



## Lengthening, rooting and acclimatization of *in vitro* propagated plants of the MSXJ hybrid of papaya (*Carica papaya*)

## Alargamiento, enraizamiento y aclimatización de plantas propagadas *in vitro* del híbrido MSXJ de papaya (*Carica papaya*)

Fernando López-Fortoso<sup>1</sup>, Luis Alberto Solano-Rodríguez<sup>2</sup>, Miriam Cristina Pastelín-Solano<sup>1</sup>, Luis Alberto Sánchez-Bazán<sup>1</sup>, Luis Gerardo Balderas-Solano<sup>1</sup>, Odón Castañeda-Castro<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Universidad Veracruzana. Facultad de Ciencias Químicas. Prolongación de Oriente 6-# 1009, Colonia Rafael Alvarado, C.P. 94340, Orizaba, Veracruz, Mexico.

<sup>2</sup>Centro de Investigación y Validación Agropecuaria S. C. (CIVAGRO). Av. Eugenio Garza Sada, Número 1. Córdoba, C. P. 94500, Veracruz, Mexico.

\*Corresponding author

E-mail address: [odcastaneda@uv.mx](mailto:odcastaneda@uv.mx) (O. Castañeda-Castro)

Article history:

Received: 14 December 2018 / Received in revised form: 1 April 2019 / Accepted: 4 May 2019 / Published online: 1 July 2019.

<https://doi.org/10.29267/mxjb.2019.4.3.33>

### ABSTRACT

México is the third most important producer of papaya in the world. MSXJ is a hybrid of papaya that tolerates high temperatures and has a low frequency of carpellody. In addition, it is a very productive cultivar with yields of 100 a 125 t ha<sup>-1</sup>, which makes it attractive for export marketing. The extension and rooting *in vitro* and the acclimatization are important to obtain the seedlings. In this research, different concentrations of salts added to the medium (Murashigue & Skoog; MS) as well as the effect of sucrose and different concentrations of indole butyric acid (AIB) in the lengthening and in the rooting, respectively were evaluated. Acclimatization of the MSXJ hybrid of papaya propagated *in vitro* was also determined. It was showed that addition of salts (50%) to MS and 10 gL<sup>-1</sup> sucrose had the highest elongation rate and AIB improved the development of the root in the MSXJ hybrid of papaya. Peat moss and agrolita (80:20) allowed the acclimatization of the seedlings.

**Keywords:** *Carica papaya*, plant tissue culture, auxins, vegetative development.

## RESUMEN

México es el tercer productor de papaya en el mundo. MSXJ es un híbrido de papaya que tolera altas temperaturas y tiene una baja frecuencia de carpeloidía, además es un cultivar muy productivo con rendimientos de 100 a 125 t ha<sup>-1</sup>, siendo un cultivar atractivo para el mercado de exportación. El alargamiento y enraizamiento *in vitro* y la aclimatización son etapas complejas y determinantes en la obtención de plántulas, por ello el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el alargamiento en distintas concentraciones de sales en el medio Murashige & Skoog (MS) y sacarosa, el enraizamiento bajo distintas concentraciones de AIB y la aclimatización del híbrido MSXJ de papaya propagada *in vitro*. Con los datos obtenidos se realizó un ANOVA y pruebas de comparación de medias mediante Tukey utilizando el software Minitab-17. La adición del sales MS al 50% y sacarosa 10 gL<sup>-1</sup> presentó el mayor índice de alargamiento, la concentración de 0.40 mgL<sup>-1</sup> de AIB favoreció el desarrollo de raíz y el peat moss y agrolita (80:20) permitió la aclimatización de las plántulas.

**Palabras clave:** *Carica papaya*, micropropagación, auxinas.

### 1. INTRODUCCIÓN

La papaya (*Carica papaya*) es la tercera fruta tropical más consumida del mundo (Valencia *et al.*, 2017), México es el tercer productor a nivel mundial (FAO, 2017) con una producción de 961,768.25 toneladas de las cuales el 98% corresponden a la variedad Maradol (SIAP, 2017). Los Estados Unidos de América (EUA), es el principal mercado de exportación, el cual exige frutos de calidad, además la demanda a nivel mundial ha aumentado un 36.6% (SAGARPA, 2017).

La papaya MSXJ es un híbrido desarrollado por el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), el cual presenta tolerancia a altas temperaturas y una baja frecuencia de carpeloidía, por ello es un cultivar productivo, con la capacidad de producir 31 a 45 frutos alargados con peso promedio de 1.5 Kg con un rendimiento entre 50 y 36 Kg por planta, el rendimiento promedio es de 100 a 125 t ha<sup>-1</sup>, presenta frutos de buena calidad, de pulpa roja, de forma alargada sin deformaciones, de tamaño intermedio entre 25 y 29 cm de longitud (Mirafuentes & Santamaría, 2014). Debido a la calidad de fruto que presenta el híbrido MSXJ, se convierte en una alternativa comercial a la variedad Maradol para el mercado de exportación (Santamaría *et al.*, 2015).

La Papaya convencionalmente es propagada por semilla, por lo que presenta una alta heterocigosis en su descendencia debido a que es una especie de polinización cruzada, además las técnicas convencionales de propagación asexual resultan ineficientes a gran escala (Posada-Pérez *et al.*, 2017). Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales permiten la propagación *in vitro* de papaya, obteniendo

una amplia y rápida producción de plántulas de alta calidad, libres de enfermedades y genéticamente uniformes provenientes de plantas elite (Chandra *et al.*, 2010). Fitch *et al.*, (2012) menciona que la multiplicación *in vitro* de papaya solo se justifica económicamente si el híbrido tiene condiciones agronómicas que le destaquen, ya que se busca garantizar un desarrollo óptimo en cada una de las plantas durante su etapa de crecimiento.

El alargamiento *in vitro* tiene como fin facilitar el crecimiento de los brotes en un medio de cultivo, bajo condiciones de asepsia, mientras que el enraizamiento es una fase crítica en la propagación *in vitro* de la papaya, debido a que se reporta que la papaya tiende a generar pocas raíces; en este proceso se busca obtener una o varias raíces (Tsong-Ann *et al.*,2000; Posadas *et al.*,2015). La etapa de aclimatización permite observar cambios morfológicos y fisiológicos en la planta durante su crecimiento en viveros, hasta alcanzar un tamaño óptimo para su posterior trasplante a campo (Solís *et al.*, 2011).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar diferentes concentraciones de sales en el medio Murashige & Skoog (1962) (MS) para inducir el alargamiento *in vitro*, variar las concentraciones de Ácido Indol Butírico (AIB) para estimular el desarrollo del sistema radicular y la mezcla de peat moss y agrolita en la aclimatización del híbrido MSXJ de papaya.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 Ubicación**

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Biotecnología y Criobiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana y el Laboratorio de Biotecnología Agrícola CIVAGRO (Centro de Investigación y Validación Agropecuaria, S. C.) ubicado en el PIDEV del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey Campus Central de Veracruz.

### **2.2 Alargamiento *in vitro***

Se realizaron 12 tratamientos con 12 repeticiones utilizando cuatro concentraciones de sales del medio MS (25, 50, 75 y 100%) y tres concentraciones de sacarosa (10, 20 y 30 gL<sup>-1</sup>), para inducir el alargamiento del brote por un periodo de 30 días, las vitroplantas fueron incubadas en ambiente controlado, con luz blanca fluorescente y flujo de fotones entre 40 y 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , con un fotoperiodo de 15 horas de luz y 9 de oscuridad a una temperatura de 26 °C. Evaluando la longitud de los brotes, número de hojas y longitud de las hojas.

### **2.3 Enraizamiento *in vitro***

Se realizaron cuatro tratamientos con 20 repeticiones con distintas concentraciones de AIB (0.32, 0.36, 0.4 y 0.44 mgL<sup>-1</sup>) en el medio de cultivo, con el objetivo de determinar la concentración adecuada para la inducción del enraizamiento de los brotes, evaluando el número de raíces obtenidas después 30

días. Las vitroplantas se mantuvieron en incubación en un ambiente controlado, con luz blanca fluorescente y flujo de fotones entre 40 y 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , con un fotoperiodo de 15 horas de luz y 9 de oscuridad a una temperatura de 26 °C.

## 2.4 Aclimatización

Las plántulas provenientes de la etapa de alargamiento y enraizamiento, que alcanzaron una altura de 3 cm se trasplantaron en charolas de plástico previamente esterilizadas, conteniendo dos tipos de sustratos, peat moss y agrolita (80 y 20%), los cuales fueron esterilizados en autoclave durante 15 minutos a 120 °C. Fueron cubiertas con domos de plástico transparentes; controlando durante la primera semana la humedad relativa quitando diariamente la bolsa. En la segunda semana se recortaron las esquinas de la bolsa de plástico. Al finalizar la tercera semana se eliminó el plástico, quedando así las plantas adaptadas al ambiente externo.

## 2.5 Análisis estadístico

Con los datos obtenidos se realizó un análisis de ANOVA de una vía y pruebas de comparación de medias mediante Tukey utilizando el paquete estadístico Minitab-17.

## 3. RESULTADOS

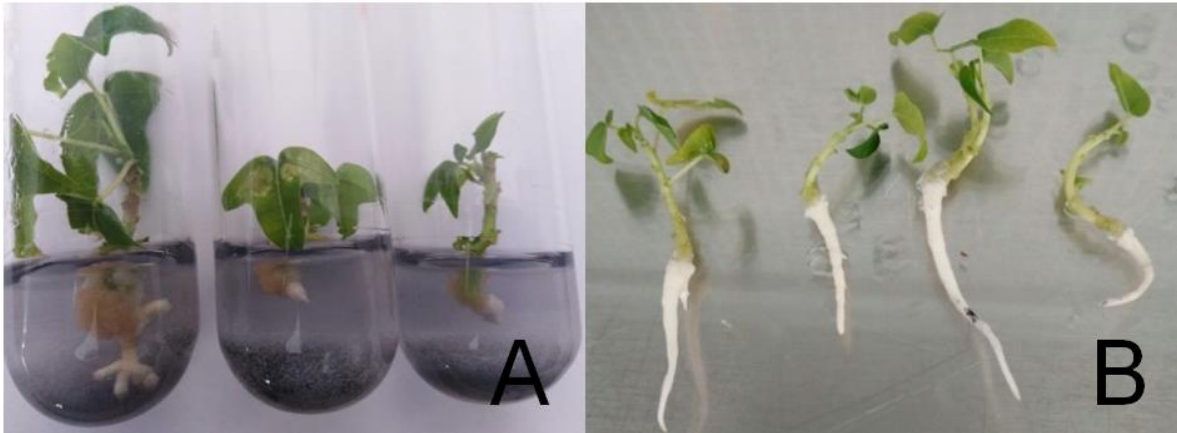
El mayor índice de alargamiento *in vitro* del híbrido MSXJ se presentó en el tratamiento 2 con una concentración de sales MS al 50% y sacarosa 10  $\text{g L}^{-1}$ , favoreciendo además la longitud y el desarrollo de hojas el desarrollo y longitud de hojas (Tabla 1).

**Tabla 1.** Respuesta del híbrido en los medios de alargamiento después de 30 días de evaluación.

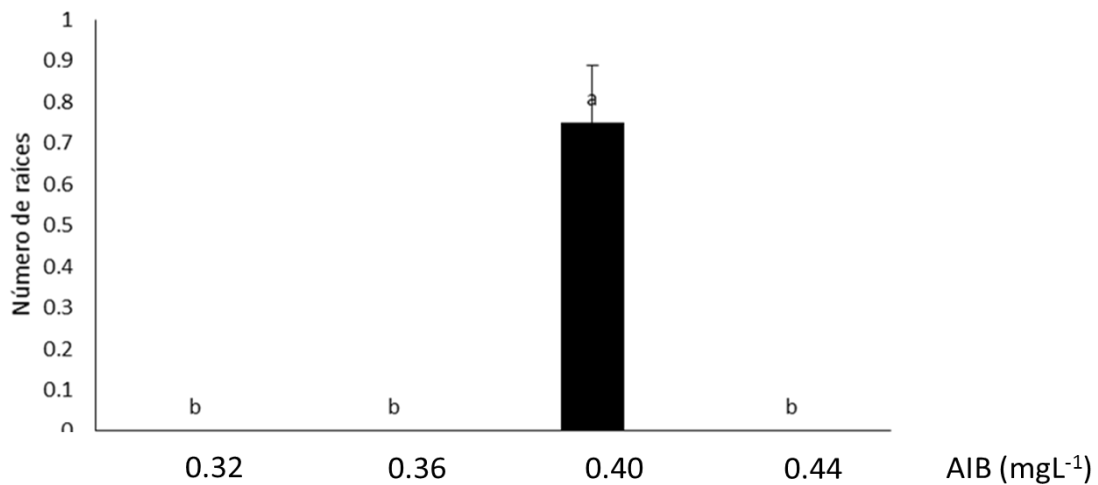
Tratamiento	Concentración Sales MS (%) / Sacarosa $\text{g L}^{-1}$	Longitud de brote (mm)	Hojas (Número)	Longitud de hojas (mm)
1	25/10	12.7 $\pm$ 0.6 abc	1.3 $\pm$ 0.4 ab	7.8 $\pm$ 0.60 bc
2	50/10	14.5 $\pm$ 0.6 a	1.5 $\pm$ 0.3 ab	10.1 $\pm$ 0.74 ab
5	25/20	13.9 $\pm$ 0.4 a	2.4 $\pm$ 0.4 a	8.5 $\pm$ 0.4 abc
6	50/20	11 $\pm$ 0.3 bc	1.1 $\pm$ 0.3 bc	8.3 $\pm$ 0.7 abc
7	75/20	11.2 $\pm$ 0.8 bc	1.5 $\pm$ 0.3 ab	8.5 $\pm$ 0.6 abc
8	100/20	13.5 $\pm$ 0.7 ab	1.4 $\pm$ 0.3 ab	10.6 $\pm$ 0.4 a
9	25/30	11 $\pm$ 0.2 bc	0.5 $\pm$ 0.2 bc	7.0 $\pm$ 0.5 bc
10	50/30	12 $\pm$ 0.2 abc	0.00 c	5.0 $\pm$ 0.00 c
12	10/30	10 $\pm$ 0.2 c	0.4 $\pm$ 0.2 bc	7.0 $\pm$ 0.8 bc

Medias  $\pm$  Error Estándar. Letras diferentes en las columnas indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ).

La concentración de  $0.40 \text{ mgL}^{-1}$  de AIB en el medio de cultivo (tratamiento 3), favorece el enraizamiento *in vitro* del híbrido MSXJ, al evaluar el número de raíces después de 30 días (Fig. 1) corresponden a un promedio de 0.75 raíces por brote (Fig. 2)



**Fig. 1.** Brotes en etapa de enraizamiento del híbrido MSXJ de papaya (A) Raíces después de 30 días de evaluación (B).



**Fig. 2.** Efecto de la concentración de AIB en el número de raíces de vitropiantas del híbrido MSXJ de papaya después de 30 días de cultivo. Líneas sobre las columnas indican la media del error estándar. Letras diferentes sobre las columnas indican diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.05$ ).

La etapa de aclimatización del híbrido MSXJ se vio favorecida con la utilización de los sustratos inorgánicos peat moss y agrolita al 80 y 20% respectivamente, ya que hubo retención de agua y no hubo aparición de microorganismos patógenos que le pudieran afectar (Fig. 3). El porcentaje de sobrevivencia fue del 97%.



**Fig.3.** Plantas aclimatadas del híbrido MSXJ de papaya.

#### **4. DISCUSIONES**

Las diferentes concentraciones de sacarosa y de sales en el medio MS influye en el crecimiento adecuado de los brotes, este resultado se compara con López-Gómez *et al.*, (2009) quien menciona, que las diferentes concentraciones de sacarosa y de sales MS están involucradas directamente en el crecimiento del brote. Con la evaluación del número de hojas se comprobó que la utilización de diferentes concentraciones de sales minerales favorecen su desarrollo adecuado, esto concuerda con estudios similares como el que presenta Picchi *et al.* (2010) quienes señalan que el número de hojas puede variar debido al efecto de las diferentes concentraciones de sales del medio MS y de la sacarosa. Ogunjonbi & Ogunjonbi (2011) reportaron que la adición de distintas concentraciones de azúcar favorece la longitud de los brotes, el desarrollo y la longitud de las hojas. Una concentración de  $0.40 \text{ mgL}^{-1}$  AIB favoreció el enraizamiento *in vitro* del híbrido MSXJ de papaya, ya que de acuerdo con Parada-Ponce & Villegas-Monter (2009) una mayor concentración de AIB, aumenta el número de raíces del híbrido x durazno H1.

La aclimatización a través de sustratos como el peat moss y agrolita garantiza el desarrollo adecuado de las plántulas, estos resultados concuerdan con los reportados por Gallardo *et al.* (2002), en los cuales se observó un 71% de plantas aclimatadas.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

Chandra S., Bandopadhyay R., Kuar V., Chandra R. 2010. Acclimatization of tissue cultures plantlets: from laboratory to land. *Biotechnology Letters*, 32: 1199-1205.

FAO (2017). <http://www.fao.org/faostat/es/?#data>, (Consultado en marzo 2019).

Fitch MM., Leong T, Akashi L., Yeh A., White S., De la Cruz A., Santo L, Ferreira S., Moore P. H. 2012. Growth and yield of clonally propagated and seedling-derived papayas. i. growth. i yield. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 40(5): 1283-1290.

Gallardo J., Posada L., Kosky R., Más L., Reyes M., Herrera I. 2002. Micropropagación del híbrido Cubano de Papaya IBP 42-99. *Biotecnología Vegetal* 2(4): 211-215.

López-Gómez, R., Cabrera-Ponce, J. L., Saucedo-Arias, L. J., Carreto-Montoya, L., Villanueva-Arce, R., Díaz-Pérez, J. C. & Herrera-Estrella, L. 2009. Ripening in papaya fruit is altered by ACC oxidase cosuppression. *Transgenic research*, 18(1): 89-97.

Mirafuentes Hernández F & Santamaría Basulto F. 2014. MSXJ, híbrido de papaya sin carpeloidía para el sureste de México *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7: 1297-1301.

Murashige T. & Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15 (3): 473-497.

Ogunjobi A. & Ogunjobi T. 2011. Comparative Study of Antibacterial Activities of Ethanol Extracts of the Bark and Seeds of *Garcinia Kola* and *Carica papaya*. *African Journal of Biomedical Research*, 14: 147-152.

Parada-Ponce, D. M., & Villegas-Monter, Á. 2009. Propagación *in vitro* del híbrido almendro x durazno H1. *Revista fitotecnia mexicana*, 32(2): 103-109.

Picchi V., Iriti M., Quaroni S., Saracchi M., Viola P. et al. 2010. Climate variations and phenotypical stages modulate ozone damages in field-grown wheat. A three



year study with eight modern cultivars in Po valley in northern Italy. *Agr. Ecosystem envirom*, 135: 310-317.

Posada P. L, Padrón M. Y, González O. J, et al. (2015). Effect of phloroglucinol on rooting and *in vitro* acclimatization of papaya (*Carica papaya* L. var. Maradol Roja). *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 52 (2); 196-203.

Posada-Pérez L, Montesinos P. Y, Guerrero G. D, Daniels D, Gómez-Kosky R. 2017. Complete germination of papaya (*Carica papaya* L. cv. "Maradol Roja") somatic embryos using temporary immersion system type RITA® and phloroglucinol in semi-solid culture medium. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*. DOI 10.1007/s11627-017-9842-5

SAGARPA. (2017). PLANEACIÓN AGRÍCOLA NACIONAL 2017-2030 PAPAYA Mexicana.

Santamaría F., Mirafuentes F., Zavaja J. M., Vázquez E. 2015. CALIDAD DE FRUTOS DE MATERIALES COMERCIALES DE PAPAYA ROJA PRODUCIDOS EN YUCATÁN, MÉXICO. *Agronomía Costarricense*, 39 (1): 161-167.

SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2017. Anuario estadístico de la producción agrícola. Consultado en marzo 2019. Disponible en <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>

Solís L., Olivera S., La Rosa L., & Rafael S. 2011. Propagación *in vitro* de *Carica papaya* var. PTM-331 a partir de meristemas apicales. *Revista Peruana de Biología*, 18 (3), 343-348.

Tsong-Ann Y, Shyi-Dong Y, Ying-Huey C, Jiu-Sherng Y. 2000. Efficient rooting for establishment of papaya plantlets by micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 61:26-35.

Valencia S. K., Duana A. D & Hernández G. J. T. 2017. Estudio del mercado de papaya mexicana: un análisis de su competitividad (2001-2015). *SUM DE NEGOCIOS*, 8: 131-139.