

# COLECTA Y CONSERVACIÓN *in vitro* Y *ex situ* DE RECURSOS FITOGENÉTICOS DE *Carica papaya* L.

## *In vitro* AND *ex situ* COLLECTION AND CONSERVATION OF *Carica papaya* L. PHYTOGENETIC RESOURCES

Soriano-Melgar, L.L.A.<sup>1</sup>; Alcaraz-Meléndez, L.<sup>1\*</sup>; Rodríguez-Álvarez, M.; Real-Cosío, S.<sup>1</sup>

Programa de Agricultura en Zonas Áridas, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., Instituto Politécnico Nacional 195, Col. Playa Palo de Santa Rita Sur, La Paz, Baja California Sur. C.P. 23096. México. Teléfono: +52 (612) 123-8439. Fax: +52 (612) 125-3625.

\*Autor de correspondencia: lalcaraz04@cibnor.mx

### RESUMEN

Se recolectaron frutos brotes de papaya (*Carica papaya* L.) criolla en el centro y sur de Estado de Baja California Sur, México, en las localidades de El Pescadero, Ejido en Comondú Ley Federal de Aguas #2, La Paz, La Purísima, La Ribera, San Bartolo, San Javier, San Miguel de Comondú y Todos Santos, con el fin de conservación y multiplicación. Se multiplicaron los brotes en condiciones asépticas, en frascos de vidrio conteniendo 20 ml de medio Murashige-Skoog (MS) (1962) con 3% de sacarosa y 0.8% de agar para su cultivo *in vitro*. Se realizaron tratamientos para la propagación y enraizamiento *in vitro* de los brotes, los resultados obtenidos muestran que 2 mg L<sup>-1</sup> de ácido naftalen acético incrementa la producción de brotes. El ácido indol butírico a concentraciones de 3 μM genera el enraizamiento de los brotes, los cuales una vez establecidos, se desarrollan rápidamente. Parte de este material fue transferido a condiciones de invernadero para su aclimatación y posterior siembra a campo. Por lo que actualmente se conserva germoplasma de semillas y plantas de papaya criolla *in vitro* y *ex situ*.

**Palabras claves:** Conservación, germoplasma, papaya criolla, propagación.

### ABSTRACT

Fruit buds from Creole papaya (*Carica papaya* L.) were collected in the center and south of the state of Baja California Sur, México, in the localities of El Pescadero, Ejido en Comondú Ley Federal de Aguas #2, La Paz, La Purísima, La Ribera, San Bartolo, San Javier, San Miguel de Comondú and Todos Santos, with the aim of conservation and multiplication. The buds were multiplied under aseptic conditions, in glass containers with 20 ml of Murashige-Skoog (MS) (1962) medium, with 3 % sucrose and 0.8 % agar for its *in vitro* cultivation. Treatments were used for the *in vitro* propagation and rooting of the buds; the results obtained show that 2 mg L<sup>-1</sup> of naphthalene acetic acid increase the production of buds. The indole-butyrac acid at a concentration of 3 μM generates the rooting of the buds, which once established develop quickly. Part of this material was transferred to greenhouse conditions for its acclimation and later planting into the field. Therefore, germplasm from Creole papaya seeds and plants is conserved *in vitro* and *ex situ*.

**Keywords:** conservation, germplasm, Creole papaya, propagation.

**Abreviaturas:** Baja California Sur (BCS), Medio de cultivo Murashigue-Skoog (MS), MS con ácido Naftalen acético (2 mg/l) y adenina (5 mg/l) (MNA), MS con ácido indolbutírico (IBA, 1×10<sup>-5</sup> M) y kinetina (5 mg/l) (MIK).

**Agroproductividad:** Vol. 9, Núm. 4, abril. 2016, pp: 28-32.

**Recibido:** julio, 2015. **Aceptado:** febrero, 2015.



## INTRODUCCIÓN

**La papaya** (*Carica papaya* L.) es una planta herbácea de rápido crecimiento, originaria de Mesoamérica y América central (Singh *et al.*, 2010). Se desarrolla en clima tropical o subtropical, desde el cálido más seco hasta el clima subhúmedo; fue clasificada taxonómicamente como *Carica papaya* L. (1753). (Caricaceae) en *Species Plantarum* 2: 1036. 1753. Existen muchas variedades registradas, de las cuales sobresalen por su valor comercial 'Solo', 'RedLady' y 'Maradol', y cuyo origen se registra a partir de variantes criollas de su amplia variabilidad genética atribuida a la polinización cruzada de la especie (Singh *et al.*, 2010; Terán y Rasmussen, 1995). Como en muchas especies exitosas, las variedades mejoradas están desplazando poblaciones endémicas, silvestres y criollas, principalmente por la dispersión de germoplasma élite, comercial, y por la modificación o destrucción de los centros de origen en todo el mundo (Jaramillo y Baena, 2000). A partir de los años noventa, la papaya criolla en México, ha reducido sus poblaciones de cultivo por la inclusión de cultivares tales como, 'Maradol', propiciando que en diferentes países se implementen estrategias para la conservación de los recursos genéticos de la especie que disminuyan la erosión genética (Dantas *et al.*, 2002 citado en Rodríguez-Cabello *et al.*, 2014). Es importante enfatizar que todavía se desconoce gran parte de la diversidad y erosión genética de las especies nativas y domesticadas de cada región (Da Fonseca *et al.*, 2006); y aunque la *C. papaya* no se encuentra en la lista de la Norma Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2001 (especies en riesgo de extinción), el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) en Costa Rica, señala que la *C. papaya* se

encuentra entre las especies con erosión genética tipo bajo (Da Fonseca *et al.*, 2006). Con base en lo anterior, en México a través del Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (SINAREFI) se diseñó el Plan Nacional sobre los Recursos Fitogenéticos para la recolecta, conservación y empleo sustentable de material vegetativo de importancia agronómica (Molina y Córdova, 2006). La semilla de *C. papaya* se clasifica como medianamente recalcitrantes, es decir, que pierde su capacidad de germinación entre 6 meses a 6 años (Ellis *et al.*, 1991), y por ello, se usan técnicas para el cultivo de tejidos para mantener germoplasma vivo, considerando además que la multiplicación *in vitro*, reduce la erosión genética (Castellen *et al.*, 2007). Con esta finalidad, en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S. C. (CIBNOR) se están llevando a cabo estrategias para la conservación de germoplasma de papaya criolla que se desarrolla en ambientes extremos de Baja California Sur (BCS). Con base en lo anterior, se recolectaron poblaciones de *C. papaya* mediante muestras de brotes y frutos para propagarlos *in vitro*, con el fin de desarrollar vitro plantas de papaya criolla provenientes de localidades del estado de BCS para su conservación *ex situ*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se exploraron once localidades de la región norte, centro y sur del estado de Baja California Sur (BCS), México, para recolectar frutos y brotes de papaya (*Carica papaya* L.) criolla, ya que bajo las condiciones climáticas de la región de estudio no hay registro de plantas silvestres (Cuadro 1, Figura 1). Los brotes obtenidos fueron introducidos *in vitro* en solución de hipoclorito de sodio al 30% durante 15 min y se enjuagaron con agua desti-

**Cuadro 1.** Características geográficas principales de los sitios de recolecta de accesiones de *Carica papaya* L. en Baja California Sur, México.

Sitio de colecta	Latitud N	Longitud O	Altitud (m)	Número de accesiones
Ejido Ley Federal de aguas #2	25° 15' 32.2"	111° 37' 45.2"	74	9
El Comitán CIBNOR	24° 08' 08.0"	110° 25' 36.2"	8	11
El Pescadero	23° 35' 17.3"	110° 16' 09.1"	36	4
La Paz	24° 06' 54.9"	110° 19' 20.5"		5
La Purísima	26° 17' 01.0"	112° 06' 49.9"	28	1
La Ribera	23° 58' 03.2"	109° 59' 01.5"	21	3
Santiago	23° 28' 24.5"	109° 42' 31.2"	145	3
San Bartolo	23° 44' 17.2"	109° 50' 3.3"	326	19
San Javier	25° 51' 21.9"	111° 33' 11.5"	404	10
San Miguel de Comondú	26° 02' 7.6"	111° 50' 6.3"	41	10
Todos Santos	23° 27' 45.6"	110° 13' 28"	48	6



**Figura 1.** Frutos recolectados de *Carica papaya* L., procedentes del Ejido #2 de Baja California Sur, México.

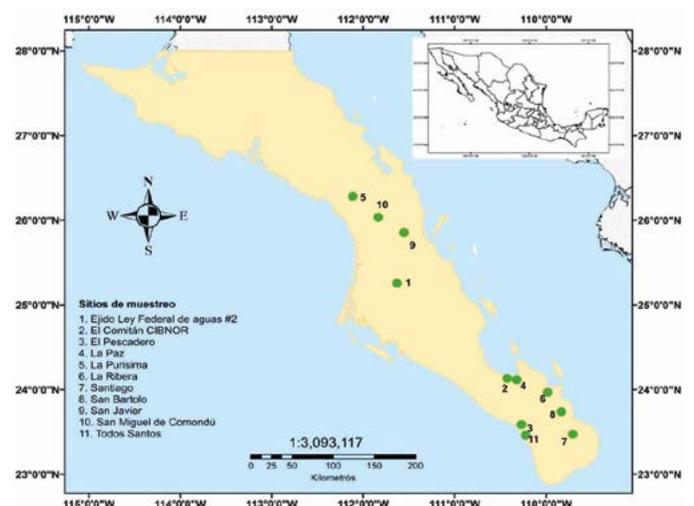
lada estéril, se colocaron en medio Murashige-Skoog (MS) con sacarosa al 3% y agar 0.8%. Se mantuvieron en condiciones controladas a  $25 \pm 2$  °C de temperatura y fotoperiodo de 16 horas de luz por ocho horas de oscuridad. De los frutos maduros se extrajeron semillas, eliminando el arilo y mucilago (Pohlan *et al.*, 2001). Se secaron a la sombra por 48 horas a temperatura ambiente sobre papel absorbente y posteriormente se almacenaron en sobres de papel (Hernández-Salinas *et al.*, 2012). Para la introducción *in vitro* se tomaron semillas de 1 a 2 meses de recolecta, desinfectándolas con hipoclorito de sodio comercial al 30% y se sembraron en frascos de vidrio de 120 ml conteniendo agar al 0.8% bajo condiciones asépticas, incubándolas a  $30 \pm 2$  °C. A partir de las plántulas desarrolladas *in vitro*, se tomaron los brotes y se transfirieron a medio MS con ácido nafaleno acético ( $2 \text{ mg L}^{-1}$ ) y adenina ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) (MNA), así como, MS con ácido indolbutírico (IBA,  $1 \times 10^{-5}$  M) y kinetina ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) (MIK), y para la inducción del enraizamiento se evaluaron  $3 \mu\text{M}$  de IBA. Se realizaron pruebas de trasplante y acondicionamiento de las plántulas *in vitro* a maceta en invernadero durante dos meses con riego dos veces por semana. Se mantuvieron a temperatura de  $25 \pm 5$  °C e iluminación solar. El trasplante definitivo fue en suelo arenoso y condiciones con temperatura media anual de 24 °C y precipitación media anual de 267 mm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las accesiones mostraron variación en dimensión de fruto (diámetros y masa), incluso en frutos recolectados en la misma localidad (Figura 1), registrando frutos grandes, principalmente los procedentes del Ejido #2, con valores de hasta  $1.6 \text{ kg fruto}^{-1}$ .

La variación morfológica observada genera la posibilidad de ser utilizada para programas de mejoramiento a través de la hibridación y selección, tal como lo sugieren Rodríguez-Cabello *et al.* (2014), y como ejemplo de lo anterior, se registra el híbrido MSXJ, obtenido por Mirafuentes-Hernández y Santamaría-Basulto (2014) a partir de plantas criollas y 'Maradol' en el Campo Experimental del INIFAP en Huimanguillo, Tabasco, México. Se obtuvieron 81 accesiones en diferentes localidades (Cuadro 1, Figuras 2, 3), de las cuales se regeneraron 53 accesiones *in vitro* a partir de semilla germinadas y 28 accesiones de plantas *in vitro* a partir de brotes, en algunos casos fue posible obtener brotes y frutos de la misma accesión. La introducción de brotes disminuyó debido a contaminación. Al respecto, Roque y Ardisana (2006) reportan que la contaminación bacteriana en cultivo de tejidos de papaya es limitante, ya que las bacterias son endófitas y se encuentran en las células lactíferas internas y por lo tanto son difíciles de erradicar mediante descontaminación externa. Los brotes que se lograron introducir exitosamente *in vitro*, se desarrollaron muy lentamente y fue difícil su multiplicación. En los casos de éxito, los brotes enraizaron después de seis meses de introducción *in vitro* (Figura 4).

El Cuadro 2, muestra los valores de germinación de semillas registrando que aunque se tomaron semillas recientemente recolectadas, el porcentaje de enraizamiento fue bajo. Aunque fue baja la germinación, se obtuvo suficiente material para iniciar la propagación mediante cultivo de tejidos, y no germinaron las semillas de todos los frutos muestreados.



**Figura 2.** Distribución de *Carica papaya* L. criolla en Baja California Sur, México.



**Figura 3.** Sitios de recolecta en Baja California Sur: A: San Javier, B: La Paz, C: El Comitán, D: San Bartolo, E: Ejido #2, F: San Miguel de Comondú.



**Figura 4.** Inducción de brotes de *Carica papaya* L., a medio Murashige-Skoog (MS) con hormonas para el enraizamiento. A: brote recolectado (apical), B: brote en MS una vez desinfectado, C: callo, D: enraizamiento en brote.

**Cuadro 2.** Resultados de germinación de semillas de *Carica papaya* L., de accesiones obtenidas.

Sitio	1	2	4	8	9	10	11
% germinación	34	47	40	32	25	14	10

### Propagación y enraizamiento *in vitro*

El mayor valor de enraizamiento (36%) se obtuvo en medio MS con naftalen acético ( $2 \text{ mg L}^{-1}$ ) y adenina ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) (MNA) en comparación en el medio MS con ácido indolbutírico (IBA,  $1 \times 10^{-5} \text{ M}$ ) y kinetina ( $5 \text{ mg L}^{-1}$ ) (MIK) donde se obtuvo el 4.5% de enraizamiento. Los brotes introducidos en medio MNA generaron pocos brotes laterales, en comparación con MIK. Los brotes introducidos en medio MNA enraizaron a partir de las dos semanas siguientes a su introducción. El problema principal con los medios MNA y MIK probados fue la formación de callos. Por lo que se evaluó una concentración de IBA en medio MS para lograr el enraizamiento con una disminución de formación de callos, registrando que la concentración  $3 \mu\text{M}$  de IBA genera el enraizamiento de los brotes de papaya sin la formación de callo con porcentaje de enraizamiento de 73% (Figura 5 A), mientras que las pruebas de trasplante de plántulas *in vitro* a maceta, registraron 58% de sobrevivencia, y de éstas, 57% fueron sembradas en campo. (Figuras 5 B, C).

### CONCLUSIÓN

La multiplicación de brotes de papaya obtenidos en campo es muy lenta. Sin embargo, es la mejor manera de garantizar la



**Figura 5.** A: Generación de raíces de *Carica papaya* L., aplicando IBA 3  $\mu$ M. B: adaptación en invernadero. C: Germoplasma *ex situ* trasplantadas a campo a partir de plántulas *in vitro*.

identidad y éxito de las accesiones y preservar las características deseables, registrando que una vez establecidas la plantas, el desarrollo fue rápido, logrando propagar el germoplasma de papaya criolla en condiciones *in vitro*, así como, llevar a cabo su multiplicación en cultivo de tejidos y el desarrollo y mantenimiento *ex situ*. La colección de germoplasma permite, la reducción de la pérdida de recursos fitogenéticos o erosión genética.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación es resultado de actividades de la Red de Papaya, y se agradece al Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura (SAGARPA-SNICS-SINAREFI) por el financiamiento de la presente investigación. Al CIBNOR por el apoyo recibido, a Diana Dorantes-Salas por edición en inglés y Elvia Pérez Rosales por elaboración del mapa.

## LITERATURA CITADA

- Castellen S.M., da Silva C.A., Oliverira E.J., Monteiro L.S., Loyola J.L. 2007. Caracterizaçõ de acessos do banco activo de germoplasma de mamao por meio de análise multivariada. *Magistra*, Cruz das Almas-BA 19: 299-303.
- Da Fonseca M.A.J., da Silva-Wetzel M.M.V., Celso-Candeira A. 2006. El estado del arte de los recursos genéticos en las Ámericas: Conservación, caracterización y utilización. Embrapa. Brasilia, Brasil. 1-61 p.
- Dantas J., Dantas A., Lima F. 2002. Mamoeiro. *In*: Bruckner, C.H (Eds). *Melhoramento de fruteiras tropicais*, Viçosa: UFV. pp. 309-349.
- Dantas J.L., de Souza R.M., Firmino J., Ferreira F. R. 2000. Catálogo de germoplasma de mamao (*Carica papaya* L.). Embrapa Mandioca e Fruticultura. Cruz das Almas, Bahía, Brasil. 40 p.
- Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H. 1991. Effect of storage temperature and moisture on the germination of papaya seeds. *Seed Science Research* 1, 69-72.
- Hernández-Salinas G., C Ávila-Reséndiz, Soto-Estrada A., García-Pérez E., Pérez-Vázquez A., Córdova-Téllez L. 2012. Mantenimiento de las colectas de semilla de *Carica papaya* L. Resúmenes Ejecutivos Ejercicio Fiscal 2010. SAGARPA-SNICS-SINAREFI. México. 121-122 pp
- Jaramillo S., Baena M. 2000. Material de apoyo a la capacitación en conservación *ex situ* de recursos fitogenéticos. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali, Colombia. 122 p.
- Mirafuentes-Hernández F., Santamaria-Basulto F. 2014. MSXJ, híbrido de papaya sin carpeloidía para el sureste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 7:1297-1301.
- Molina-Moreno J.C., Córdova-Téllez L. 2006. Recursos fitogenéticos de México para la alimentación y la agricultura: Informe Nacional 2006. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación y sciedad mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México. 172 p.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised médium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15: 473-497.
- Pohlan J., Collazos M.E., Coss R.M. 2001. El cultivo orgánico de la papaya (*Carica papaya* L.). I: Polhan, J. (ed). *La Fruticultura Orgánica en el Cauca*, Colombia. Ed. Shaker Verlag Aachon. Alemani 175-189 p.
- Rodríguez-Cabello J., Díaz-Hernández Y., Pérez-González A., Natali-Cruz Z., Rodríguez-Hernández P. 2014. Evaluación de la calidad y el rendimiento en papaya silvestre (*Carica papaya* L.) de Cuba. *Cultivos Tropicales*. 35(3):36-44.
- Roque L.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. Tesis. Centro Universitario de las Tunas "Vladimir I. Lenin" Facultad de Ciencias Agrícolas, Departamento de Biología. Las Tunas, Cuba. 38 p
- Singh A.K., Bajpai A., Singh A. 2010. Classification f morphoagronomic variability in papaya for developing elite cultivar. *Acta Horticulturae*, 851: 137-144.
- Terán S., Rasmussen C.H. 1995. Genetic diversity and agricultural strategy in 16<sup>th</sup> century and present day Yucatecan Milpa agriculture. *Biodivers. Conserv.* 4: 363-381.