

EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DE DESINFECCIÓN PARA EL ESTABLECIMIENTO IN VITRO DE PAPAYA (*Carica papaya* L.) EN LA ESTACIÓN EXPERIMENTAL SAPECHO

Evaluation of three disinfection methods for the in vitro establishment of papaya (*Carica papaya* L.) in the Sapecho Experimental Station

Johnny Ticona Aliaga¹; Mary Laura Triguero Triguero²

RESUMEN

El cultivo de la papaya presenta ventajas a diferencia de otros cultivos como la calidad del fruto, desarrollo vegetativo corto y la cosecha semanal después de haber iniciado la producción, permitiendo el rápido retorno del capital invertido. La producción de papaya es afectada por enfermedades causadas por hongos y bacterias, siendo estos los principales problemas de mayor limitación. Una forma de obtener plantas libres de patógenos es a través del cultivo de tejidos in vitro. El presente trabajo se realizó con el objetivo de realizar el establecimiento in vitro del cultivo de papaya utilizando tres métodos de desinfección en yemas apicales de las variedades Red Lady y Salvietty. El estudio fue desarrollado en la Estación Experimental Sapecho situada en el municipio de Palos Blancos del departamento de La Paz, para la desinfección de los explantes se utilizaron tres métodos, el primer método de desinfección fue solamente con hipoclorito de sodio y en los restantes dos métodos se utilizó alcohol e hipoclorito de sodio, previo a esta desinfección se realizó una pre desinfección a todos los tratamientos utilizando un bactericida y fungicida. Se tuvo seis tratamientos evaluados bajo un diseño completamente al azar con arreglo bifactorial. Los resultados mostraron que el porcentaje de contaminación de yemas apicales con mayor significancia fue de 39.80% independiente de la variedad, obtenido mediante el método de desinfección I, el método de desinfección que tuvo mayor porcentaje de sobrevivencia fue el método III con 82.1%. La variedad de papaya Red Lady y Salvietty no tuvieron influencia en el porcentaje de contaminación y supervivencia por lo que los resultados muestran a este factor como no significativo, sin embargo, la variedad Red Lady presentó mejores resultados para ambos casos.

Palabras clave: *Carica papaya* L., variedades, contaminación, desinfección, in vitro.

ABSTRACT

The cultivation of papaya has advantages unlike other crops such as fruit quality, short vegetative development and weekly harvest after having started production, allowing the rapid return of capital invested. Papaya production is affected by diseases caused by fungi and bacteria, these being the main problems of greatest limitation. One way to obtain pathogen-free plants is through in vitro tissue culture. The present work was carried out with the objective of carrying out the in vitro establishment of the papaya crop using three methods of disinfection in apical buds of the Red Lady and Salvietty varieties. The study was developed in the Sapecho Experimental Station located in the municipality of Palos Blancos in the department of La Paz, for the disinfection of the explants three methods were used, the first disinfection method was only with sodium hypochlorite and in the other two methods alcohol and sodium hypochlorite were used. Prior to this disinfection, a pre-disinfection was carried out on all treatments using a bactericide and fungicide. Six treatments were evaluated under a completely randomized design with a bifactorial arrangement. The results showed that the percentage of contamination of apical buds with greater significance was 39.80% independent of the variety, obtained by the disinfection method I, the disinfection method that had the highest percentage of survival was method III with 82.1%. The papaya variety Red Lady and Salvietty had no influence on the percentage of contamination and survival, so the results show this factor as not significant, however, the Red Lady variety showed better results for both cases.

Keywords: *Carica papaya* L., varieties, contamination, disinfection, in vitro.

¹ Docente Investigador, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. johnnyticon@gmail.com

² Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

En Bolivia la papaya (*Carica papaya* L.) es una especie de gran importancia económica debido a su alto rendimiento y valor nutricional, también porque puede ser consumido como fruta fresca o procesada. El cultivo presenta una serie de ventajas como la calidad del fruto, corto desarrollo vegetativo y la cosecha semanal después de haber iniciado la producción, permitiendo el rápido retorno del capital invertido.

Según el INE (2015) la producción de papaya en Bolivia se ha incrementado en los últimos años, para el 2013 llegó a 7892 toneladas métricas en una superficie cultivada de 2327 hectáreas. El INE y MDRyT (2012) mencionan que para el año 2011 se registró como uno de los principales productores de papaya al trópico del departamento de La Paz con 2924 toneladas métricas seguido de Cochabamba y Santa Cruz con 2302 y 1212 toneladas métricas respectivamente, de tal manera la distribución de esta fruta es a nivel nacional y dentro del área de producción debido a la demanda que ejerce en las áreas rurales de todo el país.

La región de Alto Beni se caracteriza por tener diversidad de cultivos, entre estos, la papaya ocupa el sexto lugar en los cultivos de mayor importancia económica de la región (PDM, 2014). Las variedades más cultivadas en esta región son la Red Lady y Salvietty, la primera posee buenas características fenotípicas en relación a la calidad del fruto, porte de la planta y elevado rendimiento de frutos por árbol, la segunda variedad tiene buenas características organolépticas, con tolerancia a enfermedades causadas por diversos patógenos y el fruto tiene aceptación en el mercado.

Actualmente el área de producción de papaya es afectada por la presencia de enfermedades causada por diversos microorganismos comprendidos por hongos y bacterias, siendo estos uno de los

principales problemas de mayor limitación, seguido de un manejo inadecuado y baja fertilidad del suelo, que acortan el abastecimiento de este producto al mercado local y nacional. Existen diversas formas de propagar la papaya de manera convencional (por semilla, estacas o injertos), sin embargo, una forma de obtener plantas libres de patógenos es a través del cultivo de tejidos in vitro que permite la eliminación de microorganismos (hongos y bacterias) presentes en los tejidos de las plantas, empleando principalmente diferentes tratamientos de desinfección, siendo ésta fase la más importante para eliminación de estos microorganismos (Soliz et al., 2012).

Por tal razón, el objetivo del estudio fue realizar el establecimiento in vitro del cultivo de papaya utilizando tres métodos de desinfección en yemas apicales de las variedades Red Lady y Salvietty.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación de la zona de estudio

El trabajo se desarrolló en el laboratorio de Biotecnología de la Estación Experimental Sapecho, dependiente de la Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés. Se encuentra en el municipio de Palos Blancos, a 270 km al norte de la ciudad de La Paz, entre 15° 33' 53.57" de latitud sur y 67° 19' 11.23" de longitud oeste, a una altitud de 400 m s.n.m.

Metodología

Las yemas apicales de papaya seleccionadas se sometieron a dos desinfecciones. En la primera desinfección los explantes fueron lavados con agua corriente por 5 minutos y enjuagados con agua destilada, posterior a ello se sometieron a una desinfección utilizando un agente antibacterial y fungicida (Tabla 1).

Tabla 1. Materiales utilizados en la primera desinfección de yemas apicales de papaya.

Detalle	Pasos			
Soluciones	Jabón líquido + detergente	Jabón desinfectante antibacterial (gel)	DG6 (bactericida)	Benlate (fungicida)
Concentración	Dilución en 300 ml de agua estéril	Puro	50 ml L ⁻¹	8 ml L ⁻¹
Tiempo	15 minutos	6 minutos	20 minutos	15 minutos

Para la segunda desinfección, se emplearon los métodos propuestos por Posada (2004), Solis (2012) y Gomes (2018), denominados como método I, II, y III respectivamente. Para el método I sólo se utilizó

hipoclorito de sodio al 1% de concentración durante 10 minutos, en el método II se empleó alcohol al 70% de concentración por 30 segundos e hipoclorito de sodio de 1% de concentración por 10 minutos, para el método

III se usó alcohol al 70% de concentración durante un minuto e hipoclorito de sodio al 2% de concentración durante 8 minutos. En todos los métodos se aplicó tres enjuagues con agua estéril, dicho proceso se llevó dentro de la cámara de flujo laminar. Al término de la desinfección superficial, se diseccionaron los ápices, realizando cortes con bisturí número 11 sobre una caja Petri, eliminando las hojas en desarrollo y la base del

ápice, llegando así a un tamaño adecuado de 10 milímetros (Figura 1) para luego sembrarlo en el medio Murashige y Skoog (MS) modificado (MS + AIA 0.5 mg L⁻¹ + 6-BAP 0.5 mg L⁻¹ + sulfato de adenina 10 mg L⁻¹). Según Gomes (2018) conforme aumenta el tamaño del explante, aumenta el porcentaje de contaminación por hongos o bacterias.



Figura 1. Disección del explante (yema apical).

Realizada la siembra, se procedió al sellado y marcado de las muestras, considerando la fecha de establecimiento y la variedad empleada. Estos fueron llevados a la sala de incubación, bajo las condiciones de temperatura de 27°C, humedad relativa de 66%, fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas oscuras. Durante 15 días se evaluó el porcentaje de contaminación y

porcentaje de supervivencia, seguido de 60 días de evaluación del desarrollo de los explantes. Se aplicó un diseño completamente al Azar, con arreglo bi factorial de 3x2 (3 métodos de desinfección por 2 variedades de papaya) con tres repeticiones por tratamiento (Vicente, s.f.). Los tratamientos fueron los que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Descripción de los tratamientos evaluados.

Tratamiento	Métodos de desinfección	Variedad
T1	Método I (hipoclorito 1% por 10 minutos)	Red Lady
T2	Método II (alcohol 70% por 30 segundos + hipoclorito de sodio 1% por 10 minutos)	Red Lady
T3	Método III (alcohol 70% por 1 minuto + hipoclorito de sodio 2% por 8 minutos)	Red Lady
T4	Método I (hipoclorito 1% por 10 minutos)	Salvietty
T5	Método II (alcohol 70% por 30 segundos + hipoclorito de sodio 1% por 10 minutos)	Salvietty
T6	Método III (alcohol 70% por 1 minuto + hipoclorito de sodio 2% por 8 minutos)	Salvietty

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de contaminación

Los resultados presentados en el análisis de varianza (Tabla 3) para el porcentaje de contaminación muestra diferencias significativas entre los métodos de desinfección, no hubo diferencias significativas entre variedades y la interacción de las mismas.

Tabla 3. Análisis de varianza para el porcentaje de contaminación.

	FV	SC	GL	CM	F	p-valor	Sig.
Método de desinfección (A)		0.28	2	0.14	8.78	0.0014	*
Variedad (B)		0.05	1	0.05	3.04	0.0943	ns
(AxB)		0.01	2	0.00	0.20	0.8183	ns
Error		0.38	24	0.02			
Total		0.72	29				

Coeficiente de variación = 7.71%; FV = fuentes de variación; SC = suma de cuadrados; GL = grados de libertad; CM = cuadrados medios; F = F calculado; p-valor = probabilidad; Sig. = significancia; * = significativo; ns = no significativo.

Para los métodos de desinfección, por medio de la prueba de Tukey, se identificaron dos grupos, el primero compuesto por los tratamientos T1 y T4 que obtuvo alta contaminación por hongos y bacterias (Figura 2) con el 39.80%, seguido del segundo grupo

correspondiente a los tratamientos T2 y T5 con 21% de contaminación y T3 y T6 con 17.10% de contaminación, denotando que con la aplicación del método III se tiene menor contaminación.

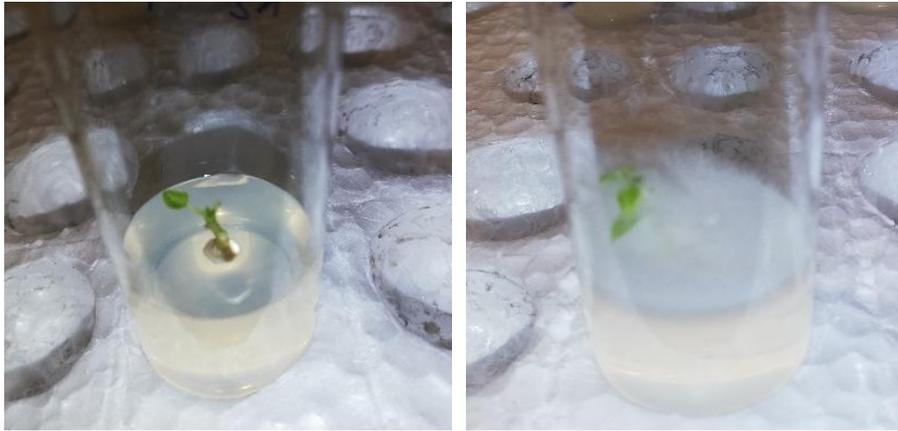


Figura 2. Yemas apicales contaminadas con bacterias (Izq.) y hongos (Der.).

Los resultados del porcentaje de contaminación por variedad de papaya (Figura 3) mostraron que se tuvo alto porcentaje de esta variable para la variedad

Salvietty bajo la aplicación de los tres métodos de desinfección, hallándose menor contaminación para la variedad Red Lady.

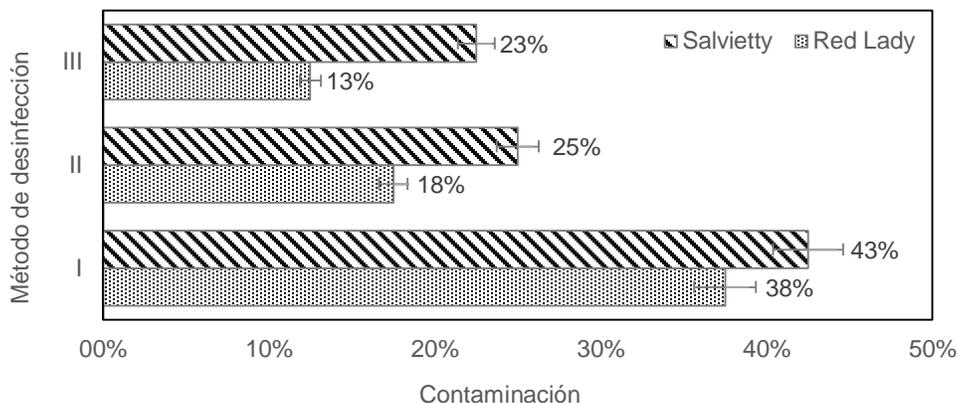


Figura 3. Porcentaje de contaminación en las variedades de papaya Salvietty y Red Lady bajo la aplicación de tres métodos de desinfección.

Los resultados obtenidos se deben a la variación de los tiempos de exposición en las soluciones desinfectantes, como también a las condiciones ambientales de donde se obtuvieron los explantes seleccionados. Al respecto, Baca (2002) menciona que el uso de alcohol al 70% e hipoclorito de sodio es muy efectivo para la desinfección de explantes y que es importante considerar el lugar de origen de las plántulas.

Solis et al. (2012) no obtuvo contaminación utilizando para su desinfección alcohol al 70% durante 30 segundos más la sumersión en hipoclorito de sodio al 1% durante 10 minutos, menciona también que es muy importante considerar la procedencia de los explantes, ya que el trabajo se realizó a partir de plántulas provenientes de invernadero. Posada (2004) obtuvo 31.5% de contaminación de una población de 20 explantes (ápices de papaya variedad IBP 42-99),

utilizando únicamente hipoclorito de sodio al 1% durante 10 minutos más la sumersión de una mezcla de antibióticos durante 30 minutos para su desinfección antes de la siembra al medio de cultivo; resultado similar a los hallados por la presente investigación.

Porcentaje de supervivencia

El resultado del análisis de varianza (Tabla 4) señala que se tuvo diferencia significativa entre los métodos de desinfección, mientras que para las variedades y la interacción entre los métodos de desinfección y variedades con relación a la supervivencia de explantes no se observaron diferencias estadísticas.

Tabla 4. Análisis de varianza para el porcentaje de supervivencia.

FV	SC	GL	CM	F	p-valor	Sig.
Método de desinfección (A)	0.08	2	0.04	9.53	0.0009	*
Variedad (B)	0.01	1	0.01	2.65	0.1165	ns
(AxB)	0.00	2	0.00	0.07	0.9308	ns
Error	0.11	24	0.00			
Total	0.20	29				

Coefficiente de variación = 3.46%.

A través de la prueba de Tukey se identificó que no existieron diferencias estadísticas en los métodos de desinfección II (T2 y T5) y III (T3 y T6) donde hubo promedios altos de supervivencia de los explantes del 78.5% y 82.1% respectivamente. El método de desinfección I (T1 y T4) causó menor porcentaje de supervivencia del 59.8%.

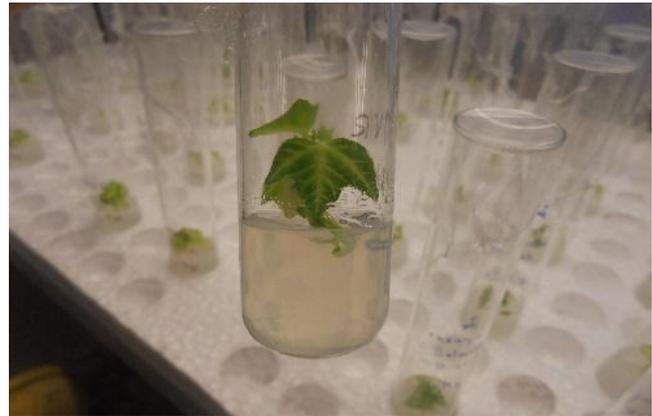


Figura 4. Supervivencia de explantes.

El mayor porcentaje de supervivencia fue para la variedad Red Lady bajo la aplicación de los tres métodos de desinfección, siendo mayor para el método III con 87.5% de supervivencia (Figura 5).

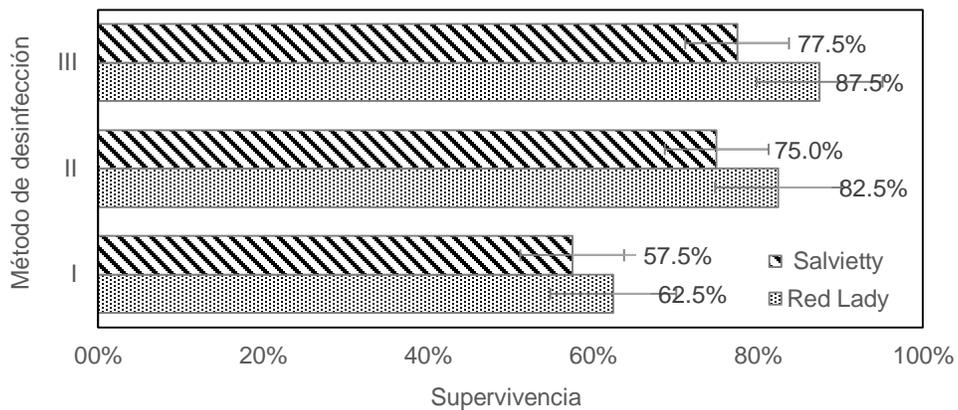


Figura 5. Porcentaje de supervivencia en las variedades de papaya Salvietty y Red Lady bajo la aplicación de tres métodos de desinfección.

El uso de alcohol al 70% como desinfectante previo a la desinfección con hipoclorito de sodio fue el más efectivo que la desinfección únicamente con hipoclorito de sodio esto se debe a que el alcohol genera una desnaturalización enzimática permitiendo la penetración del agente desinfectante. Al respecto Aguirre et al. (2016) indican que con el uso de alcohol al 70% en tiempos cortos se elimina las grasas de las

hojas y permite mejor penetración del agente desinfectante en los explantes. Gomes (2018), realizó una investigación similar obteniendo el 100% de supervivencia del material vegetal, utilizó alcohol al 70% por 1 minuto e hipoclorito de sodio al 2% durante 6 a 8 minutos. Posada (2004) obtuvo el 68.5% de supervivencia utilizando únicamente hipoclorito de sodio al 1% durante 10 minutos.

CONCLUSIONES

El uso combinado de alcohol e hipoclorito de sodio fue el más efectivo para el establecimiento in vitro de papaya mediante yemas apicales. El porcentaje de contaminación de yemas apicales con mayor significancia fue de 39.80% independiente de la variedad, obtenido mediante el método de desinfección I (hipoclorito de sodio al 1% por 10 minutos). El método de desinfección que tuvo mayor porcentaje de sobrevivencia fue el método III (alcohol al 70% por 1 minuto e hipoclorito de sodio al 2% por 8 minutos) alcanzando el 82.1% de establecimiento de yemas apicales de papaya, seguido del método II (alcohol al 70% por 30 segundos e hipoclorito de sodio al 2% por 10 minutos) con el 78.5% de establecimiento.

La variedad de papaya Red Lady y Salvietty no tuvieron influencia en el porcentaje de contaminación y supervivencia por lo que los resultados muestran a este factor como no significativo. De esta forma se establece que el mejor método de desinfección, que dio mejores resultados, fue el III para ambas variedades de papaya, con superioridad en la variedad Red Lady, representando una importante recomendación a fin de obtener plántulas de papaya libres de enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

Aguirre, G., Pierre, J., Leigue, L. 2016. Aplicación del cultivo de tejidos en la multiplicación y conservación de los recursos fitogenéticos. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba, Bolivia. 241 p.

Baca, A. 2002. Optimización de la micropropagación in vitro de *Carica papaya* L. Tesis. Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina. 107 p.

Gomes, R. 2018. Estandarización de un protocolo de micropropagación de papaya (*Carica papaya* L.) en un sistema de inmercion temporal de vasos gemelos (BIT). Tesis. Medellín, Colombia. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias. 90 p.

INE (Instituto Nacional de Estadística). 2015. Censo agropecuario 2013 Bolivia. 143 p.

INE (Instituto Nacional de Estadística) y MDRyT (Ministerio de Desarrollo Rural y Tierras). 2012. Datos estadísticos del cultivo de la papaya Compendio Agropecuario. 488 p.

PDM (Plan de Desarrollo Municipal). 2014. PDM, Desarrollo Productivo, Municipio de Palos Blancos. La Paz, Bolivia.

Posada, L. 2004. Establecimiento in vitro de ápices de plantas de campo del híbridocubano de Papaya. Cuba. pp. 42-99.

Soliz, R., Olivera, J., Rafael, S., La Rosa, L. 2012. Propagación in vitro de *Carica papaya* var.PTM-331 a partir de meristemas apicales. Revista Peruana de Biología, v. 18, n. 3, 343-347.

Vicente, J. s.f. Guía Metodológica de diseños experimentales. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia.

Artículo recibido en: 18 de febrero 2019

Aceptado en: 8 de junio 2019