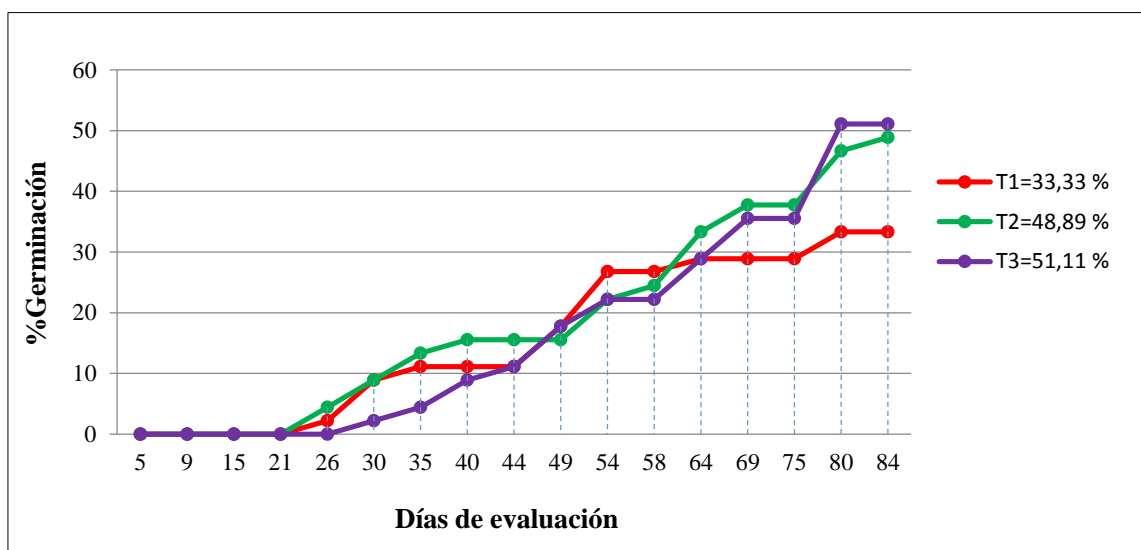


Figura 20. Curva de germinación acumulativa de los distintos tratamientos aplicados para la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.

4.1.1.4. Porcentaje de mortalidad.

En lo referente a la variable porcentaje de mortalidad, no se presentó mortalidad alguna para los distintos tratamientos, durante los 30 días de evaluación realizada (Anexo 1).

4.1.2. Ensayo 2 (Escarificación de mesotesta de semillas de *Carica papaya* L.)

4.1.2.1. Porcentaje de contaminación.

En lo referente a la evaluación de la variable de contaminación (Anexo 4), según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se pudo determinar que no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos con una $p=0,1111$ (Anexo 5).

4.1.2.3. Porcentaje de semillas germinadas.

En cuanto a la variable porcentaje de germinación (Anexo 4; Figura 21), según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se determinó que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos con una $p=0,3726$ (Anexo 6).



Figura 21. A) y B) Germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L., con escarificación de mesotesta. Laboratorio de Micropropagación Vegetal-UNL. 2016.

4.1.2.4. Número de días a la germinación.

La germinación se evidenció a los 20 días para los tres tratamientos, presentando el T1, T2 y T3 un porcentaje de germinación de 17,78; 8,89 y 6,67 % respectivamente, estabilizándose todos los tratamientos a los 45 días con 68,89; 60,00 y 71,11 % (Figura 22; Anexo 4).

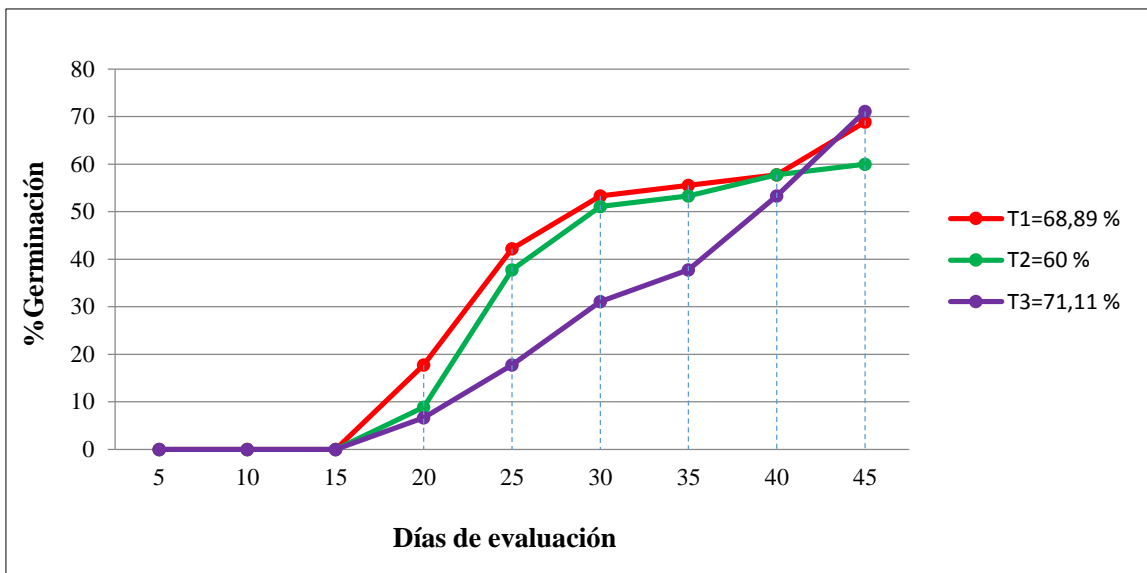


Figura 22. Curva de germinación acumulativa de los distintos tratamientos aplicados para la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.

4.1.2.5. Porcentaje de mortalidad.

En lo referente a la variable porcentaje de mortalidad, no se presentó mortalidad alguna para los distintos tratamientos, durante los 30 días de realizada la evaluación (Anexo 4).

4.1.3. Ensayo 3 (Extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días).

4.1.3.1. Porcentaje de contaminación.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el porcentaje de contaminación (Anexo 7), se pudo determinar que no existen diferencias significativas entre tratamientos con una $p=0.0677$ (Anexo 8).

4.1.3.2. Porcentaje de germinación.

En cuanto a la variable germinación (Anexo7; Figura 23), se pudo determinar que no existieron diferencias significativas entre tratamientos con una $p=0,0682$ (Anexo 9).

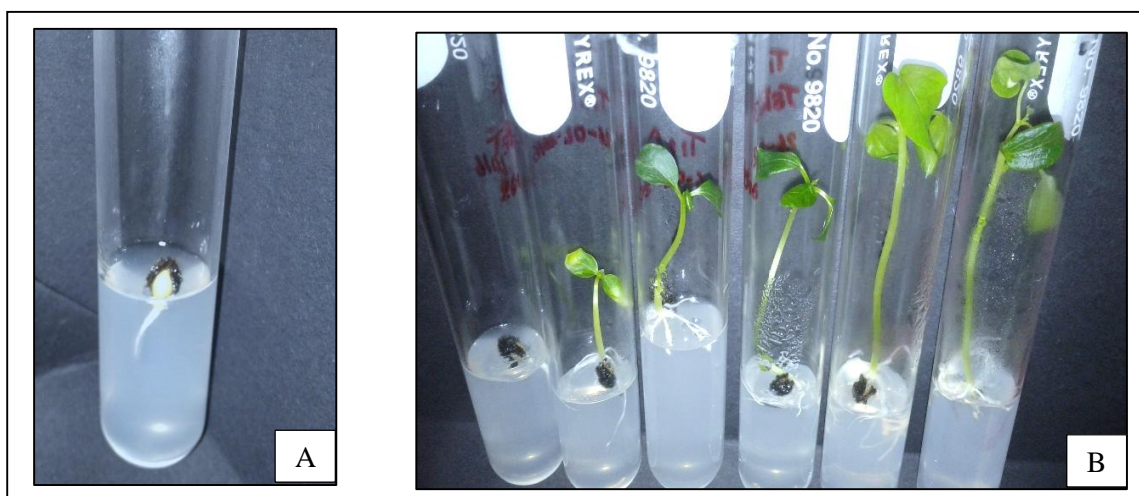


Figura 23. A) y B) - UNL. 2016. Germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L., con extracción de sarcotesta y secado al ambiente. Laboratorio de Micropropagación Vegetal.

4.1.3.3. Número de días a la germinación

La velocidad de germinación fue similar para los tres tratamientos evaluados iniciando la germinación al doceavo día, presentando el T3 un porcentaje de 33,33 %, estabilizándose a los 42 días con un porcentaje de 48,89 %; el T2 evidenció un porcentaje de germinación de 11,11 %, estabilizándose a los 33 días con 40,00 %; y, el tratamiento T1 presentó un

porcentaje de germinación de 2,22 %, estabilizándose a los 22 días con un porcentaje del 20,00 % (Figura 24; Anexo 7)

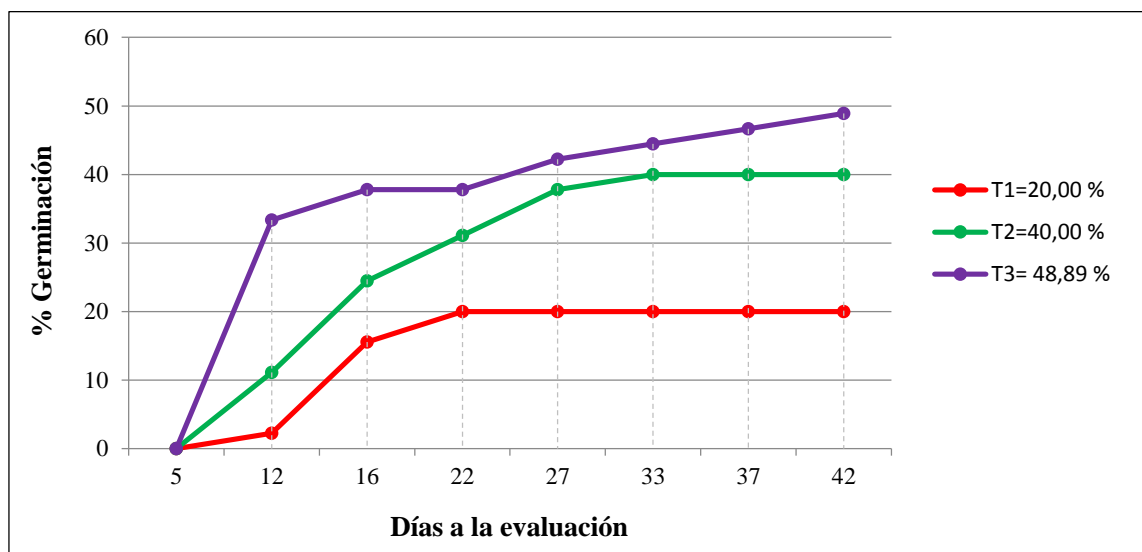


Figura 24. Curva de germinación acumulativa de los distintos tratamientos aplicados para la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.

4.1.3.4. Porcentaje de mortalidad

En lo referente a la evaluación de la variable de mortalidad (Anexo 7), según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se pudo determinar que no existió diferencias significativas entre tratamientos con una $p=0,2842$ (Anexo 10).

4.2. Fase de brotamiento *in vitro* de explantes de (ápices caulinares y segmentos nodales) de vitroplantas de *Carica Papaya* L.

4.2.1. Porcentaje de contaminación.

Los explantes de *Carica papaya* L., utilizados para el ensayo de brotamiento *in vitro*, no fueron desinfectados por tratarse de material aséptico proveniente de plántulas germinadas en condiciones controladas de laboratorio (vitroplantas), a pesar de ello se evidenció un mínimo porcentaje de contaminación (Anexo 11).

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el porcentaje de contaminación, se pudo determinar que no existieron diferencias significativas entre tratamientos con una $p=0,1565$ (Anexo 12).

4.2.2. Porcentaje de mortalidad

En lo referente a la evaluación de la variable de mortalidad (Anexo 11), según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado, se pudo determinar que no existieron diferencias significativas entre tratamientos con una $p= 0,4547$ (Anexo 13).

4.2.5. Número de brotes/explante

En la variable número de brotes formados por explantes (Figura 26), se pudo determinar que los datos presentaron baja variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 20,65 %. De la misma manera el análisis de varianza (ANOVA), indicó que existe diferencias significativas entre tratamientos con una $p= 0,0075$ (Anexo 14), donde se observó que el mejor tratamiento es el T1 (0.2 mg/l ANA + 2.0 mg/l BAP), el cual presentó un promedio de brotamiento por explante de 6,00, frente a los tratamientos T3 (0.2 mg/l ANA + 2.0 mg/l KIN) y T4 (0.2 mg/l ANA + 2.0 mg/l KIN) que no mostraron diferencias significativas entre tratamientos. Figura 25.

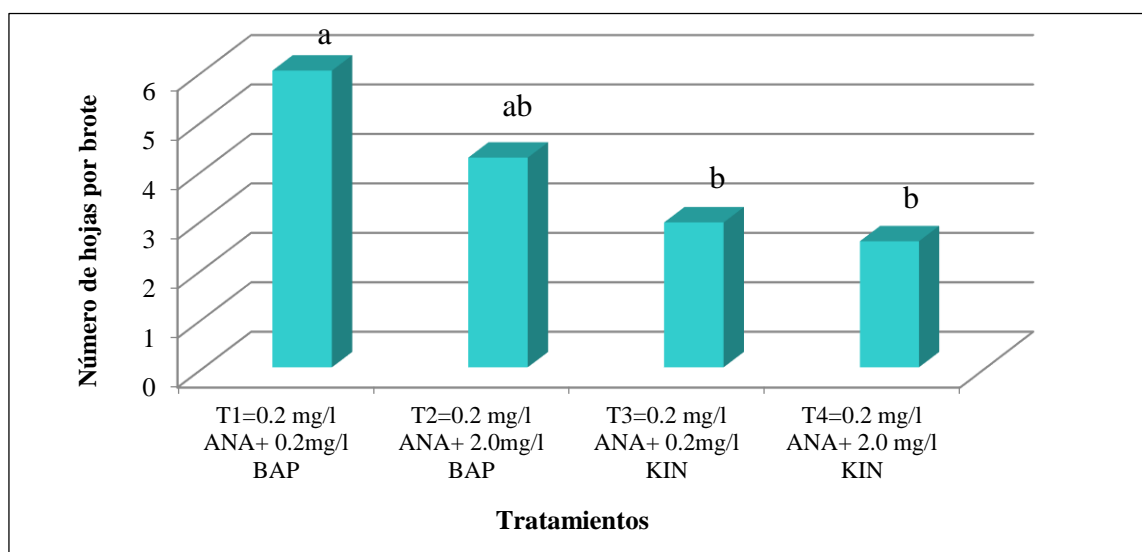


Figura 25. Brotamiento de explantes de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de brotamiento *in vitro*. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

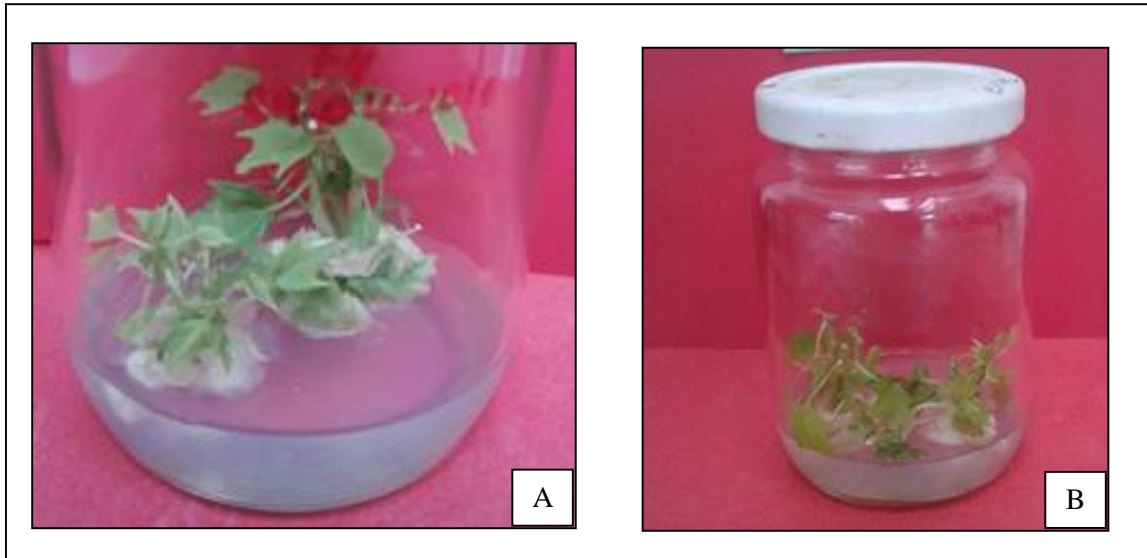


Figura 26. A) y B) Brotamiento *in vitro* de explantes de *Carica papaya* L. Laboratorio de Micropropagación Vegetal- UNL. 2016.

4.2.6. Longitud de los brotes (mm)

En lo referente a la variable longitud de brotes por explante (Anexo 11), según el análisis de varianza (ANOVA) se pudo determinar que no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos con una $p=0,0611$ (Anexo 15).

4.2.7. Número de hojas formadas por brote

Para la variable número de hojas por brote, se pudo determinar que los datos presentaron alta variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 15,51 %. De la misma manera el análisis de varianza (ANOVA), mostró diferencias significativas entre tratamientos con una $p=0,0053$ (Anexo 16), donde se observó que el mejor tratamiento es T1 (0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l BAP), con un número de hojas promedio por brote de 5,17; frente a los tratamientos T3 (0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l KIN) y T4 (0.2 mg/l ANA + 2.0 mg/l KIN) que presentaron un promedio de hojas por brote de 2,52 y 3,05 respectivamente. Los valores promedios para el número de hojas por brote se presentan en la Figura 27.

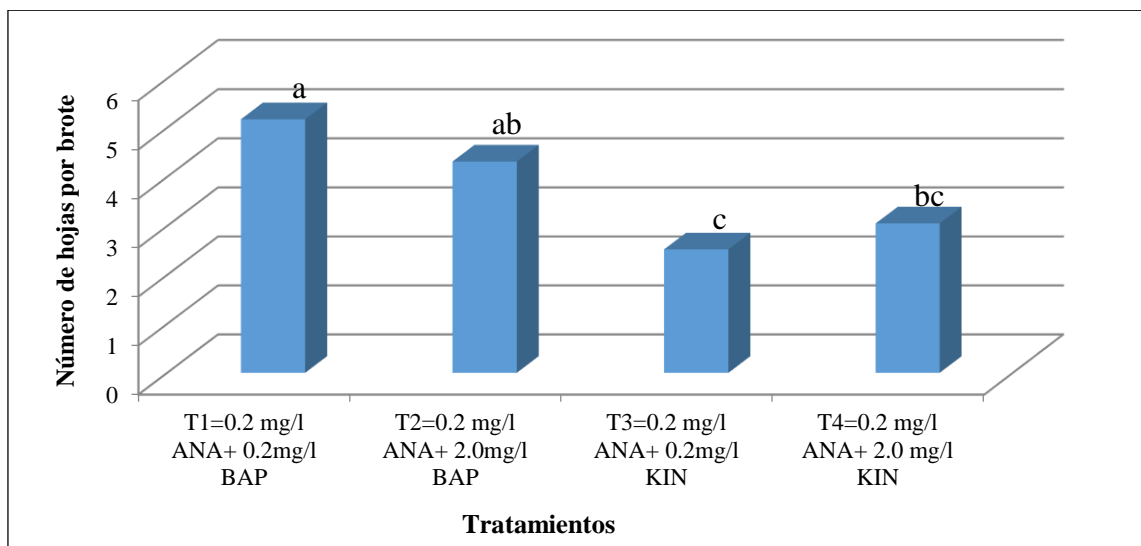


Figura 27. Promedio de hojas por brotes de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de brotamiento *in vitro*. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

4.2.8. Número de nudos/brote

Para la variable número de nudos por brote, se pudo determinar que los datos presentaron alta variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 15,51%. De la misma manera el análisis de varianza (ANOVA), mostró diferencias significativas entre tratamientos con una $p= 0,0053$ (Anexo 17), donde se observó que el mejor tratamiento es T1 (0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l BAP), con un promedio de 5,14 nudos por brote; frente a los tratamientos T3 (0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l KIN) y T4 (0.2 mg/l ANA + 2.0 mg/l KIN) que presentaron un promedio de nudos por brote de 2,52 y 3,05 respectivamente. Los valores promedios para el número de nudos por brote se presentan en la Figura 28.

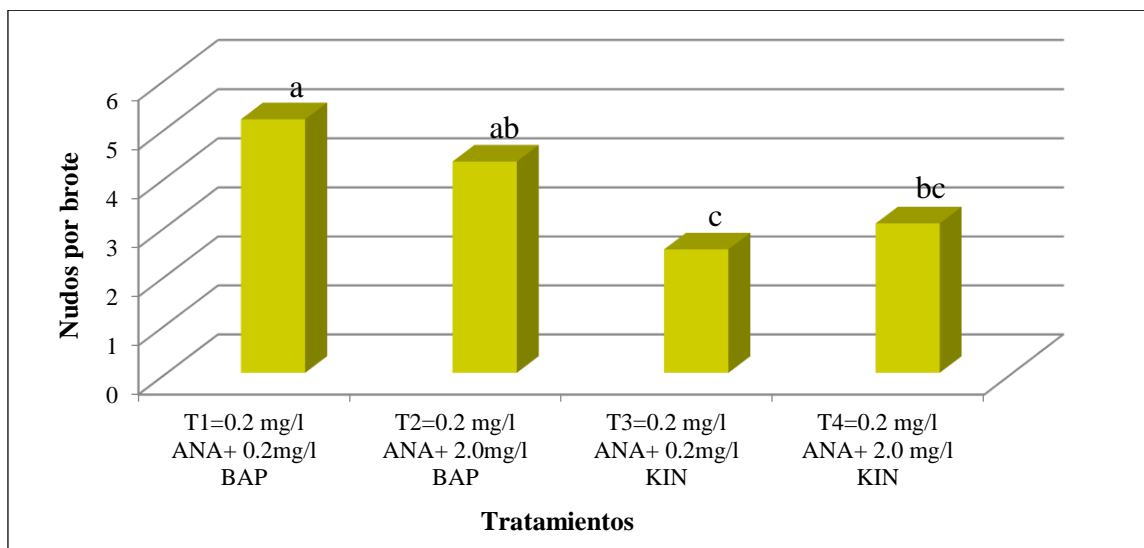


Figura 28. Promedio del número de nudos por brotes de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de brotamiento, medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

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 difusión de los resultados.

En primera instancia se realizó la socialización del proyecto de tesis al equipo técnico del Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, donde se logró aportar con sugerencias y recomendaciones para futuras investigaciones con esta especie. Así mismo, se realizó una exposición de la investigación a los estudiantes del quinto año de la Carrera de Ingeniería Agronómica (Figura 29; Anexo 18), con el propósito de enriquecer y fortalecer sus conocimientos técnico-científicos en su formación como futuros ingenieros agrónomos. Además, se elaboró y entregó un tríptico divulgativo (Anexo 19), 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.

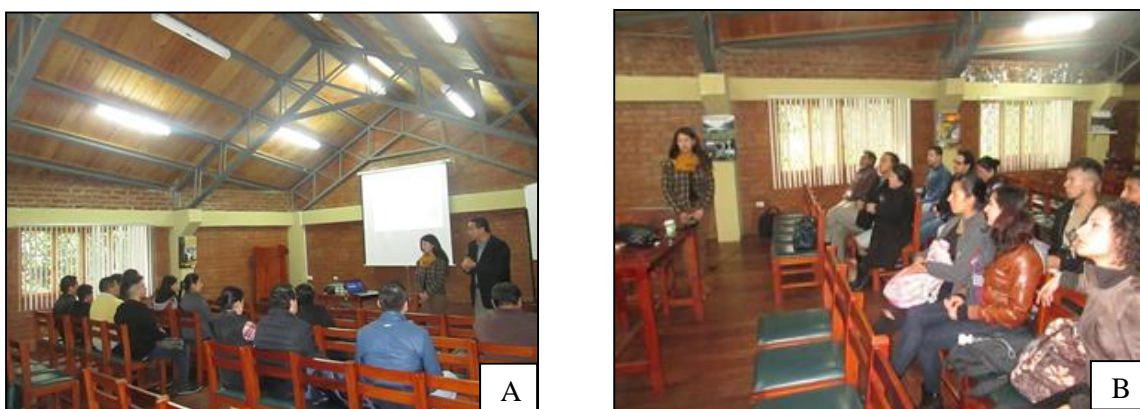


Figura 29. A) y B) Difusión de Resultados de Tesis al Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Quinto Año de la Carrera de Ingeniería Agronómica. Jardín Botánico Reinaldo Espinosa-UNL. 2016

5. DISCUSIÓN

5.1. Fase de germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.

En la presente investigación en la fase de germinación de *Carica papaya* L., la ejecución de diferentes ensayos y distintas concentraciones de ácido giberélico (AG₃) experimentadas, no mostraron diferencias significativas entre tratamientos por ensayo, para la variable porcentaje de contaminación; sin embargo, en el ensayo 1 (sin escarificación de mesotesta) y ensayo 2 (con escarificación de mesotesta), se presentó una contaminación mínima (2,22 y 4,44 %), debido a que las semillas se encontraron dentro del fruto y, por lo tanto, estuvieron libres de patógenos. Muñoz (2009), manifiesta que las semillas de *Carica papaya* L., están protegidas por la mesotesta, lo que hace suponer que, en estado natural las estructuras internas de las semillas se encuentran libres de hongos y de bacterias, por lo tanto, si se extraen e inoculan en condiciones asépticas podrían germinar y desarrollarse *in vitro* sin problemas de contaminación.

Por otra parte, el ensayo 3 (extracción de sarcotesta y secado al ambiente por 3 días), en comparación con los dos ensayos anteriores presentó un alto porcentaje (82,22 %) de contaminación, esto pudo deberse a factores exógenos ya que las semillas estuvieron expuestas al ambiente por tres días y pudieron haber sido contaminadas por microorganismos infecciosos, pues Pype, *et al.*, (1996), entre las principales fuentes de contaminación citan los explantes, el ambiente de los locales de trabajo, los operadores y las técnicas deficientes de esterilización.

Las hormonas desempeñan un papel muy importante en la fisiología de las semillas, en la mayoría el AG₃ mejora la velocidad de germinación, el porcentaje de germinación y apoya al crecimiento inicial de las plántulas (Hartman y Kester, 1997).

La evaluación de diferentes ensayos y distintas concentraciones de ácido giberélico (AG₃) ensayadas, no mostraron diferencias significativas entre tratamientos, pero mostraron diferencias estadísticas numéricas, siendo el ensayo 2 (con escarificación de mesotesta) el que mejor porcentaje de germinación alcanzó respecto de los otros dos ensayos, con una concentración de 1,5 mg/l AG₃, donde se obtuvo un promedio de 71,11 % de germinación respectivamente, contrario a los resultados realizados por Muñoz (2009), quién al evaluar la germinación de semillas *in vitro* de *Vasconcellea pubescens* a partir de la evaluación de diferentes desinfectantes y diferentes concentraciones de AG₃, obtuvo que con 0.0 y 1.0

mgL⁻¹ de GA₃ en el medio MS se obtiene la mayor respuesta germinativa de 30% y 33% aproximadamente el primer mes.

Con respecto a los días de germinación para el tratamiento T3 (1.5 mg/l AG₃) se presentó a los 20 días y se estabilizó a los 45 días de haber sido inoculadas las semillas con un porcentaje del 71,11% de germinación, estos resultados difieren a los obtenidos por Romero (2012), quién obtuvo 90 % de germinación a los treinta días de la siembra de papaya Maradol con una concentración al 100 % de las sales del medio de cultivo de MS (Murashige & Skoog). En general el tratamiento con mayor dosis de AG₃ y con escarificación de la mesotesta se obtiene los mejores porcentajes de germinación, puesto que al realizar escarificación en la semilla se acelera en forma notable la velocidad de germinación.

Estos resultados corroboran lo mencionado por Zurita (2014), quién señala que la germinación *in vitro* tiene ventajas frente a la propagación sexual por semillas, ya que pueden aumentar la tasa de germinación, reducir el tiempo y homogenizar la germinación.

5.2. Fase de brotamiento *in vitro* de ápices caulinares y segmentos nodales de *Carica papaya* L.

En la presente investigación las vitroplantas utilizadas para la fase brotamiento de *Carica papaya* L., se vieron afectados por agentes contaminantes en un porcentaje de 13,33 %, esto posiblemente debido a factores exógenos, puesto que la contaminación se puede presentar incluso cuando se trabaja con material aséptico, según Hernández, (2010), el ambiente de los locales de trabajo es una fuente de contaminación, ya sea directa o indirectamente. Se plantea que, a través de las corrientes de aire, las partículas del suelo cargadas de esporas y células de microorganismos son arrastradas y penetran por los acondicionadores de aire, son transportadas e introducidas por el hombre y permanecen en el ambiente por condiciones higiénicas inadecuadas. 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.

Los tejidos vegetales en condiciones *in vitro* crecen y se desarrollan si el medio de cultivo es suplementado con reguladores de crecimiento o vitaminas pueden requerir un ajuste de

acuerdo a la especie (Bacchetta, *et al.* 2008). El éxito en el cultivo de tejidos depende de la selección del medio de cultivo, incluyendo su composición química y su forma física.

Castillo (2004), manifiesta que durante esta fase de brotamiento se espera que los explantes originen brotes axilares con varios nudos y hojas. De acuerdo a los resultados de la presente investigación en el ensayo de brotamiento *in vitro* de ápices caulinares y segmentos nodales, la combinación hormonal (auxina- citoquinina) que resultó ser la más efectiva corresponde al T1 (0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l BAP), donde se alcanzó un promedio de formación de 6.00 brotes/explante, un promedio de 5.17 hojas/brote y un promedio de 5.14 nudos/brote, para la variable longitud de brote a pesar de no existir diferencias estadísticas, hubieron diferencias numéricas, siendo la concentración hormonal 0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l KIN, cuyos brotes alcanzaron un tamaño de 26,01 mm; resultados que se corroboran con los obtenidos por Guzmán y Manzo (2003), quienes al utilizar concentraciones de 2,0 mg/l BAP, 0,2 mg/l ANA, para la multiplicación de brotes en plantas hermafroditas de (*Carica papaya* L.) var. Red Lady, obtuvieron un promedio 5,0 brotes por explante, aproximadamente de 1 cm de longitud.

Sin embargo, estos resultados difieren con los obtenidos por Romero (2012), quién al utilizar una concentración de 0.1 mg L⁻¹ de ANA y BAP en la inducción de brotación múltiple de yemas apicales y yemas axilares provenientes de vitroplantas de papaya Maradol, obtuvo 2.8 brotes en explantes de yemas axilares y 1.25 brotes de explantes de yemas apicales, es decir que la combinación de estas dos hormonas resulta ser efectiva en el brotamiento *in vitro* de explantes a pesar de tener un promedio bajo de formación de brotes.

Roque y Ardisana (2006), quienes al usar 6-BAP y la kinetina, obtuvieron que con kinetina con una dosis de (2.32 $\mu\text{mol.L}^{-1}$), alcanzando un promedio de dos brotes por cada segmento nodal, lo cual evidencia que fue posible la formación de brotes secundarios que procedían de yemas axilares primarios. Medero y Pérez (2012), quienes estudiaron el efecto de diferentes reguladores de crecimiento en papaya (*Carica papaya* L.) var. "Maradol Roja", sobre la multiplicación y enraizamiento; determinando que la concentración hormonal 0,22 mg/l BAP, 0,05 mg/l ANA y 0,5-1,0 mg/l AG₃, fue las más efectivas obteniendo un tamaño promedio de longitud de brotes de 2 cm.

Solis y Olivera (2011), quienes al utilizar concentraciones de AIA, BAP y AG₃, en la multiplicación de explantes de *Carica papaya* L., obtuvo los mejores resultados en la

combinación hormonal (0,5 mg/l AIA + 0,5 mg/l BAP + 0,3 mg/l AG₃) y obtuvo resultados de (3,42 y 15,41 mm) en la formación de brotes y longitud.

Con ello se puede decir que tanto la auxina ANA como la citoquinina BAP en las concentraciones bajas utilizadas, respecto de los tratamientos aplicados en la presente investigación, son excelentes para la inducción en la formación de brotes, lo cual ANA provoca la formación de nuevos brotes y BAP promueve la división celular estimulando el crecimiento vegetativo de los explantes, permitiendo así la aparición de nudos y a su vez nuevas hojas.

6. CONCLUSIONES

- Los diferentes ensayos ejecutados en la fase de germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L., el mayor porcentaje de germinación (71,11 %) obtenido, fue con escarificación de mesotesta más una concentración de (1.5 mg/l AG₃).
- En la fase de brotamiento, con la interacción hormonal 0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l BAP, se obtuvo un mayor brotamiento (6,00 brotes/explante).
- En la fase de brotamiento, con la interacción hormonal 0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l BAP, se obtuvo mayor número de hojas en los explantes (5,17 hojas/explante) y mayor número de nudos en los explantes (5,14 nudos/explante).

7. RECOMENDACIONES

- Para la fase de brotamiento de *Carica papaya* L., realizar nuevos ensayos probando nuevas concentraciones de ANA + BAP, inferiores a (0,2 mg/g ANA + 0,2 mg/l BAP).
- Continuar con la investigación sobre protocolos para enraizamiento de *Carica papaya* L, probando nuevas concentraciones de auxinas-citoquininas; y, protocolos de adaptación de vitroplantas, ensayando diferentes sustratos en condiciones de invernadero.

8. BIBLIOGRAFÍA

Abdelnour, A., Escalant, J. (1994). Conceptos básicos de cultivo de tejidos vegetales. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Turrialba, Costa Rica. 43.

Alvaréz, E. (2010). *Guía técnica del cultivo de papaya*. Recuperado de <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/GUIA%20CULTIVO%20PAPAYA.pdf>

Bacchetta, G.; Bueno, A.; Fenu, G.; Jiménez, B.; Mattana, E.; Piotto, B. y Virevaire, M. (EDS). 2008. Conservación *ex situ* de plantas silvestres. Principado de Asturias - La Caixa.378.

Barros, G. G. (2009). Características Generales del Cultivo de papaya. *Corpoica*. pp.8-13.

Barba, J., Castillo, A. y Cronauer, S. (2001). *Generalidades del Cultivo in vitro*. Recuperado de [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2211/4_-_Cultivo_in_vitro.pdf?sequence=6](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/2211/4/_Cultivo_in_vitro.pdf?sequence=6)

Bazantes, K. S. (2016). *Establecimiento in vitro y multiplicación de brotes de Babaco (Vasconcellea x heilbornii) mediante el uso combinado de reguladores de crecimiento*. (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.

Bhattacharya, S. K. (2011). In vitro e in vivo de la germinación de papaya (*Carica papaya* L.) semillas. *Scientia Horticulturae*. 39-49.

Carisem, A. (2000). *El cultivo de la papaya Maradol Roja (Carica papaya L.) marca "carisem"*. La semilla del caribe. Gerencia de investigación y desarrollo. Folleto técnico. Guadalajara, México.30.

Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. INIA Las Brujas.

Castillo, A. (2008). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Las Brujas, Uruguay: Ar-vitro, Iinia. 8.

Díaz, G. (2012). *Procesos Morfogénicos in vitro de Cedro (Cedrela montana Moritz Ex Turcz.) Inducidos, a partir de semillas, para Propagación y Conservación de Germoplasma*. (Tesis de pregrado).Universidad Nacional de Loja, Loja, Ecuador.

- Di Rienzo et al, F. C. (2008). *InfoStat versión 2014*. Recuperado de https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=yumGXjoAAAJ&citation_for_view=yumGXjoAAAJ:zYLM7Y9cAGg
- Edward, A., Evans, y Ballen., F. H. (2012). Una mirada a la producción, el comercio y el consumo de papaya a nivel mundial. *Food and Resource Economics*, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida.
- Franco, L. (2014). *Investigación sobre de la papaya*. Recuperado de: <https://prezi.com/n4ejobjb1avh/investigacion-sobre-de-la-papaya/>.
- Gray, W., Estelle, M. (1998). Biochemical genetics of plant growth. *Curr. Opin. Biotechnol.* 196-201.
- Guzmán, S., Manzo, G. (2003). *Micropropagación de plantas hermafroditas de papaya Red Lady*. Facultad de Ciencias Biologicas y Agropecuarias. Colima-México.12.
- Hartman, H., & Kester, D. (1997). Propagación de plantas. *Continental*. México.(152). 746.
- Hernández, Y. (2010). Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento in vitro de frutales perennes . *Cultrop*. 31(4) La Habana. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362010000400015
- Jácome, J. (2012). *Establecimiento, inducción y evaluación a callogénesis in vitro de meristemas apicales de árboles jóvenes de romerillo (Podocarpus oleifolius) como futura estrategia de conservación de la especie en el Distrito Metropolitano de Quito*. Escuela Politécnica del Ejército, Quito, Ecuador
- Jiménez, G. (1998). Generalidades del Cultivo in vitro. En: J. Pérez Ponce (Ed). En *Propagación y Mejora de Plantas por Biotecnología*. 1 (11). IBP. Santa Clara. 13-24.
- Jordán, M., y Casaretto, J. (2006). *Hormonas y reguladores del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas*. Fisiología Vegetal. . Universidad de La Serena. La Serena- Chile.
- Krikorian, A. D. (1982). *Propagación clonal in vitro*. Departamento of Biochemistry, State University of New York at Stony Brook (SUNY), Nueva York, E.U.

- Lesbel, C. L.; Morales, L. A.; y González, M. A. (2000). *Fundamentos teórico – prácticos sobre el cultivo y cosecha de la papaya*. 1^{ra} Edición. Editorial Universitaria del Ministerio de Educación Superior. Cuba.
- Lorenzetti, E. R.; Rodríguez, D.; Alonso, M.; y Valero, L. (2013). Evaluación de accesiones cubanas de papaya (*Carica papaya* L.) ante la mancha anular. *Summa Phytopathol.* 39 (1). 24-27.
- Marín, J. (2009). *La micropropagación y la mejora de especies frutales*. Académia de Ciencias Exactas, Física, Química y Naturales de Zaragoza.35.
- Medero, V., y Pérez, M. (2012). *Micropropagación a partir de embriones cigóticos de la papaya (Carica papaya L.) var. "Maradol Roja"*. Recuperado de <http://ediciones.inca.edu.cu/files/congresos/2012/CD/memorias/ponencias/talleres/MCF/ra/MCF-O.08.pdf>
- Mroginski, L., Roca, W. (1991). Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones. *CIAT*, Centro Internacional de Agricultura Tropical. Cali-Colombia. 947.
- Mulliken, T. (1998). *New support for medicinal plants*. Traffic International.
- Muñoz, V. (2009). *Introducción y Germinación " in vitro " de semillas Vasconcellea pubescens a partir de diferentes procedencias*. Universidad de Talca-Chile.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 473-497.
- 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.
- Pérez, M. A. (2000). *Ensayos para la mejorar la germinación de la "Grosella Tropical" (Phyllanthus acidus (L.) Skeels. El Zamorano, Honduras*. Recuperado de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/2739/1/CPA-2000-T048.pdf>
- Pérez, C. S. (2008). *Evaluación de métodos de extracción de semillas de papaya (Carica papaya) y su efecto en la calidad*. (Tesis de Licenciatura de la UAAAN). Saltillo, Coahuila, México.
- Pierik, R. (1990). *Cultivos in vitro de plantas superiores*. Madrid: Mundi-prensa.

PrefecturaLoja. (2011). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial de la provincia de Loja*.

Pype, J., Everaert, K., y Debergh, P. (1996). Contamination by micro-artropods in tissue cultures. *Laboratory for Horticulture*. University of Gent.Belgium.12 (3) 259-266.

Ramos, J. (2012). *Avances de la micropagación in vitro de plantas leñosas*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD).

Remache, L. (2011). *Desarrollo de una técnica de micropagación in vitro de cedro (Cedrela montana) a partir de ápices, hojas y entrenudos*. (Tesis pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Ecuador.

Roca, W., y Mronginski, L. (1991). *Cultivos de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones*. Cali. Colombia.

Rodríguez, D. (2012). *Capacidad de enraizamiento en estacas de setos provenientes de tres poblaciones de Pinus patula*. (Tesis pregrado).Universidad Veracruzana, México.

Rodríguez, L. (1967). *Guía técnica del cultivo de papaya*. Recuperado de <http://elagronomico.blogspot.com/2009/09/cultivo-de-papaya-guia-tecnica.html>.

Romero, J., y Rangel, J. (2012). *Germinación in vitro y propagación clonal de papaya Maradol*. XII Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. Recuperado de http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_II/Carteles/CII-32.pdf

Roque, A. y., Ardisana, E. H. (2006). *Obtención de posturas de papaya (Carica papaya L.) cv. Maradol Roja por cultivo in vitro de segmentos nodales de plantas jóvenes*. Centro Universitario de las Tunas. 38.

Saldaña, V. (2012). *Características generales del cultivo de papaya*. Universidad Nacional de Cajamarca. 51.

Salisbury, F., y Ross, C. (2001). *Fisiología Vegetal*. Iberoamericana. 293-317.

Seemann, P. (1993). *Utilización de técnicas de Micropagación*. Universidad Austral de Chile.

Segretín, M. (2010). *Los cultivos celulares y sus aplicaciones II*. Instituto de Investigaciones en Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI). Consejo Argentino para la información y el Desarrollo de la Biotecnología.6.

Serrano, A.; Rojas, G.; y Soto, V. (1991). *Clonal propagation of orchids by means of tissue culture: A manual*. En: *Orchid Biology I: Reviews and Perspectives*. New York, Estados Unidos: Cornell University Press.

Sierra. (2012). *Sistema de clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental*.

Soberón, J.; Quiroga, E.; Samprieto, A.; y Vattuone, M. (2005). *Citocininas*. Universidad Nacional de Tucumán. San Miguel de Tucumán. Argentina.3.

Solis, R., y Olivera, J. (2011). Propagación in vitro de Carica papaya var. PTM-331 a partir de meristemas apicales. Facultad de Ciencias Biológicas UNMSM. *Perú. biol.* 18 (3).343-34.

Solagro. (2014). Producción de papaya en el Ecuador. La solución para el agro Solagro, 1-2.

Suárez, F. (2011). *Micropropagación in vitro de piña (Ananas comosus L. Merrill) Híbrido MD-2, a partir de cortes de yemas laterales y apicales*. Escuela Politécnica del Ejército, Quito, Ecuador.

UNQ. (2006). *Biotecnología*. Recuperado de <http://www.argenbio.org/adc/uploads/pdf/Cultivos%20celulares%20II%20Euge.pdf>

Vázquez, M. E. (2011). Métodos de extracción de semilla en papaya Golden y la relación con la longevidad. *Scielo.2* (2). 281-288. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200709342011000200008.

Villalobos, V. M., & Thorpe, T. A. (1991). *Micropropagación: conceptos, metodología y resultados*. PCAFBNA-021310 del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)-México. 127 – 141.

Zurita, W.; Gómez, J.; Atrián, E; Hernández., A; Granados, M.; García, J.; y Sánchez, N. (2014). Establecimiento de un método eficiente de germinación in vitro y micropropagación del cirimo (*Tilia mexicana* schlecht.) (TILIACEAE). *Polibotánica*, (38), 129-144.

9. ANEXOS

Anexo 1. Registro de datos para el ensayo 1 (sin escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de *Carica papaya* L.

Contaminación (%) de semillas											
TRATAMIENTO	Días										
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	Total
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3	0,00	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22

Germinación (%) de semillas																		
TRATAMIENTO	Días																	
	5	9	15	21	26	30	35	40	44	49	54	58	64	69	75	80	84	Total
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	2,22	8,89	11,11	11,11	11,11	17,78	26,76	26,76	28,89	28,89	28,89	33,33	33,33	33,33
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	4,44	8,89	13,33	15,56	15,56	22,22	24,44	33,33	37,78	37,78	46,67	48,89	48,89	48,89
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,22	4,44	8,89	11,11	17,78	22,22	22,22	28,89	35,56	35,56	51,11	51,11	51,11

Mortalidad (%) de semillas											
TRATAMIENTO	Días										
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	Total
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Anexo 2. Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación, ensayo 1 (sin escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
% contaminación	9	0,50	0,00	300,00	0,74
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	19,77	4	4,94	1,00	0,5000
Tratamiento	9,89	2	4,94	1,00 ns	0,4444
Repetición	9,89	2	4,94	1,00	0,4444
Error	19,77	4	4,94		
Total	39,55	8			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=6,46					
Error: 4,9432	gl:4				
Tratamiento	Medias	n	EE		
T3	2,22	3	1,28 a		
T2	0,00	3	1,28 a		
T1	0,00	3	1,28 a		
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 3. Análisis estadístico para el porcentaje de germinación, ensayo 1 (sin escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
% germinación	9	0,89	0,78	12,24	44,4
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	948,16	4	237,04	8,01	0,0342
Tratamiento	562,95	2	281,47	9,51 *	0,0302
Repetición	385,21	2	192,61	6,51	0,0553
Error	118,41	4	29,60		
Total	1066,58	8			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=15,83					
Error: 29,6037	gl: 4				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T3	51,11	3		3,14 a	
T2	48,89	3		3,14 a b	
T1	33,33	3		3,14 b	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 4. Registro de datos para el ensayo 2 (con escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de *Carica papaya* L.

Contaminación (%) de semillas											
TRATAMIENTO	Días										Total
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
T1	0,00	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44
T2	0,00	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44	4,44
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mortalidad (%) de semillas											
TRATAMIENTO	Días										Total
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30	
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Germinación (%) de semillas											
TRATAMIENTO	Días										Total
	5	10	15	20	25	30	35	40	45		
T1	0,00	0,00	0,00	17,78	42,22	53,33	55,56	57,78	68,89	68,89	
T2	0,00	0,00	0,00	8,89	37,78	51,11	53,33	57,78	60,00	60,00	
T3	0,00	0,00	0,00	6,67	17,78	31,11	37,78	53,33	71,11	71,11	

Anexo 5. Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación, ensayo 2 (con escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
% contaminación	9	0,80	0,60	75,00	2,96
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	79,09	4	19,77	4,00	0,1040
Tratamiento	35,55	2	19,77	4,00 ns	0,1111
Repetición	39,55	2	19,77	4,00	0,1111
Error	19,77	4	4,94		
Total	98,86	8			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=7,87					
Error: 4,9432	gl: 4				
Tratamiento	Medias	n		EE:	
T2	4,45	3		1,28 a	
T1	4,45	3		1,28 a	
T3	0,00	3		1,28 a	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 6. Análisis estadístico para el porcentaje de germinación, ensayo 2 (con escarificación de mesotesta de semillas) para germinación de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
% germinación	9	0,76	0,51	13,55	66,7
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	1010,64	4	252,66	3,10	0,1496
Tratamiento	208,24	2	104,12	1,28 ns	0,3726
Repetición	802,40	2	401,20	4,92	0,0836
Error	326,30	4	81,58		
Total	1336,94	8			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=26,28					
Error: 81,5750	gl: 4				
Tratamiento	Medias	n		EE:	
T3	71,14	3		5,21 a	
T1	68,89	3		5,21 a	
T2	60,00	3		5,21 a	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 7. Registro de datos para el ensayo 3 (extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días) para germinación de *Carica papaya* L.

Contaminación (%) de semillas											
TRATAMIENTO	Días										
	3	6	9	12	15	22	26	29	33	36	Total
T1	0,00	0,00	0,00	60,00	66,67	66,67	82,22	82,22	82,22	82,22	82,22
T2	0,00	0,00	0,00	55,56	64,44	64,44	64,44	66,67	66,67	68,89	68,89
T3	0,00	0,00	0,00	53,33	53,33	53,33	53,33	53,33	55,56	57,78	57,78
Mortalidad (%) de semillas											
TRATAMIENTO	Días										
	3	6	9	12	15	22	26	29	33	36	Total
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22	2,22
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4,44	8,88	8,88	8,88	8,88	8,88
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67	6,67	6,67	6,67
Germinación (%) de semillas											
TRATAMIENTO	Días										
	5	12	16	22	27	33	37	42	Total		
T1	0,00	2,22	15,56	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00	20,00		
T2	0,00	11,11	24,44	31,11	37,78	40,00	40,00	40,00	40,00		
T3	0,00	33,33	37,78	37,78	42,22	44,44	46,67	48,89	48,89		

Anexo 8. Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación, ensayo 3 (extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días) para germinación de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
% contaminación	9	0,75	0,50	12,77	69,63
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	983,44	4	234,61	2,97	0,1585
Tratamiento	898,92	2	449,46	5,69 ns	0,0677
Repetición	39,52	2	16,76	0,25	0,7901
Error	316,17	4	79,04		
Total	1254,61	8			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=25,87					
Error: 79,0432	gl: 4			DE:	
Tratamiento	Medias	n	EE:		
T1	82,22	3	5,13 a		
T2	68,89	3	5,13 a		
T3	57,78	3	5,13 a		
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 9. Análisis estadístico para el porcentaje de germinación, ensayo 3 (extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días) para germinación de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
% germinación	9	0,85	0,69	29,68	36,29
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	2568,37	4	624,09	5,53	0,0631
Tratamiento	1313,66	2	656,83	5,56 ns	0,0682
Repetición	1254,70	2	627,35	5,41	0,0729
Error	464,25	4	116,06		
Total	3032,61	8			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=42,40					
Error: 286,49	gl: 6			DE:	
Tratamiento	Medias	n	EE		
T3	48,89	3	6,22 a		
T2	40,00	3	6,22 a		
T1	20,00	3	6,22 a		
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 10. Análisis estadístico para el porcentaje de mortalidad, ensayo 3 (extracción de sarcotesta de las semillas y secado al ambiente por tres días) para germinación de *Carica papaya* L.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
% mortalidad	9	0,64	0,27	79,96	5,92
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	138,26	4	34,57	1,75	0,3003
Tratamiento	69,13	2	34,57	1,75 ns	0,2842
Repetición	69,13	2	34,57	1,75	0,2842
Error	78,94	4	19,74		
Total	217,21	8			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=12,44					
Error: 24,6790	gl: 6			DE:	
Tratamiento	Medias	n	E.E.		
T2	8,89	3	2,56 a		
T3	6,67	3	2,56 a		
T1	2,22	3	2,56 a		
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 11. Registro de datos para el ensayo de brotamiento de *Carica papaya* L.

Contaminación (%) de explantes										
	Días									
TRATAMIENTO	3	6	9	12	15	22	26	29	31	Total
T1	6,66	6,66	6,66	6,66	10,00	13,33	13,33	13,33	13,33	13,33
T2	0,00	3,33	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T4	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33	3,33

Continúa Anexo 11...

...Continuación anexo 11

Mortalidad (%) de explantes																			
TRATAMIENTO	Días																		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	Total
T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,33	3,33	13,33	13,33	13,33	13,33	23,33	23,33	23,33	23,33
T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,33	3,33	3,33	10,00	10,00	20,00	20,00	20,00	20,00
T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,67	6,67	26,67	26,67	30,00	36,67	36,67	36,67
T4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,33	3,33	10,00	10,00	16,67	20,00	20,00	20,00
Longitud (mm) de brotes por explante																			
TRATAMIENTO	Días																		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	Total
T1	6,33	7,90	9,46	10,81	11,99	12,22	12,50	12,70	13,02	13,86	14,46	15,57	15,69	16,00	17,29	18,17	18,62	19,77	19,77
T2	6,52	7,03	8,05	8,69	8,91	10,15	10,94	11,31	11,61	11,85	12,21	12,57	12,85	13,13	14,44	15,81	16,69	17,48	17,48
T3	11,93	12,6	13,03	13,47	13,97	14,33	14,93	15,47	16,23	17,27	18,17	19,56	20,16	22,04	22,94	24,04	25,04	26,01	26,01
T4	7,56	7,79	7,96	8,63	9,40	6,51	9,61	9,71	9,82	9,89	10,07	10,16	10,52	10,92	11,72	12,76	13,96	15,45	15,45
Número de brotes por explante																			
TRATAMIENTO	Días																		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	Total
T1	0,00	0,00	1,54	1,81	1,99	2,11	2,26	2,37	2,48	2,64	2,96	3,25	3,80	4,36	4,47	5,04	5,31	6,00	6,00
T2	0,00	1,13	1,48	1,78	1,96	2,12	2,40	2,47	2,61	2,68	2,77	2,75	3,06	3,32	3,42	3,70	3,85	4,24	4,24
T3	0,00	0,90	0,93	1,03	1,13	1,23	1,30	1,40	1,50	1,60	1,70	1,78	1,89	2,19	2,33	2,56	2,35	2,94	2,94
T4	0,00	0,83	0,93	1,03	1,14	1,24	1,34	1,41	1,51	1,62	1,76	1,82	1,96	2,07	2,18	2,36	2,46	2,55	2,55
Número de nudos por explante																			
TRATAMIENTO	Días																		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	Total
T1	0,00	0,00	1,33	2,08	2,46	2,62	2,76	2,88	2,92	3,03	3,15	3,27	3,54	3,79	4,03	4,18	4,72	5,16	5,16

Continúa Anexo 11...

...Continuación Anexo 11

T2	0,00	0,00	1,30	1,59	1,85	2,04	2,30	2,44	2,65	2,72	2,88	3,07	3,18	3,37	3,49	3,96	4,11	4,31	4,31
T3	0,00	0,00	0,87	0,97	1,07	1,17	1,27	1,33	1,43	1,53	1,63	1,84	1,95	2,02	2,55	2,28	2,44	2,52	2,52
T4	0,00	0,00	1,02	1,13	1,23	1,33	1,77	1,84	1,98	2,08	2,19	2,30	2,41	2,58	2,69	2,83	2,96	3,05	3,05
	Número de hojas por explante																		
TRATAMIENTO	Días																		
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	Total
T1	0,00	0,00	1,33	2,08	2,46	2,62	2,76	2,88	2,92	3,03	3,15	3,27	3,54	3,79	4,03	4,18	4,72	5,16	5,16
T2	0,00	0,00	1,30	1,59	1,85	2,04	2,30	2,44	2,65	2,72	2,88	3,07	3,18	3,37	3,49	3,96	4,11	4,31	4,31
T3	0,00	0,00	0,87	0,97	1,07	1,17	1,27	1,33	1,43	1,53	1,63	1,84	1,95	2,02	2,55	2,28	2,44	2,52	2,52
T4	0,00	0,00	1,02	1,13	1,23	1,33	1,77	1,84	1,98	2,08	2,19	2,30	2,41	2,58	2,69	2,83	2,96	3,05	3,05

Anexo 12. Análisis estadístico para el porcentaje de contaminación de explantes de *Carica papaya* L., ensayo de brotamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
Contaminación	12	0,69	0,44	100,00	6,66
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	600,00	5	120,00	2,70	0,1293
Tratamiento	333,33	3	111,11	2,50 ns	0,1565
Repetición	266,67	2	133,33	3,00	0,1250
Error	266,67	6	44,44		
Total	866,67	11			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=18,84					
Error: 44,44	gl:6				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	13,33	3		3,85 a	
T2	10,00	3		3,85 a	
T4	3,33	3		3,85 a	
T3	0,00	3		3,85 a	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 13. Análisis estadístico para el porcentaje de mortalidad de explantes de *Carica papaya* L., ensayo de brotamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
Mortalidad	12	0,51	0,10	27,97	25
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	1166,67	5	233,33	1,24	0,3963
Tratamiento	566,67	3	188,89	1,00 ns	0,4547
Repetición	600,00	2	300,00	1,59	0,2795
Error	1133,33	6	188,89		
Total	2300,00	11			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=38,84					
Error: 188,88	gl:6				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T3	36,67	3		7,93 a	
T1	23,33	3		7,93 a	
T4	20,00	3		7,93 a	
T2	20,00	3		7,93 a	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)					

Anexo 14. Análisis estadístico para el número de brotes promedio por tratamiento de *Carica papaya* L., ensayo de brotamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
Número de brotes	12	0,86	0,75	20,65	3,93
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	25,17	5	5,03	7,64	0,0140
Tratamiento	21,78	3	7,26	11,02 *	0,0075
Repetición	3,39	2	1,70	2,57	0,1559
Error	3,95	6	0,66		
Total	29,13	11			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=2,29					
Error: 0,6589	gl:6				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	6,00	3		0,47 a	
T2	4,24	3		0,47 a b	
T3	2,94	3		0,47 b	
T4	2,55	3		0,47 b	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 15. Análisis estadístico para la longitud de brotes (mm) promedio por tratamiento de *Carica papaya* L., ensayo de brotamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
Longitud del brote	12	0,76	0,56	19,40	19,68
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	274,17	5	54,83	3,76	0,0689
Tratamiento	187,97	3	62,66	4,30 ns	0,0611
Repetición	86,20	2	43,10	2,96	0,1278
Error	87,48	6	14,58		
Total	361,65	11			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=10,79					
Error: 14,5804	gl:6				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T3	26,01	3		2,20 a	
T1	19,77	3		2,20 a	
T2	17,48	3		2,20 a	
T4	15,47	3		2,20 a	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 16. Análisis estadístico para el número de hojas por brote de *Carica papaya* L., ensayo de brotamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
Hojas	12	0,87	0,75	15,51	3,76
F.V.	SC	gl	CM	F	P-valor
Modelo	13,12	5	2,62	7,69	0,0137
Tratamiento	12,95	3	4,32	12,67 *	0,0053
Repetición	0,16	2	0,08	0,24	0,7975
Error	2,05	6	0,34		
Total	15,16	11			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=1,65					
Error: 0,3409	gl:6				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	5,17	3		0,34 a	
T2	4,31	3		0,34 a b	
T4	3,05	3		0,34 bc	
T3	2,52	3		0,34 c	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 17. Análisis estadístico para el número de nudos por brote de *Carica papaya* L., ensayo de brotamiento.

ANÁLISIS DE LA VARIANZA					
VARIABLE	N	R ²	R ² Aj	CV	\bar{X}
Nudos	12	0,87	0,75	15,51	3,76
F.V.	SC	gl	CM	FC	P-valor
Modelo	13,12	5	2,62	7,69	0,0137
Tratamiento	12,95	3	4,32	12,67 *	0,0053
Repetición	0,16	2	0,08	0,24	0,7975
Error	2,05	6	0,34		
Total	15,16	11			
TEST: TUKEY ALFA=0,05 DMS=1,65					
Error: 0,3409	gl:6				
Tratamiento	Medias	n		EE	
T1	5,14	3		0,34 a	
T2	4,31	3		0,34 a b	
T4	3,05	3		0,34 bc	
T3	2,52	3		0,34 c	
Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)					

Anexo 18. Difusión de los Resultados de la Investigación a los Actores Involucrados, Equipo Técnico y Docente del Laboratorio de Micropropagación Vegetal y Estudiantes del Quinto 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 MORFOGÉNICO *IN VITRO* DE (*Carica papaya* L.), INDUCIDOS A PARTIR DE SEMILLAS"

LOJA, 30 de Mayo del 2017

N°	NOMBRES Y APELLIDOS	CARRERA	CICLO	FIRMA
1	José Daniel Cueva Pacheco	Agronomía	IX	[Firma]
2	Senior Maximiliano Espino & Buchano	Agronomía	IX	[Firma]
3	Christian Andrés Lalangui z.	Agronomía	IX	[Firma]
4	Ricardo David Cevallos	Agronomía	IX	[Firma]
5	Karina Yolanda Cango Ambaludi	Agronomía	IX	[Firma]
6	Cristian Eduardo Vique Bango	Agronomía	IX	[Firma]
7	Byron Manuel Vega Vargas	Agronomía	IX	[Firma]
8	Roberto Patrio Achupallas Espino	Agronomía	IX	[Firma]
9	Roberto Gabriel Arceola Maza	Agronomía	IX	[Firma]
10	Edito Lucia Vinces Vidal	Ing. Agronómica	IX	[Firma]
11	Fernanda Patricia Laguarda	Ing. Agronómica	IX	[Firma]
12	María Karina Jari Chica	Ing. Agronómica	IX	[Firma]
13	Yomara Gabriela Fernández C	Ing. Agronómica	IX	[Firma]
14	Rosal Vivero Arias Loja	Ing. Agronómica Especialista		[Firma]
15	Arcadio Bani -	Agronomía	-	[Firma]
16				
17				
18				
19				
20				

Anexo 19. Tríptico divulgativo del presente trabajo de Investigación.

INTRODUCCIÓN

En Ecuador *Carica papaya* L., es una especie importante en la economía del país debido a su fruta de alto rendimiento y valor nutritivo, al contenido de vitaminas, proteínas y elementos indispensables para el organismo, ampliamente apreciada por ser uno de los pocos frutales con producción continua durante todo el año después de iniciada la fructificación, (Saldana, 2012).

Como muchos otros cultivos agrícolas, la papaya puede ser afectada por diferentes plagas y enfermedades que reducen la longevidad de las plantaciones, así como su producción y calidad de frutos. Dentro de las enfermedades se destacan las producidas por virus, provocando cuantiosos daños al cultivo (Lorenzetti, 2013). El método convencional para el cultivo de papaya a través de semillas es heterogéneo como resultado de la polinización cruzada (Bhattacharya, 2011).

(Vázquez, 2011), menciona que la papaya emite varios tipos de flores con diferente proporción de hembras, machos y hermafroditas y cada una origina un tipo diferente de fruto en cuanto a forma y calidad, principalmente dificulta la producción y comercialización de semillas entre los productores de este cultivo.

En ese sentido el propósito de esta investigación es validar un protocolo para la producción de plantas de papaya mediante la técnica de cultivo *in vitro* que permitan aprovechar el material vegetal de *Carica papaya* L., facilitando el acceso a la información de metodologías que puedan aumentar el porcentaje de formación de brotes a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de plantas germinadas *in vitro*; siendo posible continuar con las siguientes fases para obtener plantas de *Carica papaya* L., libres de plagas y enfermedades; y, un desarrollo de plantas homogéneo.

OBJETIVOS

Objetivo General

Contribuir al establecimiento de la metodología para la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L., y a la interacción de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento en la fase de brotamiento.

Objetivos Específicos

Evaluar el efecto de AG3 aplicando distintas concentraciones en la germinación de semillas de *Carica papaya* L.

Probar el efecto del balance hormonal auxina-citocinina, en la fase de crecimiento y desarrollo de brotes a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Carica papaya* L.

METODOLOGÍA

Metodología para evaluar el efecto de AG3 aplicando distintas concentraciones en la germinación de semillas de *Carica papaya* L.

- * Selección de frutos
- * Preparación del medio de cultivo
- * Desinfección de frutos
- * Siembra *in vitro* de semillas y condiciones de incubación.

Diseño Experimental para la fase de germinación *in vitro* de *Carica papaya* L. Se utilizó un diseño completamente al azar (DCA), con 3 tratamientos y 3 repeticiones.

Cuadro 1. Descripción de los diferentes tratamientos para la germinación de semillas de *Carica papaya* L., en diferentes concentraciones de ácido giberélico (AG).

TRATAMIENTO	AG3	CODIGO
T1	0.0 mg/l	T1
T2	1.0 mg/l	T2
T3	1.5 mg/l	T3

Metodología para probar el efecto del balance hormonal auxina-citocinina, en la fase de crecimiento y desarrollo de brotes a partir de ápices caulinares y segmentos nodales de *Carica papaya* L.

- * Obtención y selección de explantes de *Carica papaya* L.
- * Preparación del medio de cultivo
- * Siembra *in vitro* de explantes y condiciones de incubación.

Diseño Experimental para la fase de brotamiento de *Carica papaya* L. Se utilizó un diseño factorial 2x2, con 4 tratamientos y 3 repeticiones.

Cuadro 2. Tratamientos para evaluar la interacción de auxinas-citocininas en el crecimiento y desarrollo de brotes de *Carica papaya* L.

TRATAMIENTO	AUXINAS/CITOCININAS	CODIGO
T1	0.2 mg/l de ANA + 0.2 mg/l de BAP	T1 = A1B1D1
T2	0.2 mg/l de ANA + 2.0 mg/l de BAP	T2 = A1B1D2
T3	0.2 mg/l de ANA + 0.2 mg/l de KIN	T3 = A1K1D1
T4	0.2 mg/l de ANA + 2.0 mg/l de KIN	T4 = A1K1D2

RESULTADOS

Fase de germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.

Tratamiento	% Germinación
T1=0 mg/l AG3	~68%
T2=1.0 mg/l AG3	~55%
T3=1.5 mg/l AG3	~70%

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Figura 1. Porcentaje de germinación de los diferentes tratamientos aplicados en la germinación *in vitro* de semillas de *Carica papaya* L.,

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el porcentaje de germinación, se determinó que no existen diferencias significativas entre tratamientos $p=0,3726$. Sin embargo, el T3 (1.5 mg/l AG3) presentó el mayor porcentaje de germinación con 71,11%, frente al T2 (1.0 mg/l AG3) que presentó el valor promedio más bajo con 60%.

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$).

Figura 2. Brotamiento de explantes de *Carica papaya* L., en los diferentes tratamientos aplicados en la fase de brotamiento *in vitro*.

Según el análisis de varianza (ANOVA) aplicado para el número de brotes formados por explantes, se pudo determinar que los datos presentaron baja variabilidad con un coeficiente de variación (CV) de 20,65%. De la misma manera la prueba de Tukey nos muestra diferencias significativas entre tratamientos con una $p=0,0075$, donde se observa que el mejor tratamiento es el T1 (0.2 mg/l ANA + 2.0 mg/l BAP), el cual presentó un promedio de brotamiento por explante de 6,00, frente al frente a los tratamientos T3 (0.2 mg/l ANA + 2.0 mg/l KIN) y T4 (0.2 mg/l ANA + 2.0 mg/l KIN) que no muestran diferencias significativas entre sí.

CONCLUSIONES

- * El porcentaje de contaminación más bajo fue del (2,22%), debido a que las semillas están protegidas dentro del fruto y por lo tanto están libres de patógenos.
- * El porcentaje de germinación fue del (71,11 %) con escarificación de mesotesta, a pesar de que estadísticamente el uso de ácido giberélico no influyó en el porcentaje de germinación de las semillas de "*Carica papaya* L.", sin embargo, con una dosis de (1.5 mg/l AG3) se obtuvo el porcentaje más alto de germinación, concluyendo que realizando una escarificación a la mesotesta de la semilla y con la adición de dosis altas se obtienen porcentajes altos de germinación.
- * En la fase de brotamiento con la interacción hormonal 0.2 mg/l ANA + 0.2 mg/l BAP, se alcanzó un máximo brotamiento, concluyendo que las concentraciones bajas que se utilizó de ANA- BAP respecto de los tratamientos aplicados, son las más efectivas en el brotamiento de esta especie, ya que de ANA induce a la división celular y estimulación del crecimiento vegetativo de explantes; y, a su vez BAP induce a la formación de nuevos brotes, permitiendo así la aparición de nudos y a su vez nuevas hojas.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA

FACULTAD AGROPECUARIA Y DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

LABORATORIO DE MICROPROPAGACIÓN VEGETAL

CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA

PROCESOS MORFOGÉNICOS *IN VITRO* DE PAPAÑA CRIOLLA (*Carica papaya* L.), INDUCIDOS A PARTIR DE

TESIS DE GRADO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERIA AGRÓNOMA

EGRESADA: Guissella Katherine Sánchez Ullaguari.

DIRECTOR: Ing. For. Victor Hugo Eras Guamán, Mg. Sc.

CO-DIRECTORA: Ing. Agro. Julia Esther Minchala Patiño.

2017