

UCUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias
Carrera de Ingeniería Agronómica

Evaluación de la brotación *in vitro* de brotes y segmentos de tallo con brote de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco'), tratadas con diferentes concentraciones de Thidiazuron (TDZ) y 6 Bencilaminopurina (BAP)

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera
Agrónoma

Autora:

Isabel Cristina Rodríguez Zalamea

CI: 0107293706

Isabelr1998@hotmail.com

Directora:

Blga. Denisse Fabiola Peña Tapia M.Sc.

CI: 0102501889

Cuenca - Ecuador

19-septiembre-2022

RESUMEN

El babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco') es una planta originaria de los Andes ecuatorianos, su fruto posee gran importancia nutricional y comercial por su uso en la industria, sin embargo, el mayor problema de este cultivo es su forma de propagación ya que al poseer un fruto partenocárpico (sin semillas), su única forma de reproducción es la asexual, por lo que es muy común la transferencia de enfermedades a través del material vegetal, se conoce que una alternativa para la multiplicación de este cultivar es la propagación *in vitro* utilizando material vegetal sano en condiciones de asepsia. En la fase de multiplicación *in vitro* es necesario el empleo de reguladores de crecimiento para que se dé un desarrollo adecuado y acelerado de nuevo tejido vegetal. En el presente trabajo se evaluó la brotación *in vitro* de dos tipos de explantes 1) brotes y 2) segmentos de tallo con brote, los que fueron tratados con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento Thidiazuron (TDZ) y 6 Bencilaminopurina (BAP). Los resultados mostraron que el regulador de crecimiento que produjo los mejores resultados fue TDZ en la concentración de 1.50 mg/L, obteniendo un promedio de 6.5 brotes, adicionalmente se observó que es importante considerar los tiempos de exposición hormonal de los explantes para que estos no presenten pérdida de vigor.

Palabras clave: Babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco'). Reguladores de crecimiento. TDZ. BAP. Propagación *in vitro*. Explantes.

Abstract

Babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco') is a native plant from Ecuadorian Andes, its fruit has great nutritional and commercial importance due to its use in industry. Nevertheless, this crop face an important problem, related to its propagation method, which has a parthenocarpic fruit, without seeds, being asexual its only form of reproduction, so the transfer of diseases through plant material is very common. It is known that an alternative for the propagation of this crop is the propagation *in vitro* using healthy plant material under aseptic conditions. In the *in vitro* multiplication phase, growth regulators are necessary for the adequate and accelerated development of new plant tissue. In this work two explant types were used for; *in vitro* sprouting evaluation 1) shoots and 2) stem segments with shoots of babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco'), treated with different concentrations of Thidiazuron (TDZ) and 6-Benzylaminopurine (BAP), were evaluated. The growth regulator that produced the best results was TDZ at a concentration of 1.50 mg/L, obtaining an average of 6.5 shoots, in addition, it was observed that it is important to consider the hormonal exposure times of the explants so that they do not show loss of vigor.

Keywords: Babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco'). Plant bioregulators. TDZ. BAP. *In vitro* propagation. Explants.

TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	9
2. OBJETIVOS.....	10
2.1. Objetivo general	10
2.2. Objetivos específicos	10
3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	11
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	11
4.1 Babaco descripción, origen y taxonomía.....	11
4.2 Importancia en el Ecuador	12
4.3 Problemas fitosanitarios en el babaco.....	13
4.4 Propagación <i>in vitro</i> de plantas	14
4.4.1 Fase de multiplicación en la propagación <i>in vitro</i> de plantas.....	14
4.4.2 Reguladores de crecimiento	15
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
6. RESULTADOS	18
7. DISCUSIÓN.....	21
8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	23
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
10. ANEXOS	27

Índice de figuras

Figura 1. (a) Segmento de tallo con brote (b) Brote.....	17
Figura 2. Número de brotes obtenidos con la aplicación de BAP y TDZ en explantes tipo brote de babaco.	17
Figura 3. Número de brotes obtenidos con la aplicación de BAP y TDZ en explantes tipo tallo con brote de babaco.....	17

Figura 4. Maximos y minimos de brotes en los tratamientos de los explantes tipo brote	19
Figura 5. Maximos y minimos de brotes en los tratamientos de los explantes tipo tallo con brote	19
Figura 6. Perdida de vigor posterior a los 60 días del establecimiento.....	19

Lista de anexos

Anexo 1. Material vegetal inicial utilizado para la extracción de explantes.....	27
Anexo 2. Siembra de inicio de explantes brote y tallo con brote.....	27
Anexo 3. Establecimiento de repeticiones.....	28
Anexo 4. Explantes contaminados.....	28
Anexo 5. Tratamiento control repetición 1. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra	29
Anexo 6. Tratamiento control repetición 2. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra	29
Anexo 7. Tratamiento TDZ 1,50 mg/L Brote repetición 1. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra.....	30
Anexo 8. Tratamiento TDZ 1,50 mg/L Brote repetición 2. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra.....	30
Anexo 9. Tratamiento BAP 1,50 mg/L Tallo con brote repetición 1. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra	31
Anexo 10. Tratamiento BAP 1,50 mg/L Tallo con brote repetición 2. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra	31

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Isabel Cristina Rodríguez Zalamea en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Evaluación de la brotación *in vitro* de brotes y segmentos de tallo con brote de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco'), tratadas con diferentes concentraciones de *Thidiazuron* (TDZ) y 6 Bencilaminopurina (BAP)", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 19 de septiembre del 2022



Isabel Cristina Rodríguez Zalamea

C.I: 0107293706

Cláusula de Propiedad Intelectual

Isabel Cristina Rodríguez Zalamea, autor/a del trabajo de titulación "(Evaluación de la brotación *in vitro* de brotes y segmentos de tallo con brote de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco'), tratadas con diferentes concentraciones de Thidiazuron (TDZ) y 6 Bencilaminopurina (BAP)", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 19 de septiembre del 2022



Isabel Cristina Rodríguez Zalamea

C.I: 0107293706

AGRADECIMIENTO

Agradezco infinitamente a mi familia, por su apoyo incondicional en cada etapa de mi desarrollo humano y académico. A mi padre por inculcarme y demostrarme el valor del trabajo duro y la perseverancia. A mi madre, por su ejemplo de perseverancia y jamás renunciar. A mi tutora de tesis Blga. Denisse Peña por compartir sus conocimientos y apoyarme en todo el desarrollo de mi trabajo de titulación. Y un agradecimiento especial a la Ing. Diana Curillo quien me ayudo durante todo el trabajo de campo teniéndome paciencia y enseñándome paso a paso lo necesario. Por último, a mi querida tía Cecilia Suárez, por sus consejos y ayuda, que para mí fueron imprescindibles en este proceso.

DEDICATORIA

Mi tesis se la dedico a mis abuelas, Sara León y Alicia Idrovo quienes han sido siempre mis pilares, estando siempre seguras de mi capacidad y jamás dudar de mí, además de ser mi primer ejemplo de independencia y fuerza recordándome que no existen metas que no se puedan cumplir con el esfuerzo necesario.

1. INTRODUCCIÓN

El babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco') perteneciente a la familia Caricaceae es originario de las zonas andinas del Ecuador y Colombia, su fruto posee gran aceptabilidad tanto en el mercado interno como para exportación gracias a su alto contenido de vitamina C y por poseer papaína la cual ayuda a la digestión y específicamente al desdoblamiento de la proteína animal (Mesias, 2012).

Este fruto tradicionalmente se ha orientado al consumo en fresco, sin embargo, la industria conservera ha intensificado su interés para su producción en almíbar, mermeladas y jaleas además de posibilitar el inicio de la producción de pulpa congelada para su consumo en el mercado local y de exportación (CORPEI, 2006).

Este producto ha sido catalogado en el mercado internacional como una fruta exótica exportada a la Unión Europea, especialmente Holanda y Alemania por lo que la potencialidad de exportación de este cultivo es muy considerable (Cueva, 2007).

En las últimas décadas la producción del babaco se ha intensificado, sobre todo bajo invernadero, sin embargo, existen fuertes limitaciones debido a la forma de reproducción del cultivo ya que este al no poseer semillas requiere de reproducción asexual lo que provoca problemas de pérdida de variabilidad genética y fuertes problemas fitosanitarios relacionados con patógenos, especialmente hongos (Cueva, 2007).

Como lo menciona Dominguez, et al. (2008) una alternativa prometedora para la solución de problemas como el lento crecimiento de las plantas, las bajas tasas de reproducción asexual y problemas fitosanitarios propios de la especie es el uso de técnicas de propagación y mejoramiento que provee la biotecnología vegetal, además de la obtención de uniformidad del material vegetal y la obtención de gran número de plantas y el espacio requerido es mínimo.

Para el desarrollo de cultivos *in vitro* estos explantes deben pasar por una primera etapa de desinfección, seguido del proceso de rediferenciación,

donde, se toman distintas rutas para la formación de callos, órganos, embriones somáticos entre otras estructuras con el fin de dar origen a la nueva planta. Para que se desarrolle esta segunda fase los explantes deben ser cultivados en medios de cultivo semisólidos o líquidos con diferentes requerimientos nutricionales y hormonales, esto depende del objetivo de la investigación (Perea, 2009).

Dentro de los reguladores de crecimiento se encuentran las citoquininas, las cuales promueven la división celular en tejidos no meristemáticos. Entre las principales citoquininas sintéticas que se utilizan en cultivo de tejidos *in vitro*, están: 6 bencilaminopurina (BAP), thidiazuron (TDZ), (N6 - furfuriladenina) kinetina, N6 - benciladenina (BA), N6 (2-isopentil) adenina (2-iP) (Perea, 2009).

La presente investigación aportará con información útil respecto a la multiplicación *in vitro* de material vegetal libre de patógenos lo cual repercute en la productividad de esta especie la misma que tiene gran importancia a nivel local y nacional, además, de ser un producto con gran potencial de exportación.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la brotación *in vitro* de brotes y segmentos de tallo con brote de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco'), tratadas con diferentes concentraciones de TDZ y BAP.

2.2. Objetivos específicos

- 2.2.1. Evaluar el efecto de diferentes concentraciones de dos biorreguladores TDZ y BAP en la brotación de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco').
- 2.2.2. Identificar el tipo de explante (brote o segmentos de tallo con brote) que presenta mayor brotación al ser tratado con diferentes concentraciones de BAP y TDZ.

3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

La aplicación de reguladores de crecimiento Thidiazuron (TDZ) y 6 Bencilaminopurina (BAP) en distintas concentraciones influye positivamente en el proceso de brotación *in vitro* en distintos tipos de explantes, brotes y segmentos de tallo con brote de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv 'babaco').

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Babaco descripción, origen y taxonomía

Vasconcellea x heilbornii cv. 'babaco' pertenece a la familia Caricaceae caracterizada por su hábito de crecimiento arbustivo o arbóreo con tallos blandos, tronco sin ramificar que termina en un racimo de hojas palmoides; hojas alternas grandes, largamente pecioladas, palmatinervias, palmatilobuladas o palmaticompuestas. Sus flores son unisexuales, pentámeras con sépalos y pétalos soldados formando tubos. Sus frutos son carnosos y grandes (Rivas, 2015).

El fruto del babaco es una baya sin semillas, por lo que no necesita de polinización para desarrollarse, es alargado de forma pentagonal, miden 25 cm de largo por 11 cm de diámetro poseen un peso entre 0.68 a 1.50 kg; pueden producir 50 kg de fruta por m², con frutos de diferentes tamaños (Caguana, 2003).

Al no poseer semillas, la propagación del babaco se hace de forma asexual; ésta se realiza mediante estacas, brotes tiernos o por injertos, generalmente logrando un buen sistema radicular, entre 60 y 90 días después de su siembra (Caguana, 2003).

La familia Caricaceae se encuentra distribuida geográficamente en zonas de América Tropical y Subtropical, desde México hasta Chile y Argentina. Esta familia está conformada por 4 géneros y 30 especies de los cuales los taxones de interés comercial son: *Carica*, *Cylicomorpha*, *Vasconcella* y *Jacaratia* (Rivas, 2015).

La primera descripción taxonómica del babaco fue realizada por Heilborn en 1922 quien lo nombró *Carica pentagona* por creer que se trataba de una

nueva especie, no fue hasta el año de 1987 cuando Badillo demostró que el babaco resultó ser un híbrido natural producto del cruce entre las especies *Carica pubescens* (Chamburo) y *Carica stipulata* (Toroche), por lo que lo clasificó como *Carica x Heilbornii* (Badillo) variedad *pentagona* (Heilborn). El lugar de origen se encuentra en la región Centro – Sur del Ecuador, cuyos progenitores crecen en altitudes entre 1600-2800 m.s.n.m (Soria & Viteri, 1999). Actualmente su nombre científico es *Vasconcellea x heilbornii* cv. ‘babaco’

Clasificación taxonómica

Reino:	Plantae
Clase:	Angiospermae
Subclase:	Dicotyledonae
Orden:	Parietales
Familia:	Caricaceae
Género:	Vasconcellea
Especie:	heilbornii
Nombre científico:	<i>Vasconcellea x heilbornii</i> cv. babaco
Nombre común:	Babaco

(Black & Ortega, 2005)

4.2 Importancia en el Ecuador

En el Ecuador el babaco se ha cultivado en pequeñas superficies para el comercio, lo que ha ayudado al sustento de varias familias, es así que en provincias como Tungurahua, Pichincha, Azuay y Cotopaxi con el pasar de los años se han ido construyendo pequeños invernaderos; en nuestro país se utiliza el cultivo a cielo abierto y cultivo bajo invernadero, ya que, gracias a las ventajas agro-ambientales del Ecuador, se obtienen frutas deliciosas que se producen durante todo el año en forma continua (Sánchez & De los Angeles, 2007).

La producción del babaco se destina tanto al mercado interno como al internacional, aunque en este último en rubros poco significativos: la producción del babaco en fresco proviene principalmente de Ambato, Loja,

Patate y Baños de Agua Santa cuyo principal destino son los mercados mayoristas, de Quito, Guayaquil y Cuenca (Sánchez & De los Angeles, 2007).

En cuanto a la exportación de esta fruta exótica, esta ha sido introducida en el mercado mundial al cumplir con las demandas de productos selectos y especiales, con excelentes características de nutrición y sabor. Los principales países consumidores de este producto en el mundo son los países de la Unión Europea, especialmente Holanda y Alemania, además hay registros de importaciones en Italia y Suiza (Sánchez & De los Angeles, 2007).

La exportación del babaco dentro de los productos no tradicionales sigue en tendencia, sin embargo, por diferentes dificultades en el proceso de exportación este rubro ha disminuido drásticamente durante algunos años (Sánchez & De los Angeles, 2007).

4.3 Problemas fitosanitarios en el babaco

En el Ecuador se cultiva el babaco de forma extensiva hace 20 años aproximadamente, principalmente en zonas del callejón interandino. Esta forma extensiva de cultivo ha dado paso a problemas fitosanitarios en esta especie lo que limita su expansión y productividad (García, 2011).

Durante los últimos años las exportaciones del babaco registran disminuciones por ciertas restricciones en su proceso de exportación en fresco, esto debido a no cumplir ciertos requerimientos y certificaciones fitosanitarias, lo que ha causado que no se pueda ingresar de manera constante y sostenida dentro de los mercados internacionales. Un ejemplo concreto es el mercado de Estados Unidos, donde se encuentra prohibido el ingreso de babaco en fresco por restricciones fitosanitarias (Sánchez & De los Angeles, 2007).

Robles, Herrera, & Torres (2016) describen los principales agentes fitopatógenos que afectan al cultivo del babaco, dentro de las enfermedades fúngicas se encuentran, Cenicilla (*Oidium sp.*), Lancha temprana (*Alternaria sp.*), Antracnosis (*Mycosphaerella sp.*), Marchitez Vascular del Babaco (MVB) (*Fusarium oxysporum*).

Robles, Herrera, & Torres (2016) también reportan las enfermedades causadas por bacterias que son, tumor del cuello (*Agrobacterium sp.*), pudrición radical (*Erwinia sp.*), las enfermedades causadas por virus son, virus del mosaico de la papaya en babaco (Papaya Mosaic Virus) también mencionan que, las principales especies de nematodos que atacan al babaco son *Meloidogyne sp.*, *M. incognita* y *M. javanica*.

4.4 Propagación *in vitro* de plantas

La biotecnología puede contribuir positivamente a la producción de frutales, ya que esta tecnología permite obtener material vegetal de alta productividad. El cultivo de tejidos ha aportado a la agricultura ya que constituye una vía fundamental en las actividades científicas y tecnológicas, por lo que la aplicación de técnicas de propagación *in vitro* en frutales resulta muy valiosa para la multiplicación, el rescate y la conservación de estas especies (Kessel, 2008).

La propagación *in vitro* de plantas se basa en el cultivo de tejidos que se fundamenta en la capacidad que tiene las células vegetales para regenerar una planta completa idéntica a la planta madre. Los sistemas *in vitro* agrupan básicamente cinco etapas de desarrollo, las cuales son: selección de la especie, establecimiento del medio de cultivo, desarrollo del tejido, enraizamiento y acondicionamiento – aclimatación. Cada etapa posee una determinada importancia dependiendo del objetivo de investigación (Perea, 2009).

4.4.1 Fase de multiplicación en la propagación *in vitro* de plantas

Esta fase tiene como objetivo principal aumentar la cantidad de brotes para nuevos subcultivos y poder contar con material vegetal para la siguiente etapa de producción. Tanto los medios de cultivo como los reguladores de crecimiento como lo son las auxinas, citoquininas y ácido giberélico, así como las condiciones de crecimiento poseen un papel muy importante en la multiplicación clonal de los explantes (Levitus, Echenique, Rubinstein, Hopp, & Mroginski, 2010).

4.4.2 Reguladores de crecimiento

Son sustancias que se sintetizan en distintas partes de la planta y son las encargadas de regular distintas acciones como lo son el crecimiento, desarrollo y metabolismo vegetal (Levitus, Echenique, Rubinstein, Hopp, & Mroginski, 2010).

Los reguladores vegetales son sustancias que se obtienen de compuestos sintetizados químicamente o de otros organismos, los cuales tienden a ser más potentes que las sustancias que se sintetizan naturalmente. Para la aplicación de estos reguladores es necesario tener en cuenta aspectos como el momento de la aplicación, dosis, sensibilidad de la variedad, condición de la planta, etc (Alcantara, Acero, Alcántara, & Sánchez, 2019).

4.4.2.1 Citoquininas

Son reguladores de crecimiento vegetal que cumplen la función de: aumentar la división celular, inducen la proliferación de tejidos vegetales madre, estimula el desarrollo foto morfogénico y estimula la generación de brotes axilares. (Alcantara, Acero, Alcántara, & Sánchez, 2019).

En los cultivos de tejidos *in vitro* las citoquininas son las responsables de inducir la división celular por lo que poseen un papel fundamental en la organogénesis, como lo reporta Peña, Rocano, Salazar, & Torres (2014) que mediante la aplicación de distintas dosis de TDZ y BAP en *J. neotropica* se incrementó el número de brotes inducidos por micro plántula.

4.4.2.1.1 Thidiazuron (TDZ)

El thidiazuron o el fenil-N '- (1,2,3-tiadiazol-5-il) urea es un regulador de crecimiento similar a las citoquininas (QUIMICOMPANY, 2020).

Chamorro, Martínez, Fernández, & Mosquera (2007) mencionan que las citoquininas thidiazuron (TDZ), benzilaminopurina (BAP) y kinetina (KIN) han sido reportadas como fuentes de brotes en diversos estudios, es por eso que ellos analizaron el efecto de distintas dosis de estas fitohormonas en Lavanda de mar (*Limonium var. Misty blue*) obteniendo así que a una

concentración de 0.01 mg/L de TDZ obtuvieron una tasa de multiplicación de 2.6 en un mes siendo así la dosis con mejores resultados en su estudio.

4.4.2.1.2 6-Bencilaminopurina (BAP)

El 6-Bencilaminopurina, también conocido como benciladenina es un suplemento de citoquina de primera generación, este induce una respuesta de crecimiento y desarrollo de las plantas, pues promueve la división celular (QUIMICOMPANY, 2020).

Cárdenas & Espinoza (2014) reportan que dentro del proceso de su protocolo para la propagación *in vitro* de diferentes especies de papaya (*Carica papaya*) se realiza la siembra en base a medio de cultivo MS enriqueciéndolo con la citoquinina BAP en un rango de 0.50 - 2 mg/L para la fase de multiplicación.

Chamorro, Martínez, Fernández, & Mosquera (2007) quienes evaluaron diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento en la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Limonium var. Misty blue* reportaron que con la adición de BAP al medio de cultivo a una concentración de 0.50 mg/L se obtuvo la tasa de multiplicación más altas siendo estas de 2.8 en el primer ciclo de cultivo, 3.1 en el segundo ciclo y de 2.9 en el tercero, cada ciclo de cultivo correspondió a un periodo de cuatro semanas.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales utilizados para el desarrollo del experimento fueron: cámara de flujo laminar, autoclave, balanza, plato agitador, pH-metro, pinzas, bisturí, mechero, tubos de ensayo, frascos de vidrio, cristalería, medio de cultivo Murashige & Skoog (MS), cuarto de cultivo, agua destilada, explantes de brotes y brotes con segmentos de tallo de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco') previamente establecidos *in vitro*, thidiazuron (TDZ), 6 – bencilaminopurina (BAP).

El material vegetal se obtuvo de la previa siembra *in vitro* de esquejes de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco'), proporcionados por la Universidad de Cuenca en el marco del proyecto CEDIA, titulado "Desarrollo

de una metodología de saneamiento y eliminación de virus en yemas de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv. 'babaco') utilizando cultivo *in vitro* de micro esquejes”.

En el establecimiento se emplearon dos tipos de material vegetal para cada tratamiento, los cuales fueron: 1) “segmento de tallo con brote”, cuando el explante establecido había generado uno o más brotes *in vitro* y este se transfirió completo al ensayo Figura 1 (a) y 2) “brote”, cuando los brotes obtenidos del explante establecido inicialmente se aislaron y se sembraron solos en el medio Figura 1 (b).

Figura 1.

(a) Segmento de tallo con brote



(b) Brote



Elaboración: Rodríguez, 2022

Los dos tipos de explantes se sembraron en 7 tratamientos preparados con sales de Murashige & Skoog (MS) enriquecidas con: T1) 0.50 mg/L de Thidiazuron (TDZ), T2) 1.00 mg/L de Thidiazuron (TDZ), T3) 1.50 mg/L de Thidiazuron (TDZ), T4) 0.50 mg/L de 6 – bencilaminopurina (BAP), T5) 1.00 mg/L de 6 – bencilaminopurina (BAP), T6) 1.50 mg/L de 6 – bencilaminopurina (BAP) T7) MS, sin reguladores de crecimiento como tratamiento control.

Obteniendo así para el diseño experimental, un diseño completamente al azar con arreglo simple (DCA), 14 tratamientos en total, incluidos los tratamientos control y 2 repeticiones para cada tratamiento, cada unidad experimental correspondió a cada microestaca sembrada *in vitro* obteniendo así 28 unidades experimentales.

La siembra se realizó en la cámara de flujo laminar, en frascos de vidrio que contenían 25 ml de medio de cultivo con su respectivo tratamiento con reguladores de crecimiento. Cada repetición fue sembrada con una semana de diferencia, tomando el material vegetal de distintos lotes de plantas sembradas *in vitro*.

Luego de 4, 8 y 12 semanas de la siembra se realizaron refrescamientos para todos los tratamientos. Este proceso consistió en el trasplante de cada explante a medio de cultivo fresco, el cual contaba con las mismas características y dosificaciones que las iniciales al momento de su establecimiento, es decir, se refrescaron en el mismo tratamiento. Los datos finales fueron registrados luego de 90 días del establecimiento.

La variable registrada fue el número de brotes por explante en cada tratamiento.

6. RESULTADOS

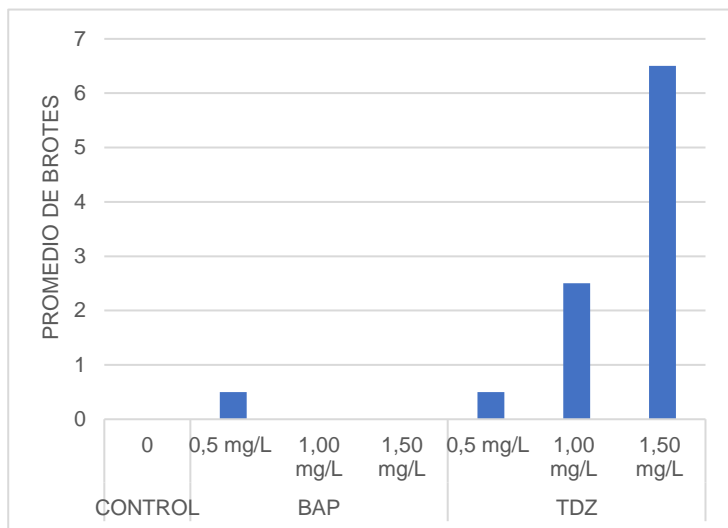
Los resultados que se presentan a continuación se obtuvieron a partir de las dos únicas repeticiones que no sufrieron contaminación y que permitieron el registro de datos. Ya que las otras 3 repeticiones que se establecieron sufrieron una fuerte contaminación que llevó a la rápida muerte de los explantes. Por el corto período de tiempo con el que se contaba para la ejecución del trabajo y la dificultad de obtener explantes sanos, debido a la excesiva contaminación endógena del material, no se pudieron registrar más datos, sin embargo, los datos obtenidos permiten identificar tendencias en cuanto al tipo de regulador de crecimiento y la concentración que presentan mayor brotación, como un primer acercamiento a la propagación *in vitro* de babaco.

El regulador de crecimiento que obtuvo mejores resultados fue TDZ tanto en los explantes tipo “brote” como en los explantes constituidos por “tallo con brote” obteniéndose brotación en todas las concentraciones evaluadas; en contraste, con el regulador de crecimiento BAP se obtuvieron bajos promedios de brotación, solo en algunas de las concentraciones, como se puede observar en las Figuras 1 y 2.

Respecto a la concentración de los biorreguladores, 1.50 mg/L de TDZ presentó los mejores resultados, con un promedio de 6.5 brotes en los explantes tipo “brote” (Fig. 1), seguido por un promedio de 4.5 brotes en el explante “tallo con brote” al usar la misma concentración (1.50 mg/L de TDZ) (Fig. 2) Podemos destacar además que en los explantes tipo “tallo con brote” se obtuvieron mayor número de brotes en promedio que en los explantes tipo “brote” al analizar los resultados conjuntos de todas las concentraciones, sin embargo, el mayor número de brotes promedio por explante, 6.5 brotes, se obtuvo en los explantes “brote” con la concentración 1.50 mg/L de TDZ como se mencionó anteriormente. Los datos no permiten obtener resultados concluyentes respecto al tipo de explante, sin embargo, permiten establecer una predilección respecto al tipo de hormona y a la concentración más adecuada para la propagación *in vitro* de explantes de babaco.

Figura 2.

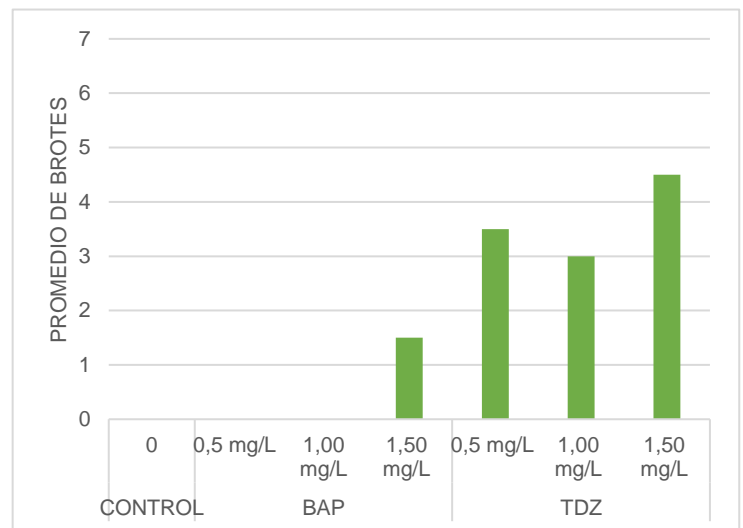
Número de brotes obtenidos con la aplicación de BAP y TDZ en explantes tipo brote de babaco.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Figura 3.

Número de brotes obtenidos con la aplicación de BAP y TDZ en explantes tipo tallo con brote de babaco.



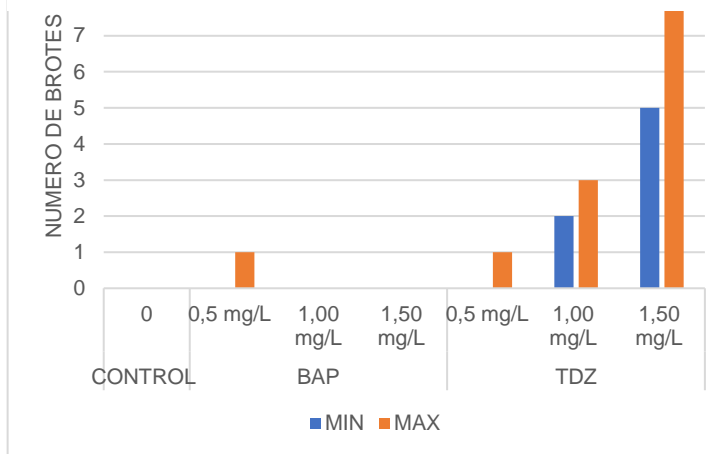
Elaboración: Rodríguez, 2022

Al analizar los máximos y mínimos de brotación se puede observar una tendencia creciente conforme aumenta la concentración de los reguladores

de crecimiento, obteniendo así que para ambos tipos de explante tanto brote como tallo con brote a mayor concentración de regulador de crecimiento existe mayor brotación (Fig. 3 y 4). Sin embargo, se observó también que luego de 60 días de tratamiento hormonal, con dos refrescamientos cada 30 días, las plantas empezaron a mostrar pérdida de vigor y senescencia (Gráfico 1) por lo que se sugiere un tiempo de exposición hormonal menor o máximo de 60 días.

Figura 4.

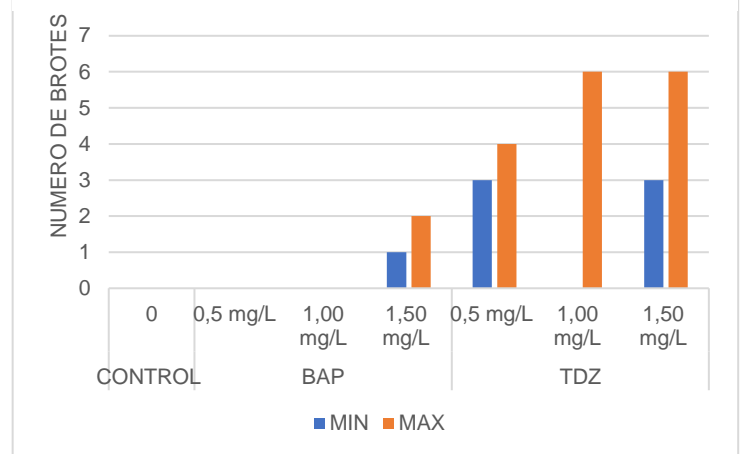
Máximos y mínimos de brotes en los tratamientos de los explantes tipo brote.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Figura 5.

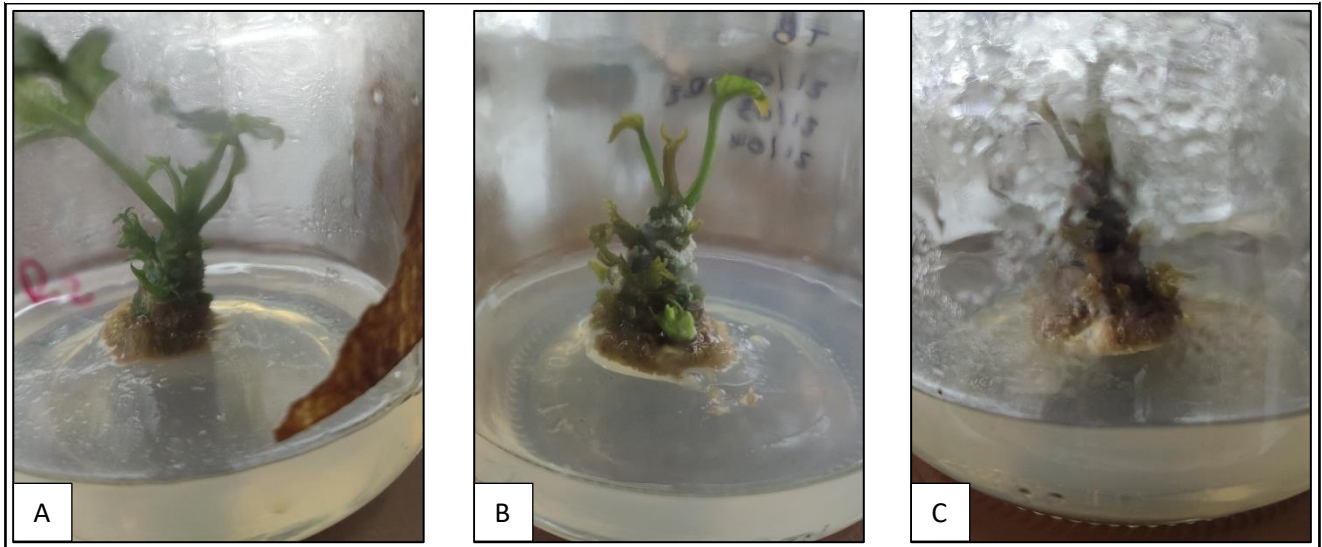
Máximos y mínimos de brotes en los tratamientos de los explantes tipo tallo con brote.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Figura 9.

Perdida de vigor posterior a los 60 días del establecimiento.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Nota. Explantes de babaco en los ensayos de multiplicación luego de A) 30 días, B) 60 días y C) 90 días posteriores a su establecimiento.

Tratamiento: Tallo con brote 0,50 mg/L de TDZ.

Los presentes resultados concuerdan con los reportados por Jordan & Velozo (1997) quienes observaron que yemas axilares de *Vasconcellea pubescens* (Chamburo) en presencia de TDZ a 0.45 μM (0.00045 mg/L) más la auxina ANA (ácido naftalenacético) indujeron alta brotación, así mismo, en explantes de hojas de babaco la presencia de TDZ a altas concentraciones 22.71- 45.41 μM (0.02271 - 0.04541 mg/L) desencadenó la formación de brotes y callos globulares.

Similares resultados a los encontrados en la presente investigación los obtuvo Tituaña (2017) donde el mayor promedio de brotación fue de 5.65 brotes aplicando 5 mg/L de TDZ en el medio de cultivo, 4 semanas posteriores a su establecimiento. Así mismo Jordan (2011) realizó un estudio en *Vasconcellea chilensis* reportando la obtención de respuestas morfogénicas o brotación con la aplicación de 3.00 mg/L de TDZ en combinación con la auxina IAA (1.00 mg/L) adicionadas a medio de cultivo.

En contraste con los resultados obtenidos, Lapiz, et al. (2021) reportaron los mejores resultados de brotación en explantes de babaco en los tratamientos con 0.50 mg/L de BAP con los que se obtuvo un promedio de 4.60 brotes. De la misma forma Solis, Olivera, & La Rosa (2011) obtuvieron los mejores resultados en la fase de multiplicación para la brotación en *Carica papaya* var. PTM-331 adicionando 0.50mg/L de citoquinina BAP al medio de cultivo obteniendo como resultado un promedio de 3.41 brotes.

En estudios hechos en especies de la misma familia *Caricaceae*, Arias (2018) reportó que en papaya (*Carica papaya* L.) la adición de BAP a una concentración de 0.50 mg/L generó un promedio de 3.00 brotes por explante. De igual modo Gallardo, et al. (2021) la propagación en el híbrido de papaya Cubano IBP 42-99 obteniendo mayor brotación con la adición de 0.45 mg/L de BAP. Sin embargo, coincidiendo con los resultados de la presente investigación, Millones (2019) obtuvo una escasa respuesta morfogénica con la aplicación de 1.00 mg/L de BAP en yemas axilares de babaco cuyos explantes posteriormente perdieron viabilidad.

Si bien estos estudios son afines a la presente investigación ya que fueron desarrollados en especies de la misma familia, se debe tomar en cuenta que como lo afirma Ruiz (2017) el desarrollo de protocolos para cultivos de tejidos debe ser ajustados ya que la concentración de reguladores de crecimiento puede variar para cada especie de planta, del origen del explante o genotipo de la planta individual, edad, estatus nutricional, etc.

No se obtuvieron resultados definitivos en cuanto al tipo de explante más adecuado para la brotación de babaco a diferencia de estudios realizados por Vaca (2008) quien encontró que las fuentes basales y medias de los explantes lograron mayor número de brotes en comparación a fuentes apicales de explantes, esto lo explican ya que este tipo de explantes posee mayor cantidad de reservas de nutrientes y energía.

En cuanto a los tiempos de exposición a tratamientos con reguladores de crecimiento se observó pérdida de vigor y senescencia a los 60 días de exposición de los explantes a los tratamientos. Sharry, Adema, & Abedini

(2015) en su manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro* indican que en cultivos de callos para que puedan multiplicarse, es necesario cambiar los explantes a medio de cultivo nuevo con una frecuencia de 2 a 6 semanas, ya que la falta de transferencia provoca debilitamiento, intoxicación y muerte del tejido.

8. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

El regulador de crecimiento que produjo los mejores resultados en brotación fue Thidiazuron (TDZ) aplicado a una concentración de 1.50 mg/L. Por otro lado, no se pudo establecer cuál es el mejor explante ya que los resultados no fueron concluyentes.

Adicionalmente es importante considerar el tiempo de exposición hormonal de los explantes para que éstos no sufran daños, en este sentido se recomienda no exponer a los explantes a más de 60 días de tratamiento con reguladores de crecimiento.

Por otra parte, se recomienda que el material vegetal provenga de un mismo lote de plantas, previamente tratadas para su saneamiento ya que el material tratado previamente fue el que se pudo establecer con éxito, además, el tratamiento previo de las plantas en invernadero favorece la desinfección de los explantes para su establecimiento *in vitro*, para evitar la pérdida de material por contaminación endógena.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcantara, J., Acero, J., Alcántara, J., & Sánchez, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA*, 109-129.
- Arias, R. (2018). Procesos biotecnológicos para la multiplicación y enraizamiento de (*Carica papaya* L.) a partir de vitroplantas. *Repositorio Universidad Nacional de Loja* .
- Black, N., & Ortega, L. (2005). Uso de atmósferas modificadas en la conservación de babaco, toamte de árbol y granadilla . *Escuela politécnica del ejército*, 38.

- Caguana, M. (2003). El cultivo de babaco en invernadero (Carica pentágona). *Asociación de Agrónomos Indígenas de Cañar (AAIC)*, 12-15.
- Cárdenas, A., & Espinoza, R. (2014). La guía práctica de cultivo in vitro de especies vegetales . *Universidad Politécnica Salesiana* .
- Chamorro, A., Martínez, S., Fernández, J., & Mosquera, T. (2007). Evaluación de diferentes concentraciones de algunos reguladores de crecimiento en la multiplicación y enraizamiento in vitro de Limonium var. Misty blue. *Agronomía Colombiana*, 47-53.
- CORPEI. (2006). Perfiles del producto: Babaco. *Centro de Inteligencia Comercial*.
- Cueva, D. (2007). Producción de inoculantes a base de Trichoderma spp para el control de Fusarium oxysporum f.sp. caricae en injertos de babaco (Vasconcellea heilbornii cv. babaco)". *Escuela Politécnica de ejército ESPE*.
- Dominguez, M., Gonzalez, M., Rosales, C., Quiñones, C., Delgadillo, S., Mireles, S., & Pérez, E. (2008). El cultivo in vitro como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género agave. *Investigación y Ciencias*, 53-62.
- Gallardo, J., Posada, L., Gómez, R., Más Castellanos, L., Reyes, M., & Herrera, I. (2021). Micropropagación del híbrido Cubano de Papaya IBP 42-99. *Biotecnología vegetal* .
- Jordan, M. (2011). In vitro morphogenic responses of Vasconcellea chilensis Planch. ex A. DC (Caricaceae). *Agronomía Colombiana* , 481-485.
- Jordan, M., & Velozo, J. (1997). In vitro propagation of highland papayas (Carica pubescens and C. pentagona). *III International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding*, 103-106.
- Lapiz, Y., Tejada, J., Meléndez, J., Vilca, N., Huaman, E., & Oliva, M. (2021). Establecimiento y multiplicación in vitro de papayas de montaña: Vasconcellea chachapoyensis y Vasconcellea x Heilbornii. *Bioagro*, 135-142.
- Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. (2010). Biotecnología y mejoramiento vegetal. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*.
- Mesias, J. (2012). Proyecto de factibilidad para la producción de babaco (Carica pentagona) bajo invernadero y su comercialización en la ciudad de Quito. *Universidad Nacional de Loja UNL*.
- Millones, C. (2019). Propagación in vitro de babaco (Vasconcellea x heilbornii) del distrito de Luya, región Amazonas. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 45-51.

- Peña, D., Rocano, M., Salazar, J., & Torres, C. (2014). Inducción de la brotación in vitro de microplántulas de Nogal (*Juglans neotropica*) tratadas con Thidiazuron (TDZ) y 6-Bencilaminopurina (BAP). *MASKANA*, 81-85.
- Perea, M. (2009). Cultivo de tejidos vegetales in vitro. *Universidad Nacional de Colombia*.
- QUIMICOMPANY. (2020). Ficha técnica: 6-Bencilaminopurina. *Plantmedia a division of bioworld*.
- QUIMICOMPANY. (2020). Ficha técnica: Thidiazuron. *Plantmedia a division of bioworld*.
- Rivas, K. (2015). *Compendio de Botánica*. Cuenca: Universidad de Cuenca .
- Robles, A., Herrera, L., & Torres, R. (2016). El babaco (*Vasconcellea heilbornii* var. pentagona Badillo). Principales agentes fitopatógenos y estrategias de control. *Centro Agrícola*, 83-92.
- Ruiz, J. (2017). Unidad 2. Protocolos y técnicas de trabajo in vitro para propagación. *Universidad Abierta y a Distancia de México*.
- Sánchez, U., & De los Angeles, C. (2007). Estudio de factibilidad para la implementación de una empresa dedicada a la industrialización del babaco. *Repositorio Digital Institucional de la Escuela Politécnica Nacional*.
- Sharry, S., Adema, M., & Abedini, W. (2015). Plantas de probeta: Manual para la propagación de plantas. *Editorial de la Universidad de la PLata*.
- Solis, R., Olivera, J., & La Rosa, R. (2011). Propagación in vitro de Carica papaya var. PTM-331 a partir de meristemos apicales. *Revista Peruana de Biología*, 343-347.
- Soria, N., & Viteri, P. (1999). Guía para el cultivo de babaco en el Ecuador. *INIAP - Estación experimental Santa Catalina*, 3.
- Tituaña, J. (2017). Elongación de brotes obtenidos a partir de segmentos proximales de hojas del híbrido babaco [*Vasconcellea x heilbornii* (Badillo) Badillo]. *Repositorio ESPE*.
- Vaca, I. (2008). Incremento del número de bortes de babaco (*Vasconcellea x heilbornii* cv Babaco) in vitro mediante la interacción de reguladores de crecimineto para la regeneración de plantas completas. *Repositorio ESPE*.

10. ANEXOS

Anexo 1.

Material vegetal inicial utilizado para la extracción de explantes.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 2.

Siembra de inicio de explantes brote y tallo con brote.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 3.

Establecimiento de repeticiones.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 4.

Explantos contaminados.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 5.

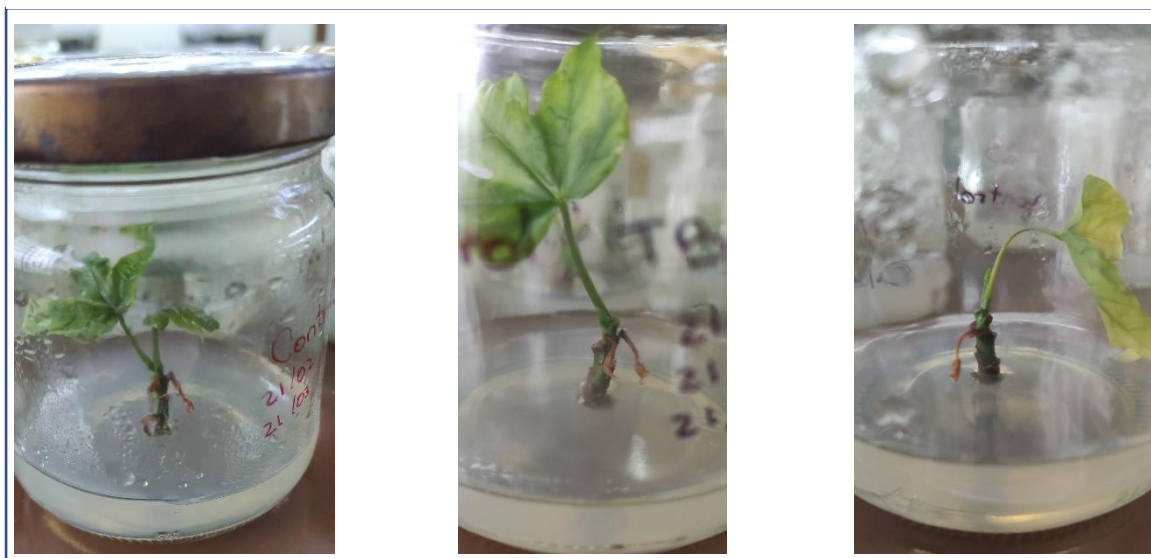
Tratamiento control repetición 1. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 6.

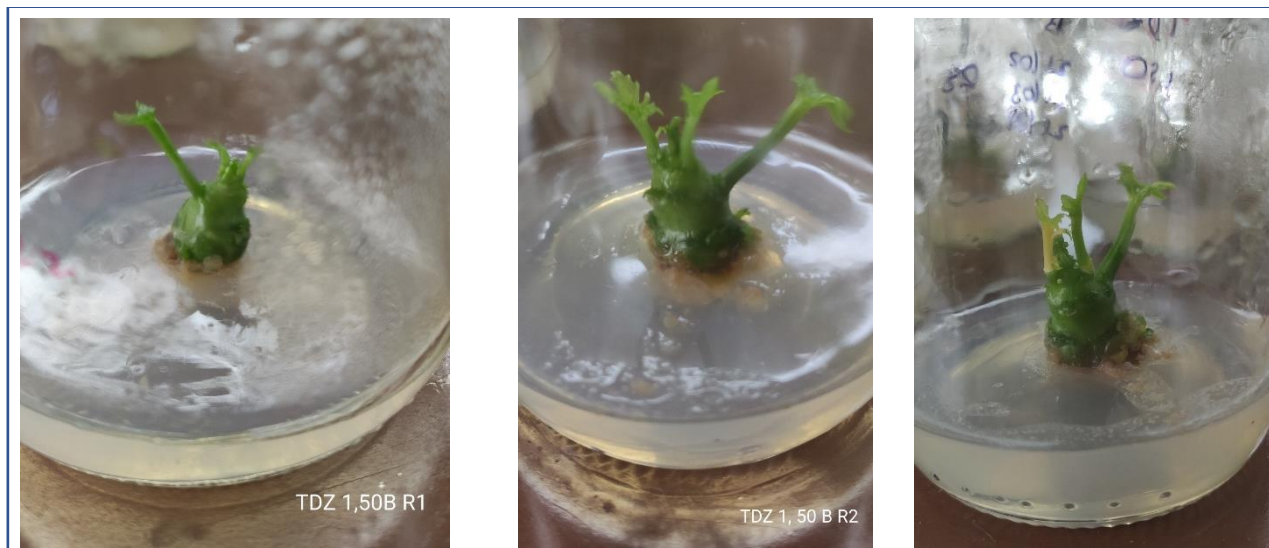
Tratamiento control repetición 2. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 7.

Tratamiento TDZ 1,50 mg/L Brote repetición 1. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 8.

Tratamiento TDZ 1,50 mg/L Brote repetición 2. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 9.

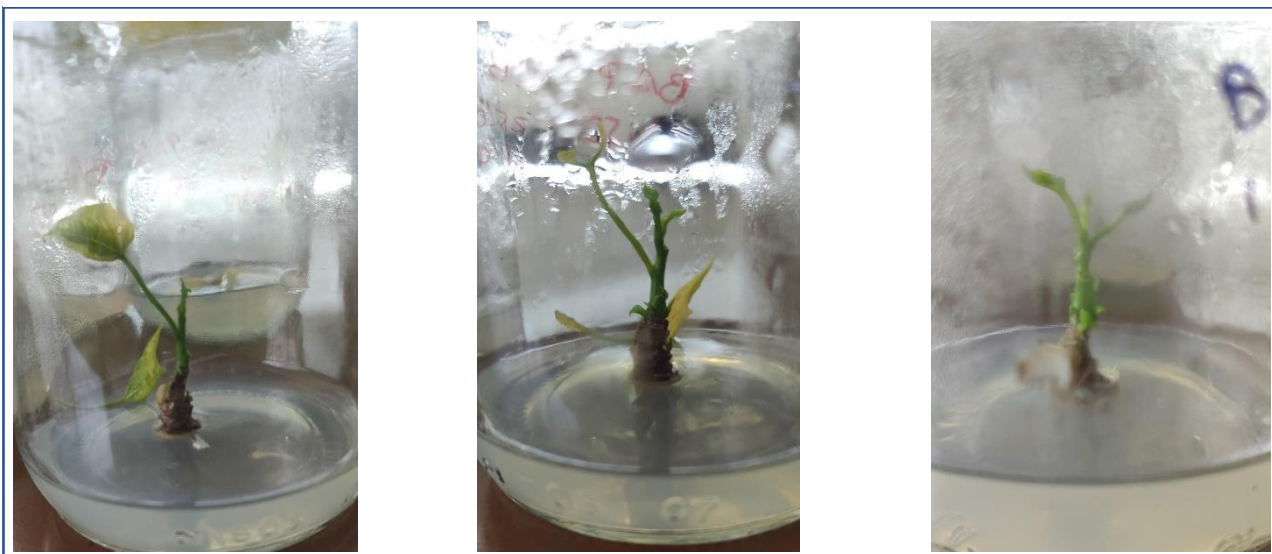
Tratamiento BAP 1,50 mg/L Tallo con brote repetición 1. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra.



Elaboración: Rodríguez, 2022

Anexo 10.

Tratamiento BAP 1,50 mg/L Tallo con brote repetición 2. Explantes a los 30, 60 y 90 días posteriores a la siembra.



Elaboración: Rodríguez, 2022