

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
IZTACALA U.N.A.M.

B084/83  
Ej. 2

DESARROLLO Y POSIBLE DIFERENCIACION DE CALLOS  
DE EMBRIONES HIBRIDOS INMADUROS DE  
Carica cauliflora Jacq. X Carica papaya L.

T E S I S P R O F E S I O N A L

B i o l o g o

OFELIA CATALINA FERNANDEZ GUDIÑO.

1983



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradezco a la Comisión Nacional de Fruti--  
cultura el haberme permitido realizar este  
trabajo en sus instalaciones, en especial -  
al Departamento de Fitoproducción de la Sub  
dirección de Investigación y Docencia, así  
como a la Doctora Celia Rojkind Matluk por  
su asesoría.

A MIS PADRES

OFELIA Y JOAQUIN

A MIS HERMANOS

A JESUS JOAQUIN

## C O N T E N I D O

RESUMEN .....	1
INTRODUCCION .....	3
ANTECEDENTES .....	6
A. GENERALIDADES .....	6
a. Origen del papayo .....	6
b. Distribución geográfica de la Familia Carica- ceae .....	6
c. Producción e importancia del papayo .....	7
d. Clasificación botánica de <u>Carica papaya</u> L. y <u>Carica cauliflora</u> Jacq. ....	8
e. Principales diferencias morfológicas entre <u>C.</u> <u>papaya</u> L. y <u>C. cauliflora</u> Jacq. ....	9
B. REVISION DE LITERATURA .....	10
a. Desarrollo de la semilla de <u>Carica papaya</u> L..	10
b. Enfermedades del papayo .....	12
I. Cogollo arrepollado .....	13
II. Mosaico de la papaya .....	14
III. Mancha amular .....	15
c. Híbridos entre caricaceas .....	16
d. Cultivo de embriones inmaduros .....	19
e. Cultivo de callos y células .....	22
MATERIALES Y METODOS .....	25
RESULTADOS .....	35
DISCUSION .....	38
CONCLUSIONES .....	47

ANEXOS .....	48
Anexo 1. Producción de papaya del Estado de Veracruz .	49
Anexo 2. Producción nacional de papaya durante el año de 1978 .....	49
Anexo 3. Enzimas del látex de la papaya .....	50
Anexo 4. Valor nutritivo de la papaya .....	50
Anexo 5. Enfermedades de la papaya que afectan su pro- ducción .....	52
Anexo 6. Medio Murashige y Skoog modificado por Gutié- rrez y Rojkind .....	53
Anexo 7. Hibridaciones interespecíficas del Género --- <u>Carica</u> .....	54
BIBLIOGRAFIA .....	59

## R E S U M E N

En México el Manchado Amular ha disminuido la producción de papaya en un 56.04% y el área de cultivo en un 35.37% en el periodo de 1977 a 1980 (Dirección General de Economía Agrícola).

Para la solución de tal problema se llevaron a cabo cruza interespecíficas entre Carica cauliflora Jacq. X Carica papaya L., con el fin de introducir resistencia a la virosis en la especie cultivada C. papaya L., logrando rescatar los embriones de la incompatibilidad embrión-endospermo por medio del cultivo "in vitro" (52). Los embriones híbridos inmaduros de 60 días de edad formaron callo el cual se trató de proliferar y diferenciar por medio de diferentes técnicas y tratamientos, observandose las respuestas morfogenéticas y seleccionando los tratamientos adecuados para tales fines.

Se trabajó con las siguientes combinaciones de reguladores de crecimiento: 6BAP-ANA; 6BAP-IBA;  $GA_3$ -6BAP-ANA y  $GA_3$ -6BAP-IBA (6-Bencilamino purina, Acido naftalenacético, Acido indolbutírico y Acido giberélico) con diferentes concentraciones.

En medio sólido la mejor respuesta fué sin 6BAP, con 0.1 mg/l de IBA y carbón activado (0.5%).

En medio líquido y con agitación se obtuvieron las dos mejores respuestas ya que se logró desarrollar fragmentos o clones de callos híbridos, las combinaciones y concentraciones utilizadas fueron 0.1 mg/l de  $GA_3$  con 0.2 mg/l de Tiamina, sin ser necesarios el 6BAP y IBA y 0.1 mg/l - 0.5 mg/l - 0.01 mg/l - 0.2 mg/l ( $GA_3$ -6BAP-IBA-Tiamina respectivamente),

La falta de respuestas esperadas fueron relacionadas - con senescencia de los callos híbridos, niveles de ploidia y componentes del medio.

## I N T R O D U C C I O N

El papayo es un árbol polígamo (monoico o dioico) de origen Centroamericano (1), que por la relativa facilidad con que se propaga por semilla se ha difundido ampliamente en todas las zonas tropicales y subtropicales del mundo. El papayo ha aportado grandes beneficios para el hombre, entre los que se destacan: el consumo de fruta fresca la cual proporciona nutrientes importantes para el organismo; el uso en la industria de las enzimas proteolíticas de la papaya para la elaboración de cerveza, en la industria textil, del curtido, farmacéutica, médica, lechera y alimentaria (37).

En nuestro país el principal Estado productor de este frutal es Veracruz (anexo 1), contando en el año de 1978 -- con 6,585 Ha cultivadas, lo cual representa el 57.78% del área total del cultivo en el país correspondiéndole el primer lugar en producción con 175,979 Ton, lo que representa el 61.76% de la producción nacional. En el año de 1979 se cultivaron 5,050 Ha lográndose una cosecha de 99,132 Ton, lo que representa una baja en relación a 1978 de 23.31% y 43.67% en superficie cultivada y producción a nivel estatal. Los últimos datos obtenidos son de 1980 que al compararse con los de 1977 que representa el año de mayor producción de dicho Estado, se aprecia una baja de 56.04% y 35.37% en la producción y superficie cultivada (Dirección General de Economía Agrícola).

Por las cifras observadas anteriormente se hace patente la gravedad del problema ya que Carica papaya L. es una

especie susceptible a enfermedades virales, dentro de las -  
cuales se encuentra el Manchado Anular, el cual ha destruí-  
do plantaciones enteras y hasta ahora no se ha logrado solu-  
cionar este problema (9)(24)(27)(29)(35).

En el año de 1970 este cultivo ocupaba el quinto lugar  
en relación con otros frutales de México (2), pero para el  
año de 1979 se encontraba ya en el décimo segundo lugar ---  
(SAG). Sin embargo, actualmente se piensa que la solución -  
al problema se encuentra en introducir resistencia a la vi-  
rosis en la especie cultivada Carica papaya L., por cruza--  
mientos con especies silvestres como Carica cauliflora ---  
Jacq., que se encuentra en nuestro país (55).

Se han realizado pruebas de compatibilidad interespecí-  
fica en el género Carica, pero en la mayoría de los casos -  
no se han obtenido resultados favorables. El factor que li-  
mita la obtención de los híbridos, es el fracaso en el desa-  
rrollo de los embriones dentro de la semilla por incompati-  
bilidad embrión-endospermo principalmente, por lo cual se -  
ha utilizado como alternativa la técnica de cultivo de em--  
briones "in vitro" con el fin de rescatarlos (op.cit. 55).

Por lo anterior, en la CONAFRUT, México se planteó el  
proyecto de investigación denominado "Mejoramiento genético  
en Carica papaya L., del que este trabajo constituye una de  
sus facetas.

Dentro del proyecto se llevaron a cabo cruza interes-  
pecíficas entre Carica cauliflora Jacq. (silvestre-resisten-  
te) X Carica papaya L. (comercial-no resistente), obtenien-

dose frutos de los que se extrajeron embriones a los 20, 60 y 95 días después de la polinización los cuales se incubaron "in vitro" (52), en el medio Murashige y Skoog modificado por Gutiérrez y Rojkind (17). De los embriones de 95 --- días de edad se obtuvieron plántulas y de los de 60 y 20 -- días se obtuvo tejido indiferenciado (callo). En general este tejido presenta la ventaja de poderse proliferar, ya que se pueden obtener un número "n" de callos por fragmentación del callo original, y estos a su vez se podrán diferenciar -- en un gran número de plantulas (36). Por tal razón se elaboró el presente trabajo, en el cual se trataron de prolife-- rar y diferenciar los callos formados a partir de los em--- briones híbridos de 60 días de edad, teniendo así como objetivos: Observar el efecto morfológico de los diferentes tra-- mientos en el desarrollo y diferenciación de los callos hí-- bridos, así como seleccionar los tratamientos adecuados tan-- to para el desarrollo de los callos híbridos como para su - diferenciación.

Cabe hacer notar que en trabajos subsecuentes se reali-- zarán pruebas de indexación a las plantas híbridas obtenidas durante todo el proyecto.

## A N T E C E D E N T E S

A. GENERALIDADESa. Origen del papayo

El primer escrito en el cual se menciona al papayo, -- fué una carta en la cual Oviedo (51), menciona haberlo visto en Centroamérica, desde la costa de Panamá hasta el sur de México, en donde los nativos lo llamaban "Olocotón". El mismo menciona que las semillas fueron llevadas a Panamá, -- Santo Domingo y después a Manila. A mediados del siglo XVI el papayo se extendió rápidamente a Málaga y la India.

Chandler (8), considera al papayo como nativo de América, del sur de México o de América Central, y que poco después del descubrimiento de América fué llevado a otros países tropicales por los marinos portugueses y españoles.

Existen diversas opiniones acerca del origen del papayo; lo que hace confuso este conocimiento es el hecho de -- que en muchos lugares donde se introdujo, tuvo una adaptación tan perfecta que resulta difícil no creerla originaria de allí. En la actualidad se piensa que el papayo es de origen Centroamericano (1).

b. Distribución geográfica de la Familia Caricaceae

La Familia Caricaceae consta de 4 géneros y 31 especies que se distribuyen de la siguiente manera:

Género	Número de especies	Distribución
<u>Carica</u>	22	América Tropical
<u>Jacaratia</u>	6	América Tropical
<u>Jarilla</u>	1	América Tropical
<u>Cylicomorpha</u>	2	Africa

En México se han reportado 3 géneros y 6 especies que son: Carica papaya, Carica cauliflora y Carica mexicana; Jacaratia mexicana y Jacaratia dolichaula; Jarilla heterophylla - (7) (Material consultado en el Herbario Nacional de México, UNAM).

#### c. Producción e importancia del papayo

El área cultivada con papayo a nivel nacional, se ha incrementado año con año; en 1970 se cultivaron 5,624 Ha, mientras que en 1978 fueron 11,396 Ha, habiendo alcanzado su producción y superficie cultivada máximas en este año -- (Anexo 2). El volúmen total producido se incrementó de ---- 125,096 a 284,940 Ton de 1970 a 1978 respectivamente, esto se debió a la creciente demanda de la fruta para consumo lo cal. No obstante la producción de papayo ha decrecido en -- los últimos años. En 1979 se cultivaron 11,073 Ha con una producción de 209,307 Ton. Esta representa una baja en relación al año anterior de 26.55% y 2.83% en la producción y superficie cultivada respectivamente (Dirección General de Economía Agrícola). La baja en la producción, como se mencionó anteriormente, se debe principalmente a la susceptibilidad del papayo a enfermedades virales. Sin embargo, la planta posee una potencialidad de explotación diferente desde el punto de vista económico, ya que una característica -

muy importante de la especie es la presencia de tubos de látex cerca de la superficie del tallo, de las hojas y de los frutos no maduros. El látex del fruto y de las partes ver--des de la papaya contiene tres enzimas proteolíticas (Anexo 3). La enzima principal es la papaína, la cual hidroliza a las proteínas, siendo ésta más eficiente que otras protea---sas. Esta enzima actúa específicamente como la tripsina, quimiotripsina y la pepsina. La papaína junto con la bromelina y la fisina forman el grupo de mayor importancia de las enzi--mas de origen vegetal. La quimopapaína es muy semejante a la papaína en cuanto a actividad hidrolítica pero solo es la mi tad de efectiva en la hidrolisis de la hemoglobina (11).

El valor nutritivo del fruto se puede observar en el --Anexo 4.

d. Clasificación botánica de Carica papaya L. y Carica cauli  
flora Jacq.

Reino	Vegetal
División	Embriofita sifonógama
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Dicotiledoneas
Subclase	Arquiclamideas
Orden	Parietales
Familia	Caricaceae
Género	<u>Carica</u>
Especies	<u>Carica papaya</u> L. <u>Carica cauliflora</u> Jacq. (1)(30).

e. Principales diferencias morfológicas entre C. papaya L. y  
C. cauliflora Jacq.

Carica papaya L.

2-8m de altura.

Base hasta 10cm  
de diám.

Lóbulos amplios,  
no hendidos.

Nervios 7-11 pal-  
mados.

Peciolos de 10-65  
cm de largo, fistu-  
losos.

Masculina tirsoi-  
de, de 1.5-8cm -  
de largo.

Brácteas lanceola-  
das.

Flores hasta 100  
por inflorescencia.

Femenina con pe-  
dúnculo de 2 ó me-  
nos cm de largo.

Pedicelo hasta --  
0.3mm de largo.

Arboles o arbustos

Hojas

Inflorescencias

Carica cauliflora Jacq.

Hasta 4m de altura.

Base hasta 25cm de ----  
diám.

Lóbulos hendidos hasta  
cerca de la nervadura.  
Nervios 5-palmados.

Peciolos de 11-30cm de  
largo, glabros.

Masculina cimosa, de --  
3.3-8cm de largo.

Brácteas inconspicuas.

Flores 20 ó más por in-  
florescencia.

Femenina con pedúnculo  
de 1.5-3cm de largo.

Pedicelo hasta 1mm de -  
largo.

Unilocular.	Ovario	5-locular ó parcialmen te 5-locular.
1-3cm de largo.		10-15mm de largo.
2-10cm de largo.	Fruto	4-6cm de largo.
1.2-6cm de an-- cho, llegando a tamaños mayores en cultivo.		3-4.5cm de ancho.
Unilocular.		5-locular.
	Semillas	
4mm de largo.		4-9mm de largo.
2mm de ancho (en estado seco).		2-5mm de ancho (en es-- tado seco).
		Moreno (43).

## B. REVISION DE LITERATURA

### a. Desarrollo de la semilla de Carica papaya L.

En el óvulo anátropo de la papaya la célula madre de la megáspora se encuentra rodeada por cinco capas de tejido mucelar y por dos tegumentos: exterior e interior. La célula madre de la megáspora da origen a cuatro células o megásporas, solo una de ellas es funcional, las otras tres se desintegran. La megáspora funcional, cuyo número haploide de cromosomas es nueve, se divide para formar una megáspora bimu--cleada que después de pasar por una etapa en la cual es te--tramucleada, origina el megagametofito octamucleado. En el megagametofito joven, las células sinérgidas son casi del --

mismo tamaño que el huevo y se caracterizan por presentar un núcleo en el extremo micropilar y vacuolas conspicuas en el otro extremo. Las células antipodales se desintegran casi inmediatamente después de su formación. Es evidente que los diferentes óvulos de un pistilo no se encuentran en la misma etapa de desarrollo y que la fertilización solo se realiza en el megagametofito octanucleado. La fertilización en la papaya ocurre a los 13-15 días después de la polinización, el proceso tiene lugar cuando un gameto masculino se une con el huevo para producir el cigoto, este después de un periodo de letargo inicia la formación del embrión, el cual a los 23-28 días de la polinización está constituido por cuatro células, teniendo a los 32-35 días de 8-16 células. El endospermo en esta etapa se encuentra en un estado nuclear libre y se desarrolla mucho más rápido que el embrión. 64 días después de la polinización ya se observa un embrión celular de forma peculiar con un suspensor de tipo haustorial, en esta etapa todavía se encuentra el tubo polínico con su extremo unido al embrión, prolongándose hasta la región tegumentaria, por lo que se piensa que el tubo polínico nutre al embrión por medio de su tejido vascular. De las 11-13 semanas después de la polinización el embrión ya alcanzó su forma pero no su tamaño final y el endospermo pasa del estado nuclear libre a la condición celular. El embrión a los cuatro meses presenta sus dos cotiledones con el filamento provascular y un hipocotilo pequeño, éste al desarrollarse se involucra más con el endospermo que se vuelve más funcional proporcionándole al embrión el material nutritivo que requiere (14).

Cubiertas de la semilla..- Estas se forman a partir de los tegumentos exterior e interior, los cuales a su vez provienen del primordio seminal.

El tegumento exterior se diferencia en las siguientes partes:

- I) La sarcotesta compuesta de grandes células epidérmicas -- con membranas delgadas y mucho jugo celular.
- II) La endotesta aparece como un tejido compacto de varios -- surcos paralelos a lo largo del eje de la semilla (14).
- III) La epidermis interna uniestratificada, con células que llevan oxalato de calcio.

El tegumento interior se diferencia en:

- I) Epidermis externa formada por células pétreas.
- II) El mesófilo compuesto de células alargadas tangencialmente.
- III) La epidermis interna cubierta por una cutícula (56).

Se pueden encontrar óvulos con cubiertas de la semilla bien diferenciadas, pero sin poseer endospermo ni embrión -- (op.cit. 14).

#### b. Enfermedades del papayo

El papayo es un frutal que se ve frecuentemente afectado por diversas enfermedades de tipo fungoso, bacteriano --- (Anexo 5) y viral, siendo estas últimas las más severas y difíciles de controlar; a causa de ellas se ha reducido el ciclo de vida del árbol frutal, ya que en México el cultivo an

tes duraba tres años con dos producciones, y ahora año y medio con una sola producción (20).

En nuestro país se han reportado las siguientes enfermedades virales:

I. Cogollo arrepollado (Bunchy top: BT).

Esta enfermedad se reportó por primera vez en Puerto Rico en 1931, se piensa que es de las enfermedades más importantes de las que afectan a la papaya. La enfermedad se ha reportado en algunas Islas del Caribe (Cuba, Haití, Jamaica y Trinidad), en donde constituye el mayor problema (9). Se caracteriza por presentar como follaje una roseta de hojas en el cogollo, crecimiento lento, tallo de consistencia dura y peciolo cortos, rígidos y extendidos horizontalmente, -- hojas inferiores caedizas. Las hojas son pequeñas, gruesas y cloróticas, quedando limitadas al cogollo y flores caedizas (35).

Sobre los entremudos acortados del tallo, se observan puntuaciones y pequeñas manchas de aspecto aceitoso y color verde oscuro; en estas manchas el látex no fluye por punción. En la zona vecina a las manchas es también posible observar formaciones de apariencia cancerosa. Usualmente el -- ápice de la planta se curva y las márgenes de los lóbulos foliares presentan zonas necróticas. Las hojas más jóvenes van cayendo paulatinamente en orden decreciente de edad dejando la extremidad del tallo desnudo y con aspecto de punta de lápiz. En los frutos se desarrollan zonas de color verde pálido, de las cuales no fluye el látex, en contraste con las -- zonas de coloración normal. En algunos casos la totalidad --

del fruto aparece sin látex. Muy a menudo la falta de látex en los frutos es el primer síntoma aparente de las plantas enfermas y, en todos los casos, es uno de los síntomas de más confianza para el diagnóstico (24).

Esta enfermedad la transmite únicamente el saltahoja Empoasca papayae Oman., no se transmite por savia inoculada ni por injertos (op.cit. 35).

El movimiento descendente del virus en la planta es muy lento, y si se corta el tallo por debajo de la línea de falta de látex, frecuentemente los retoños producidos aparecen sanos, recobrándose de este modo una buena parte de las plantas enfermas, que entrarán de nuevo en producción. La desaparición completa de los síntomas se ha obtenido después de -- aplicar al suelo 100ppm de clorotetraciclina o hidrocloreuro de tetraciclina durante 6 semanas, a intervalos de 3 días -- (op.cit. 9)(62).

## II. Mosaico de la papaya (Papaya mosaic virus: PMV).

Se reportó inicialmente en Florida en 1964. Sus efectos son: plantas achaparradas; entrenudos cortos; manchas aceitosas, verdes oscuras, lineales o irregulares en los tallos. Peciolos cortos y con manchas aceitosas oscuras semejantes a las del tallo. Las hojas presentan áreas oscuras y amarillentas (mosaico) decoloraciones intervenales, los bordes generalmente plegados y enrollados hacia arriba, con apariencia rugosa, presencia de áreas verdes aceitosas redondeadas y levantadas en forma de cojín y con la venación pronunciada y amarillenta. Generalmente la lámina foliar desaparece o se

deforma, transformandose en estructura filiforme con escasos restos de lámina foliar terminando a manera de punta de lápiz. Estos síntomas son muy notables en la parte más joven de la planta, quedando las hojas viejas o inferiores normales o afectadas levemente y caedizas, cuando la infección es muy severa produce defoliación. Los frutos son muy pequeños, deformes, con secreción abundante de látex, de sabor no agradable; los síntomas varían en el fruto según la edad en que se produjo la infección, siendo más severos cuando la infección es temprana (op.cit. 24).

Las propiedades físicas del virus del mosaico son: punto de inactivación térmica entre 55-60 °C durante 10 minutos, el jugo extraído de las hojas infectadas conserva su infectividad durante más de 180 días "in vitro", el tamaño promedio de las partículas es de 528x12nm (29)(op.cit. 35).

El medio de control más efectivo es la aspersion de las plantas infectadas con malathion. Esto da cierto alivio, especialmente si también se rocían las plantas próximas a las infectadas (27).

### III. Mancha Amular (Papaya ringspot virus: PRV).

Fué reportada desde 1929 en Africa, Australia, áreas -- del Caribe, Florida, Hawaii, India y América del Sur (20). -- Los efectos que causa son: moteado en el follaje y distor--- sión, con ampollas entre las venas de las hojas jóvenes. Los espacios intervenales presentan un color verde claro acentuado. No llega a producir la muerte de la planta, solamente la debilita y baja su producción (op.cit. 35).

Las plantas afectadas detienen su crecimiento y los peciolos se acortan, el amarre de frutos se reduce severamente conforme progresa la enfermedad. El fruto presenta anillos y manchas, su sabor y aroma se afectan notablemente, el flujo del látex no se modifica y se forman círculos verdes y café obscuro (9).

En nuestro país, esta enfermedad se considera como la más importante, por ser la que más problemas está causando en los cultivos de papaya (44).

El virus del manchado anular es transmitido mecánicamente por injerto, así como por los áfidos: Aphis spiraecola, A. gossypii, A. craccivora, A. rumicis y Myzus persicae (op.cit. 9). El tamaño promedio de las partículas de virus es de 91x12nm. El virus se inactiva por exposición de la savia infectada a 57 °C durante 10 minutos y por diluciones del virus aislado mayores a  $10^{-3}$  (op.cit. 29).

Los intentos que se han efectuado para controlar a los áfidos vectores de esta enfermedad por medio de la aplicación de insecticidas, no ha tenido éxito. El desarrollo de variedades resistentes parece ser la posibilidad más efectiva (21) - (55).

### c. Híbridos entre caricáceas

El problema de la virosis es muy serio en la especie Carica papaya L., por lo que se ha tratado de introducir tolerancia a esta enfermedad. La primera fuente de tolerancia debe buscarse inicialmente dentro de los huertos comerciales --

de papaya, debido a que se conoce el comportamiento agrícola de ésta, es decir, rendimiento, calidad y adaptación ecológica. Si dentro de la población comercial de C. papaya L., no se encuentra éste carácter, es necesario recurrir a las especies silvestres que presenten tolerancia y capacidad de intercambio genético con esta especie.

Las plantas que pueden presentar estos caracteres son necesariamente miembros de la familia Caricaceae. A nivel de género Jacaratia y Carica son los únicos reportados como tolerantes. Jacaratia con tres de sus especies: J. espinosa, J. corumbensis y J. mexicana, y en el género Carica, en el que se han llevado a cabo la mayor parte de los estudios por ser compatible genéticamente, se reportan las siguientes especies: C. cauliflora, C. pubescens, C. stipulata y el híbrido C. x heilbornii.

Una vez identificadas las especies, el siguiente paso es el cruzamiento intergenérico y/o interespecífico; el mayor problema involucrado en ello es la incompatibilidad, y en caso de que las especies sean compatibles, el híbrido resultante puede adquirir caracteres que no sean necesariamente comerciales, por lo que para recuperarlos es necesario efectuar la retrocruza.

Existe bibliografía sobre los diferentes grados de compatibilidad en caricaceas como son: polinizaciones completamente negativas; cruzas que desarrollaron semillas incompletas que requieren el cultivo "in vitro" de los embriones; cruzas que producen semillas completas cuyas especies de existir simpátricamente pueden producir híbridos naturales (22).

Badillo (7), reporta tanto éxitos como fracasos en las cruzas realizadas entre las diversas especies del género -- Carica. Las primeras cruzas fueron:

C. papaya X C. pubescens

C. pubescens X C. papaya

C. cauliflora X C. papaya

Aunque no hay reportes con respecto a las semillas formadas y fertilidad de estos híbridos.

Gutiérrez (17), menciona que se encuentran datos breves de plantas del híbrido C. microcarpa X C. papaya. Se reporta que fueron fértiles con un gran número de semillas -- viables ya que germinaron bien, con una descendencia de dos plantas femeninas una masculina con las características de C. papaya.

El mismo autor (17), cita a Muller quien en 1969 polinizó los híbridos obteniendo una  $F_1$  con las características de papaya y una  $F_2$  con caracteres de C. microcarpa; los estudios de estas plantas indican dominancia de C. papaya con algunos rasgos de C. microcarpa.

En el jardín del señor Gruson en Macdemburgo, se logró un híbrido entre C. papaya y C. goudotiana en 1878. Desafortunadamente no se conservó (op.cit. 17).

Volmex en Bruselas hizo cruzas entre C. monoica y C. pubescens y luego las retrocruzó con C. pubescens. El fruto de la retrocruza fué oviforme marrón rojizo y las semillas germinaron dentro del fruto. Badillo comparó el desarrollo

de estos híbridos con el del progenitor masculino y comprobó que eran más precoces, siendo éstos parcialmente masculinos, con un solo ejemplar monoico. El encontró una sola --- flor hermafrodita similar a las de C. papaya (op.cit. 7).

Warmke y Cabanillas (68), reportan un híbrido interespecífico entre C. goudotiana y C. monoica altamente fértil.

Stambaugh (60), reporta un nuevo híbrido resultante de la retrocruza de la variedad Solo azul sobre Solo, teniendo resultados notables.

La formación de tetraploides dentro de las distintas especies del género Carica es uno de los objetivos de los investigadores que trabajan con el mejoramiento de la especie Carica papaya L., para obtener híbridos viables y fértiles entre las especies cultivadas y las silvestres.

Micheletti (42), obtuvo tres plántulas tetraploides de Carica cauliflora, todas masculinas, que desafortunadamente se perdieron por pudrición del cuello de la raíz a los 18 meses de edad realizándose solo un cruzamiento con C. papaya L. 4n, pero todas las semillas obtenidas fueron vanas.

En los últimos decenios se han publicado noticias interesantes sobre los estudios de hibridación, efectuándose -- con miembros del género Carica (Anexo 7).

#### d. Cultivo de embriones inmaduros

Aunque el cultivo de embriones fué iniciado por Hanning

en 1904, no se convirtió en una rama importante de la Botánica hasta hace aproximadamente 50 años. Esta nueva rama ha -- permitido obtener híbridos por medio de combinaciones de caracteres genéticos que anteriormente parecían imposibles. En tre los primeros trabajos mencionados en la literatura se en cuentran los de Charles Bonnet "Recherches sur l'usage des - Feuilles" (1754), quien trabajó con embriones de Phaseolus multiflorus y Fagopyrum (57).

El primer trabajo "in vitro" fué el de Hanning (19), -- quien trabajó con crucíferas utilizando medios nutritivos -- que contenían sales minerales, aminoácidos y extractos vegetales obteniendo plántulas a partir de embriones inmaduros -- sin pasar por su proceso normal de diferenciación.

Rappaport (53), cita a Dietrich quien en 1920, trabajan do principalmente con crucíferas y pastos encontró (en em-- briones inmaduros de aproximadamente  $1/3$  del tamaño final) -- el mismo fenómeno denominandolo "germinación precoz". En sus trabajos utilizó solución Knop con sacarosa al 5 y 10%, y -- agar al 1.55% observando que cuando tales embriones inmadu-- ros crecían en la superficie del medio con agar, en vez de -- continuar su desarrollo embrionario, se producía una germina ción prematura.

Laibach (28), empleó la técnica de cultivo de embriones como un medio para el crecimiento embrionario de híbridos de Linum los cuales generalmente abortan, al cultivar estos em briones híbridos de etapa temprana en una solución con glucosa al 15% tuvo éxito en la obtención de plántulas híbridas - viables.

El avance más importante en el cultivo de embriones se logró con los trabajos de Overbeek (50), quien añadió agua - de coco al medio de cultivo logrando el desarrollo de embriones de 200 milimicras producto de la hibridación interespecí-fica de Datura. Las investigaciones subsecuentes han tomado este estudio como punto de partida, sirviendo como base para estudios de embriología, genética y bioquímica, permitiendo además, rescatar el producto no solo de las cruzas interespecíficas, sino también intergenéricas.

Mauney (38), cultivó embriones inmaduros de algodón en medio White modificado, variando la presión osmótica del medio y tomando en cuenta la influencia que ejerce este factor en el desarrollo embrionario.

Anagnostakis (3), preparó 20 medios diferentes para cultivar embriones inmaduros de Olmo Americano. Usó el medio bá-sico de White (bajo en sales) y el medio de Murashige y ----Skoog (rico en sales), con y sin agua de coco; ajustó el pH a 5, 6 y 7, encontrando los mejores resultados (38% de germinación) con medio de White a pH 6 y con agua de coco.

Sharp (58), cita a Fassuliotis quien cultivó embriones de Cucumis metuligerus y sus híbridos interespecíficos con C. melo. Los embriones obtenidos por autopolinización se desarrollaron bien en el medio de Murashige y Skoog (con AIA y Cinetina). El 23% de los embriones cultivados en etapa de corazón, formaron plántulas normales. Los embriones híbridos - de C. metuliferus X C. melo no alcanzaron la etapa de cora-zón y solo uno de ellos formó plántula que presentó únicamentamente

te las características del progenitor femenino.

Cabe mencionar que el fracaso de las semillas híbridas, se debe a la inactividad del desarrollo del endospermo o a su incompatibilidad con el embrión, sin que esto necesariamente implique que el embrión esté muerto.

Hasta el momento no existen reportes sobre el cultivo de embriones inmaduros de papaya; el único trabajo de este tipo es el realizado por Rojkind, Quezada y Gutiérrez (55) del cual, como ya se mencionó, es la base de este trabajo.

#### e. Cultivo de callos y células

El cultivo de tejido más simple es un callo, compuesto de células producidas por estimulación en una porción del explante de una planta como pueden ser fragmentos de raíz, tallo, hoja, embrión, etc. Son pocos los tejidos de las plantas que no responden a los tratamientos establecidos para inducir la formación de un callo, y por tal razón se considera que el aislamiento y el sucesivo establecimiento del callo en gran parte depende de las condiciones del cultivo empleadas y no de la fuente del material empleado.

Un callo crece por un cierto periodo de tiempo, después del cual se corta en un número de piezas o inóculos, que son transferidos a medio fresco para poder continuar así su crecimiento.

Las principales técnicas desarrolladas para el cultivo de callo en medio sólido fueron elaboradas por White en 1939

y Gautheret en el mismo año. Estas técnicas fueron simples y emplearon medios de cultivo solidificados con agar. Sin embargo este medio presenta algunas desventajas: como solo la base del callo está en contacto con el medio, el gradiente de difusión de nutrientes y gases existentes en el tejido produce diferentes grados de crecimiento o senescencia en diferentes regiones del callo. La producción de gradientes en el intercambio de gases respiratorios es ocasionada por la oclusión en la base del callo, por lo tanto es así como se establecen los gradientes de productos tóxicos. Por último, en un sistema estático, el callo está sujeto a polarización por gravitación y variación en la incidencia de la luz. Es así como más recientemente se ha empleado el medio de cultivo líquido para estudios de nutrición, metabolismo y crecimiento celular (63).

Street (op.cit. 63). menciona a Heller quien en 1949 modificó la técnica anteriormente descrita y obtuvo un grado similar de desarrollo utilizando medio inmóvil el cual presenta una ventaja más con respecto al medio sólido, que es la ausencia de sustancias presentes en los agentes solidificantes que de una u otra forma podrían intervenir en el buen desarrollo del callo. Dentro de esta técnica suele usarse papel filtro como soporte, medio por el cual se transportan todas las sustancias nutritivas hacia el cultivo en desarrollo.

El problema de difusión de nutrientes ha sido vencido por el sumergimiento de los callos en el medio de cultivo líquido, y es así como se eliminan algunas desventajas descri-

tas en el medio estacionario. El movimiento del tejido en relación con el medio nutritivo facilita el intercambio gaseoso, elimina la polarización del tejido debido a la gravedad, los gradientes nutritivos dentro del medio y en la superficie del tejido (op.cit. 63).

La cantidad de separación celular en un cultivo varía, y depende de la naturaleza del callo, su origen y composición del medio de cultivo (65). Por lo tanto, el cultivo de células en suspensión consiste de una mezcla de agregados celulares, racimos de células y células libres. Las tasas de crecimiento en general son más altas que en agar; proporciona un mayor control sobre el crecimiento porque la mayoría de las células están rodeadas por el medio y por lo tanto el metabolismo de las células puede ser también más uniforme -- (op.cit. 65).

El medio desarrollado por Murashige y Skoog para el cultivo de tejidos en tabaco, ha sido usado ampliamente para el cultivo de callos y células en suspensión de muy diversas plantas realizandose modificaciones de acuerdo a los requerimientos particulares.

De las citas bibliográficas consultadas se encontró el trabajo elaborado por Litz y Conover (34), quienes obtuvieron embriones somáticos de Carica stipulata por medio del cultivo celular.

## M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

Para la realización de esta investigación se emplearon callos formados a partir de embriones híbridos inmaduros de 60 días de edad procedentes de la cruce entre Carica cauliflora Jacq. x Carica papaya L.

El medio nutritivo utilizado fué el elaborado por Murashige y Skoog (47) (Anexo 6), semisólido ó líquido.

Los reguladores de crecimiento vegetal que se añadieron al medio nutritivo fueron: Acido naftalenacético (ANA) y Acido indolbutírico como auxinas; 6 Bencilamino purina como citocinina y Acido giberélico como giberelina. Las combinaciones empleadas de tales hormonas fueron las siguientes: 6BAP-ANA; 6BAP-IBA; GA<sub>3</sub>-6BAP-ANA y GA<sub>3</sub>-6BAP-IBA en diferentes concentraciones.

Todos los tratamientos empleados fueron ajustados a un pH de 5.6-5.8 con la adición de una solución ácida (HCl 1.0 N) ó básica (KOH 1.0 N); se esterilizaron en autoclave a 15 atm de presión y 125 °C de temperatura durante 15 minutos. Posteriormente se colocaron los callos enteros o macerados (según el caso) lo más homogéneo posible en los diferentes medios de cultivo con la ayuda de una cámara de flujo laminar. Los cultivos se mantuvieron en una cámara de crecimiento con una intensidad de 1,00 lux (a excepción de los tratamientos del Cuadro 10), proporcionándoles un fotoperiodo de 16 h luz y T° de 25±2 °C. Las observaciones se realizaron cada 8 días durante 2 meses, efectuándose trasplante cada 15 -

días (a excepción de los 6 últimos cuadros de tratamientos).

En los Cuadros 1-2-3 y 5, se utilizó medio semisólido - Murashige y Skoog diluido a la mitad ( $\frac{1}{2}N$ ), con el suministro adecuado de reguladores de crecimiento, 0.6% de agar-agar y 0.5% de carbón activado (este último en 4 repeticiones de -- c/u de los tratamientos de los Cuadros 1-3 y 5; Cuadro 2 en las 5 repeticiones de cada tratamiento). Se vertieron 15ml - de medio en cada frasco refractario de 125ml, se taparon con papel aluminio y se esterilizaron. Los parámetros a considerar fueron: Color del callo, consistencia e incremento en peso (mg), para los Cuadros 1-2 y 5; Número de brotes por callo, tamaño del brote, color y forma de las hojas, para el - Cuadro 3.

Se realizaron diluciones del medio Murashige y Skoog -- (1/4-1/2-3/4 y sin diluir= 1N), sin la utilización de hormonas de crecimiento en los tratamientos del Cuadro 4. Los parámetros considerados fueron: Color del callo, consistencia e incremento en peso (mg).

Cultivo en suspensión.- Se utilizó medio Murashige y Skoog - líquido diluido a la mitad ( $\frac{1}{2}N$ ), a excepción de la Tiamina - (utilizada como única fuente de vitaminas) y el Myoinositol (100 mg/l de c/u), en los tratamientos de los Cuadros 6-7-8 y 9; se vertieron 30ml de medio (con su respectiva concentración hormonal) en cada matraz Erlenmeyer de 125ml; ya estériles se colocaron iguales porciones de callo. Por último, se mantuvieron en agitación a 150 rpm durante 4 semanas. Los - parámetros considerados fueron: Forma celular (utilización - de microscópio óptico), crecimiento de fragmentos de callo,

posible diferenciación (brotes), color y consistencia.

Cultivo celular.- En los tratamientos del Cuadro 10, se utilizó el mismo medio anterior (M y S líquido) y procedimiento anterior, a excepción de que los callos fueron dispersados en un pequeño mortero; se mantuvieron en agitación y obscuridad constante durante 4 semanas. Los parámetros considerados fueron los mismos que para los cuatro cuadros anteriores.

Callo nodriza.- Se colocaron fragmentos ó clones de callos híbridos de aproximadamente 3mm de diámetro sobre papel filtro (Whatman No.42) colocado sobre un callo procedente de embriones de *Carica papaya* L., a su vez el callo nodriza se encontraba sobre esponja de poliuretano con medio Murashige y Skoog líquido (Figura 1), con la misma concentración hormonal en la cual se desarrolló el callo nodriza. El cambio de los callos híbridos en crecimiento a nuevos callos nodrizas se realizó cada 15 días. Al alcanzar los callos híbridos 8mm aproximadamente se trasplantaron a medio sólido con 0.1 mg/l de IBA para su crecimiento independiente y su posterior diferenciación.

Embriones somáticos y brotes.- En los tratamientos del Cuadro 11 se utilizaron callos híbridos como pruebas y callos de *Carica papaya* L. como testigos, con la utilización de las concentraciones hormonales reportadas por Litz y Conover (34) y Valencia (66) para la formación de embriones somáticos y brotes respectivamente, además de la utilización de carbón activado (0.5%) y  $GA_3$  en algunos tratamientos. Los callos fueron dispersados en un mortero, colocados c/u en 30ml

de medio y mantenidos en agitación constante durante un mes y posteriormente dos meses en fase estacionaria. Los parámetros considerados fueron: Forma celular (utilización de microscopio óptico), presencia de embriones somáticos y brotes.

		mg/l				
6BAP ANA	0.0	0.5	1.0	2.0	3.0	
0.0	I	II	III	IV	V	
5.0	VI	VII	VIII	IX	X	
10.0	XI	XII	XIII	XIV	XV	

Cuadro 1. Espectro amplio de combinaciones de concentraciones hormonales para la proliferación del callo (6BAP-ANA) con y sin carbón activado (0.5%).

Unidad experimental: 1

Repeticiones: 4 con carbón activado y 4 sin carbón activado.

Tratamientos: XV

		mg/l				
6BAP ANA	0.0	0.01	0.05	0.1	0.2	
0.0	I	II	III	IV	V	
0.1	VI	VII	VIII	IX	X	
0.5	XI	XII	XIII	XIV	XV	
1.0	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX	
2.0	XXI	XXII	XXIII	XXIV	XXV	
5.0	XXVI	XXVII	XXVIII	XXIX	XXX	

Cuadro 2. Efecto del 6BAP-ANA en la proliferación del callo, con carbón activado (0.5%).

Unidad experimental: 1

Repeticiones: 5

Tratamientos: XXX

		mg/l				
ANA \ 6BAP		1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
0.0		I	II	III	IV	V
0.05		VI	VII	VIII	IX	X
0.1		XI	XII	XIII	XIV	XV
0.2		XVI	XVII	XVIII	XIX	XX
0.3		XXI	XXII	XXIII	XXIV	XXV
0.4		XXVI	XXVII	XXVIII	XXIX	XXX

Cuadro 3. Combinaciones de concentraciones hormonales --- (6BAP-ANA) para la diferenciación del callo, -- con y sin carbón activado (0.5%).

Unidad experimental: 1

Repeticiones: 4 con carbón activado y 4 sin carbón activado.

Tratamientos: XXX

1N	0.75N	0.50N	0.25N
----	-------	-------	-------

Cuadro 4. Influencia del medio Murashige & Skoog normal y diluido.

Unidad experimental: 1

Repeticiones: 25

Tratamientos: IV

	mg/l				
6BAP IBA	0.0	0.1	0.2	0.5	1.0
0.0	I	II	III	IV	V
0.01	VI	VII	VIII	IX	X
0.1	XI	XII	XIII	XIV	XV
0.2	XVI	XVII	XVIII	XIX	XX
0.5	XXI	XXII	XXIII	XXIV	XXV
1.0	XXVI	XXVII	XXVIII	XXIX	XXX
2.0	XXXI	XXXII	XXXIII	XXXIV	XXXV

Cuadro 5. Efecto del 6BAP-IBA en la proliferación del callo, con y sin carbón activado (0.5%).

Unidad experimental: 1

Repeticiones: 4 con carbón activado y 4 sin carbón activado.

Tratamientos: XXXV

		mg/l Sin GA <sub>3</sub>		
Tiamina 6BAP-IBA		0.1	0.2	0.4
	0.0-0.0	I	II	III
	0.5-0.01	IV	V	VI
	2.0-0.2	VII	VIII	IX

		mg/l GA <sub>3</sub> 0.1		
Tiamina 6BAP-IBA		0.1	0.2	0.4
	0.0-0.0	I	II	III
	0.5-0.01	IV	V	VI
	2.0-0.2	VII	VIII	IX

		mg/l GA <sub>3</sub> 1.0		
Tiamina 6BAP-IBA		0.1	0.2	0.4
	0.0-0.0	I	II	III
	0.5-0.01	IV	V	VI
	2.0-0.2	VII	VIII	IX

		mg/l GA <sub>3</sub> 10.0		
Tiamina 6BAP-IBA		0.1	0.2	0.4
	0.0-0.0	I	II	III
	0.5-0.01	IV	V	VI
	2.0-0.2	VII	VIII	IX

Cuadros 6-7-8 y 9. Tratamientos para observar el efecto - de la Tiamina y hormonas en la proliferación y posible diferenciación del callo.

Unidad experimental: 1  
 Repeticiones: 4  
 Tratamientos: IX

GA <sub>3</sub> 0.1 mg/l	
Tiamina	0.2
6BAP-IBA	
0.0-0.0	A
0.25-0.005	B
0.5-0.01	C
1.0-0.1	D
2.0-0.2	E

Unidad experimental: 1  
 Repeticiones: 5  
 Tratamientos: A-E

Cuadro 10. Tratamientos para el desarrollo y posible diferenciación del callo.

		6BAP-IBA	Trat.	6BAP-ANA	Trat.
GA <sub>3</sub> 0.1 mg/l	Con carbón activado.	A	I	A	I'
		B	II	B	II'
	Sin carbón activado.	A	III	A	III'
		B	IV	B	IV'
Sin GA <sub>3</sub>	Con carbón activado.	A	V	A	V'
		B	VI	B	VI'
	Sin carbón activado.	A	VII	A	VII'
		B	VIII	B	VIII'

Cuadro 11. Tratamientos en medio líquido para la obtención de embriones somáticos y brotes, con el uso de 6BAP-IBA para callo híbrido y 6BAP-ANA para callo de Carica papaya L.

A: 0.45-0.18 mg/l  
 B: 0.40-0.25 mg/l

Unidad experimental: 1  
 Repeticiones: 3  
 Tratamientos: XVI



Figura 1. Representación del uso de callo nodriza.

## R E S U L T A D O S

Del Cuadro 1 se obtuvieron los mejores resultados en -- los tratamientos I y VI, el primero sin la utilización de -- hormonas y el segundo sin 6BAP, 5.0 mg/l de ANA y con carbón activado, no obstante, el desarrollo de los callos fué lento y poco abundante. Con respecto al color, este al iniciar el experimente era generalmente amarillo-crema, tornandose crema con porciones hialinas lo cual indicó crecimiento; la consistencia al iniciar el experimento era dura, siendo poste--riormente menos dura (poco friable).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se ampliaron los rangos hormonales (Cuadro 2), no hubo crecimiento de los callos híbridos en ningún tratamiento.

Para la diferenciación se elaboró el Cuadro 3, no se obtuvo tal, solo un cambio en la coloración en los tratamien--tos con carbón activado que fué a crema.

Pensando que los nutrientes pudieran ser los responsa--bles de estos resultados negativos, se modificaron las con--centraciones del medio Murashige y Skoog sin la utilización de hormonas de crecimiento (Cuadro 4), sin embargo no se mejoraron los resultados.

Se procedió a modificar las auxinas cambiando ANA por -- IBA (Cuadro 5), donde se observó incremento en el peso. El -- promedio de crecimiento de los callos híbridos con carbón activado fué de 182.48mg de todos los tratamientos comparado --

con un promedio de 61.82mg sin carbón activado. La mejor respuesta fué obtenida sin 6BAP, 0.1 mg/l de IBA y con carbón activado (Tratamiento XI), teniendo un promedio de crecimiento de 404.02mg. Cabe mencionar, que los promedios fueron obtenidos solamente de dos trasplantes debido al alto índice de contaminación bacteriana presentado en el tercero.

Cultivo en suspensión.- De los cuadros elaborados para tal fin, se obtuvo lo siguiente: Sin GA<sub>3</sub> ningún cambio significativo en todos los tratamientos (Cuadro 6); con 1.0 mg/l de GA<sub>3</sub> mediana oxidación de los callos híbridos en todos los tratamientos (Cuadro 8); con 10.0 mg/l de GA<sub>3</sub> oxidación de todos los callos híbridos (Cuadro 9); como se puede apreciar las respuestas fueron independientes de las otras hormonas (6BAP-IBA) y de la Tiamina. No obstante con la utilización de 0.1 mg/l de GA<sub>3</sub> con 0.2 mg/l de Tiamina sin ser necesarios el 6BAP y IBA (Cuadro 7 Tratamiento II), se observaron fragmentos de callos híbridos suspendidos en el medio de aproximadamente 3mm de diámetro con coloración hialina y con 0.1 mg/l - 0.5 mg/l - 0.01 mg/l - 0.2 mg/l (GA<sub>3</sub>-6BAP IBA-Tiamina) (Cuadro 7 Tratamiento V), se observaron fragmentos de callos híbridos de menor tamaño y con coloración hialina.

Cultivo celular.- De cada tratamiento del Cuadro 10, se tomaron muestras y se observaron, encontrándose en todos ellos agregados celulares con células redondeadas, células libres redondeadas y células con pared celular rota; con 0.1 mg/l de GA<sub>3</sub> y 0.2 mg/l de Tiamina, sin ser necesarios el 6BAP y IBA (Tratamiento A), se observaron además pocas células ovoides en división celular y nuevamente fragmentos de callo híbrido con coloración hialina y con 0.1 mg/l - 2.0 mg/l - -

0.2 mg/l - 0.2 mg/l (GA<sub>3</sub>-6BAP-IBA-Tiamina) (Tratamiento E) - células individuales alargadas de varios tamaños. Cabe señalar que a pesar de que se separó el callo híbrido antes de colocarse en el medio líquido, no se observó mayor disociación.

Callo nodriza.- Los fragmentos o clones de callos híbridos - obtenidos de 0.1 mg/l de GA<sub>3</sub> con 0.2 mg/l de Tiamina (Cuadro 10 Tratamiento A) y 0.1 mg/l - 0.5 mg/l - 0.01 mg/l - 0.2 mg/l (GA<sub>3</sub>-6BAP-IBA-Tiamina) (Cuadro 10 Tratamiento C), se transfirieron a callo nodriza, alcanzando el tamaño deseado y trasplantados a medio sólido con 0.1 mg/l de IBA, su desarrollo no continuó.

Embriones somáticos y brotes. De todas las combinaciones realizadas, no se obtuvieron los resultados esperados. Sin embargo se observaron mayor cantidad de células alargadas en los tratamientos testigos y mayor cantidad de células redondeadas en el grupo prueba; en ambos se observaron agregados de células alargadas y redondeadas de diferentes formas pero sin ninguna diferencia significativa.

## D I S C U S I O N

En el Cuadro 1 se utilizó un amplio rango hormonal con el fin de determinar las mejores concentraciones para la proliferación de los callos híbridos; de los resultados obtenidos se puede decir que para el desarrollo observado en el --tratamiento I (sin hormonas 6BAP-ANA), podría deberse al fenómeno conocido como habituación, en el cual los callos continúan su desarrollo sin requerir hormonas exógenas (59)(65). Con respecto al tratamiento VI (sin 6BAP y 5.0 mg/l de ANA) los callos híbridos pudieron haber ya estado habituados al --ser trasplantados a este tratamiento lo cual pudo provocar --su desarrollo, pero al absorber esta concentración se produjo un efecto represivo en su crecimiento, lo cual ocurre igualmente en callos de Carica papaya L., donde a concentraciones de 5.0 mg/l de ANA existe una inhibición del crecimiento (5). Así para los tratamientos con 10.0 mg/l de ANA --se puede considerar que también presentaron un efecto represivo ó tóxico.

El hecho de que no se hayan obtenido respuestas en los tratamientos del Cuadro 2, puede ser explicado por la senescencia del tejido, ya que como se mencionará más adelante --por esta misma causa se pierde la capacidad de diferenciar (59). Las distintas combinaciones de concentraciones hormonales utilizadas deberían haber provocado alguna respuesta pero probablemente la difusión de nutrientes y hormonas de crecimiento hacia las partes más externas de los callos híbri--dos no se pudo realizar por la presencia de una gran canti--dad de células muertas y células con poca actividad, lo cual

repercute en su división y por lo tanto en su desarrollo.

En relación a los tratamientos del Cuadro 3 donde no se obtuvo diferenciación, existen diferentes formas de variación las cuales explicarían la falta de respuesta. Una de ellas sería el envejecimiento del tejido lo cual fué observado en callos de zanahoria trasplantados a intervalos de 6 semanas por un periodo de dos años (59); lo mismo sucedió con los callos híbridos utilizados en este trabajo pues antes de iniciarlo, los callos fueron trasplantados por un periodo de cuatro meses. Se menciona también pérdida en la capacidad de diferenciar en callos de tabaco, en el cual la habilidad de iniciar raíces se perdió en año y medio que tenía el cultivo, así como la formación de brotes entre año y medio y tres años (48). Cuando se ha llegado a obtener plantas de cultivos de callo viejo de tabaco se han observado anomalías como pétalos ondulados y anteras degeneradas (59). Sucesivos subcultivos también producen cambios a nivel genético lo cual ocasiona gran variabilidad e incremento en el número de los cromosomas de cada célula. En cultivo de callos de Citrus limon la frecuencia de células diploides fué decayendo de 100% a 71% en el primer trasplante, y un 33% en el tercer trasplante, realizándose los anteriores cada mes; así también en callos de tabaco se encontró que la aneuploidia fué un rasgo típico de represión morfogénica (49). Como se puede observar existen diferentes puntos que pueden dar respuesta a la falta de diferenciación, por tanto un estudio citológico y cariotípico nos aclararía la incógnita a la falta de diferenciación.

Para los tratamientos del Cuadro 4, se partió de que el medio normal Murashige y Skoog no tuvo efectos favorables en el desarrollo de los embriones maduros de Carica papaya L. - ya que los niveles de nitrógeno reducido y sacarosa fueron - muy elevados, por lo tanto al disminuir la concentración de estos elementos y los restantes constituyentes del medio a - la mitad (0.50 ó  $\frac{1}{2}$  N) la respuesta de los embriones fué alta - mente satisfactoria (17). Basado en lo anterior se pensó que por ser los callos provenientes de embriones inmaduros, al - gún ó algunos elementos que intervienen en el desarrollo de ellos podrían ser cruciales para su desarrollo, lo cual no - se pudo comprobar posiblemente debido a la senescencia del - tejido (59).

Como se pudo observar la respuesta de los callos híbridos fué mejor con la utilización de IBA que con ANA, lo cual resulta ser lo contrario a lo obtenido con Carica papaya L. (4)(5)(6)(32)(33)(69). Hasta el momento no hay reportes so - bre respuestas "in vitro" de híbridos de papaya con la utili - zación de IBA por lo cual se podría considerar a esta hormo - na como más eficiente para el cultivo de híbridos que el ANA. Con respecto al tratamiento XI (sin 6BAP y 0.1 mg/l de IBA) donde se obtuvo la mayor proliferación de callo híbrido, se puede hacer una comparación con lo obtenido de la utiliza - ción de ANA en callos de Carica papaya L. a la misma concen - tración donde se obtuvo un 80% de proliferación (5).

En cuanto al uso del carbón activado se observó que de alguna manera influyó en los tratamientos de los Cuadros 1 - - 2-3 y 5; en cuanto a la coloración de los callos híbridos se observó que con el paso del tiempo esta fué cambiando siendo

entre amarillo y café a crema con porciones hialinas; se pudo apreciar también, que favoreció o ayudó al crecimiento de los callos híbridos ya que comparando con los tratamientos sin carbón activado el crecimiento fué mayor (Cuadro 5). Al carbón activado se le han asignado efectos benéficos, interviniendo sobre el crecimiento y morfogénesis (raíces y brotes) (67), embriogénesis y regeneración de plántulas (12) -- (34), esto atribuido a la absorción por el carbón activado de ciertas sustancias (principalmente de tipo fenólicas) que de alguna manera los deprimen o inhiben (15)(16). Efectos negativos también han sido reportados, como son sus efectos tóxicos sobre el tejido por altas concentraciones (15)(10) y además que en algunas especies se ha observado que inhibe su desarrollo debido a que además de remover sustancias tóxicas liberadas por el tejido puede absorber auxinas (15). Por lo anterior se considera que lo más probable que pudo haber sucedido fué la absorción de sustancias tóxicas que afectaban al callo híbrido evitando así su oxidación y favoreciendo el crecimiento.

Cultivo en suspensión.- Como ya se mencionó, en los tratamientos de los Cuadros 6 7 8 y 9 la Tiamina y el Myoinositol no fueron diluidos a la mitad, lo cual fué basado en reportes donde estos elementos y el  $GA_3$  han contribuido en el desarrollo de callos (5)(23)(31)(47)(49). Se observó en todos los tratamientos que el  $GA_3$  fué el que influyó más con efectos tanto negativos como positivos. Ha sido observado en callos de tabaco que con la utilización de 10.0 y 0.1 mg/l de  $GA_3$  se logra buen desarrollo de callo, con 1.0 mg/l de  $GA_3$  se consigue la mejor respuesta considerandose la óptima (31).

en comparación con el resultado de este trabajo donde la mejor respuesta fué con la utilización de 0.1 mg/l de GA<sub>3</sub> solo y combinado con otras dos hormonas, las cuales en un momento dado pudieron colaborar para la obtención de tales respuestas; similares resultados fueron observados en las combinaciones realizadas entre GA<sub>3</sub>, AIA (Acido indolacético) y Cinetina con callos de tabaco (47).

Con respecto a la Tiamina pudo esta contribuir al desarrollo de los callos en el Tratamiento II (Cuadro 7) donde no se utilizaron el 6BAP y IBA; esta vitamina incrementa el desarrollo del callo como se observó en callos de tabaco donde la mayor respuesta fué con 0.4 mg/l (31), y en el medio revisado Murashige y Skoog se sugiere una concentración de 0.1 mg/l (47), siendo la mejor concentración para el callo híbrido de este trabajo 0.2 mg/l. Se ha reportado además que esta vitamina es un factor muy importante para el crecimiento de embriones, raíces (50), cultivo de células y órganos (23). Cabe mencionar que el Myoinositol se encuentra íntimamente relacionado con la Tiamina pues este azúcar también contribuye para el mejor desarrollo de los callos, combinados han contribuído a una gran proliferación de callos de tabaco (31); por tal razón estos dos elementos se conservaron sin diluir, así pudo haber existido una interacción entre la Tiamina, el Myoinositol y el GA<sub>3</sub> en el tratamiento donde se obtuvo la mejor respuesta.

Cultivo celular.- Considerando que la mayor parte de las células de los callos híbridos se encontraban en senescencia, se pensó en obtener un cultivo celular con el fin de regene-

rarlas, por tal razón fueron dispersados los callos híbridos y basado en los resultados obtenidos en el Cuadro 7 se elaboró el Cuadro 10 ampliándose el rango hormonal; estas combinaciones hormonales no favorecieron el desarrollo ni la diferenciación de los callos híbridos, por lo cual se realizaron observaciones microscópicas encontrándose solamente en un tratamiento (A) células en división las cuales fueron muy escasas y aisladas; puede ser que esta división haya sido influenciada por el uso del  $GA_3$  y la Tiamina.

Se ha relacionado el tamaño y naturaleza de los agregados con la composición del medio particularmente del tipo y concentración de las hormonas de crecimiento presentes (13), sin embargo, los agregados celulares observados en los tratamientos fueron todos de similar tamaño y forma además de no observarse ninguna estructura celular, lo cual nos podría indicar que eran células muertas. En cuanto a las células alargadas observadas en el tratamiento E, a esta forma celular se le ha relacionado con senescencia y presencia de nitrógeno reducido como se mencionará más adelante. Es de importancia hacer notar que estos tratamientos fueron conservados en obscuridad dado que se reporta estimulación en el crecimiento de la raíz cuando el  $GA_3$  se encuentra en obscuridad, ya que tiene la capacidad de substituir a la luz (49).

La baja disociación observada de los callos híbridos -- aún cuando fueron dispersados en un mortero, puede ser relacionada con la composición del medio de cultivo, pues existen reportes en los cuales se mencionan al ácido fólico, vitamina  $B_{12}$ , extracto de levadura, agua de coco, 2-4 D., colí

na, ácido ascórbico y otros más que modifican la friabilidad y separación del tejido en determinadas concentraciones ó en su ausencia (64).

Callo nodriza.- El bajo desarrollo de los callos híbridos colocados sobre callos nodrizas, se explicaría por las pobres condiciones en las cuales se encontraban los cultivos en suspensión lo cual repercutió lógicamente en las células que -- conformaban los fragmentos de callos híbridos los cuales fueron incapaces de continuar su división celular. En relación a los callos que alcanzaron un desarrollo deseable y que fueron colocados en medio sólido, la suspensión en su crecimiento puede ser Atribuída a la falta de nutrientes necesarios ó concentraciones hormonales adecuadas para su subsecuente desarrollo, pues se ha visto en clones de caléndula que han -- crecido sobre callo nodriza que al ser transferidos a su medio basal no se desarrollaron, sin embargo, después de 18 meses de probar distintos medios se encontró que se desarrollaban bien en el medio basal de girasol con ANA a una concen--tración de 0.1 mg/l (45)(46).

Embriones somáticos y brotes.- Se ha encontrado en cultivos en suspensión de un gran número de especies (girasol, caléndula, híbridos de tabaco, zanahoria, etc.) células de tama--ños y formas variadas (46)(61)(63)(65), como las observadas en los tratamientos del Cuadro 11, éstas son relacionadas -- con combinaciones de concentraciones hormonales (13) y cam--bios debido a la composición del medio de cultivo, grado de senescencia y grado de variación citológica. Como se pudo -- apreciar en la mayoría de los tratamientos se observaron cé-

lulas alargadas a las cuales se les ha relacionado con senescencia, bajo potencial embriogénico y poliploidia (63).

A la falta de diferenciación (embriogénesis y organogénesis), se ha mencionado que la formación de proembriones en ciertas especies depende de la rápida división celular dada por la presencia de nitrógeno reducido el cual juega un papel muy importante en este proceso y además evitando la producción de células alargadas (18). Como se puede notar se ha relacionado a las células alargadas con senescencia y concentración de nitrógeno reducido, esto a su vez, se puede relacionar con los resultados obtenidos en los tratamientos prueba y testigo. En el primero de ellos se considera que lo que más influyó a la falta de respuesta fué el grado de senescencia y en el segundo el nitrógeno reducido; sin embargo, - cabe mencionar que en embriones maduros de Carica papaya L. también se encontró que el nitrógeno es de vital importancia en el crecimiento de ellos, diluido a la mitad con todos -- los componentes del medio (17), así posiblemente para callos de embriones híbridos inmaduros los requerimientos de nitrógeno y otros elementos sean mayores; por lo tanto las distintas respuestas de los cultivos pueden ser controladas por -- manipulación de los componentes del medio.

Se menciona que el callo de Carica papaya L. es heterogéneo en origen y sus células por lo tanto presentan diferentes niveles de ploidia (32). Así al haberse obtenido los callos híbridos se lograron nuevas combinaciones genéticas las cuales pudieron haber repercutido en las respuestas de los -- anteriores en los diferentes medios de cultivo. Todos los re

sultados obtenidos nos podrían confirmar la heterogeneidad - genética e inestabilidad de los callos híbridos utilizados - esto podrá ser confirmado por la observación cromosómica.

## C O N C L U S I O N E S

- Se estableció que la combinación 6BAP-IBA es la adecuada para el desarrollo de los callos híbridos formados a partir de embriones inmaduros.
- El carbón activado contribuyó en la absorción de alguna/s sustancia/s presente/s en los callos híbridos evitando su oxidación y ayudando en su crecimiento.
- La técnica adecuada para la obtención y recuperación de clones de callos híbridos procedentes de callos híbridos en senescencia corresponde al cultivo celular.
- Dentro del cultivo celular las hormonas de crecimiento vegetal y las concentraciones adecuadas para el desarrollo de clones de callos híbridos corresponden a 0.1 mg/l de GA<sub>3</sub> con 0.2 mg/l de Tiamina y 0.1 mg/l - 0.5 mg/l - 0.01 mg/l - 0.2 mg/l (GA<sub>3</sub>-6BAP-IBA-Tiamina respectivamente).
- La utilización de callos nodrizas se considera un buen sistema para el crecimiento de clones de callos híbridos.
- La senescencia de los callos híbridos fué la principal causa por la cual se observaron respuestas pobres en el desarrollo y al igual en la falta de respuestas esperadas (diferenciación); por último, los niveles de ploidia y las concentraciones de los componentes del medio pudieron contribuir a los resultados obtenidos.

## ANEXO 1. Producción de papaya del Estado de Veracruz.

(Boletín mensual 1970-1972-76; Anuario estadístico  
1977-80).

<u>Año</u>	<u>Superficie cultivada</u> (Ha)	<u>Producción</u> (Ton)
1970	2,300	62,100
1972	4,380	93,670
1973	5,103	97,334
1974	5,923	97,179
1975	5,999	166,254
1976	6,050	163,083
1977	6,538	186,433
1978	6,585	175,979
1979	5,050	99,132
1980	4,225	81,967

ANEXO 2. Producción nacional de papaya durante el año de ---  
1978. (Anuario estadístico, 1978).

<u>Estado</u>	<u>Superficie cultivada</u> (Ha)	<u>Producción</u> (Ton)
Campeche	45	1,860
Colima	164	4,164
Chiapas	87	1,348
Guerrero	1,674	28,468
Jalisco	635	18,350
México	45	825
Michoacán	306	4,695
Morelos	47	568
Nayarit	550	11,000
Nuevo León	150	1,680

Oaxaca	245	13,059
Puebla	6	90
Quintana Roo	2	5
San Luis Potosí	150	2,700
Sinaloa	310	9,300
Sonora	6	135
Tabasco	276	5,520
Tamaulipas	20	600
Veracruz	6,585	175,979
Yucatán	<u>93</u>	<u>4,594</u>
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS	11,396	284,940

ANEXO 3. Enzimas del látex de la papaya.

<u>Enzima</u>	<u>Peso molecular</u>	<u>Punto isoeléctrico</u>	<u>Concent.</u>
Papaína	21,000	8.75	10%
Quimopapaína	36,000	10.1	45%
Lisozima	25,000	10.5	20%

ANEXO 4. Valor nutritivo de la papaya (por 100gr de pulpa).

Calorías	25.0 g
Proteínas	0.5 g
Crasas	0.1 g
Calcio	23.0 mg
Carbohidratos	6.2 g
Hierro	0.46 mg
Fósforo	12.00 mg
Tiamina	0.05 mg

Rivoflavina	0.04 mg
Niacina	0.3 mg
Acido ascórbico	48.0 mg
Retinol	22.2 mg

ANEXO 5. Enfermedades de la papaya que afectan su producción.

MICOSIS

Enfermedad	Agente causal	Partes afectadas	Control
Antracnosis	<u>Colletotrichum gloeosporioides</u>	Fruto maduro; en menor grado peciolos de las hojas inferiores.	Dithano M-45, aspersion a intervalos de 10 días.
Cenicilla	<u>Phytophthora palmivora</u>	Parte terrestre de la planta y pudrición de la raíz.	Sulfato de cobre básico ó remoción y destrucción inmediata de las plantas infectadas.
Cenicilla polvorienta	<u>Oidium caricae</u>	Superficie inferior de las hojas.	Dithano M-45 ó aplicación de soluciones de sulfuro de 5 a 6 libras por 100 galones de agua.
Mancha negra de la papaya	<u>Cercospora papayae</u>	Hojas y frutos.	Dithano M-45, aspersion.
Pudrición del fruto por Rhizopus	<u>Rhizopus stolonifer</u>	Fruto maduro dañado.	Lavado del fruto con agua caliente durante 20 minutos.
Pudrición del pedúnculo	<u>Ascochyta sp.</u>	Pedúnculo y fruto.	Corte del pedúnculo.
BACTERIOSIS			
Mancha de la hoja.	<u>Pseudomonas carica-papayae</u>	Hoja.	No se ha establecido.
Necrosis bacteriana	<u>Bacillus papayae</u>	Principalmente la hoja.	Eliminación de las partes afectadas.

ANEXO 6. Medio Murashige y Skoog modificado por Gutiérrez y  
Rojkind (17).

Macroelementos (mM)

$\text{NH}_4\text{NO}_3$	10.3
$\text{KNO}_3$	9.5
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.75
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.63
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.05
$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	0.05

Microelementos ( $\mu\text{M}$ )

$\text{H}_3\text{BO}_3$	50.0
$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	50.0
$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	18.0
KI	2.5
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.5
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.050
$\text{CoCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.050

Compuestos orgánicos

Myoinositol	50.0
Rivoflavina	0.05
Glicina	1.5
Nicotina	0.25
Tiamina	0.05
Sacarosa (g/l)	15.0
Agar (g/l)	6.0

ANEXO 7. Hibridaciones interespecíficas del Género Carica.

Ricelli y Micheletti (54), obtuvieron una plántula tetraploide de Carica monoica tratada con colchicina al 0.5%, describieron morfológicamente las diferencias entre una --- planta diploide y una tetraploide.

Otros trabajos se han realizado para la obtención de híbridos mediante la cruce de diferentes especies como son las siguientes:

Jiménez (26), realizó las siguientes cruzas:

Carica cauliflora X Carica pubescens

C. cauliflora X C. monoica

C. monoica X C. cauliflora

C. monoica X C. microcarpa

C. monoica X C. pubescens

C. goudotiana X C. monoica

C. goudotiana X C. pubescens

C. papaya X C. cauliflora

C. papaya X C. monoica

C. cauliflora X C. papaya

Logrando los híbridos de los últimos cuatro casos, por medio del cultivo de embriones. No indica como lo hizo ni --- cuantas plántulas formaron. Obtuvo resultados negativos en las siguientes cruzas:

C. papaya X C. monoica

C. cauliflora X C. goudotiana

C. goudotiana X C. cauliflora

C. monoica X C. papaya

C. goudotiana X C. papaya

C. papaya X C. goudotiana

Se menciona a C. papaya como la de menor afinidad dentro de este grupo, siguiendola C. goudotiana.

Horovitz y Jiménez (22), realizaron las siguientes cru-  
zas obteniendo tanto resultados negativos como positivos:

Polinizaciones negativas	<u>C. parviflora</u> X <u>C. spp</u>
Semillas mulas o vestigiales	<u>Jacaratia spinosa</u> X <u>C. spp</u>
Falta de embrión	<u>C. papaya</u> X <u>spp</u>
Falta de endospermo	<u>C. spp</u> X <u>C. goudotiana</u>
Endospermo deficiente	<u>C. monoica</u> X <u>C. stipulata</u>
Semillas completas	<u>C. monoica</u> X <u>C. pubescens</u> y recip. <u>C. stipulata</u> X <u>C. pubescens</u> y recip. <u>C. pubescens</u> X <u>C. microcarpa</u> y recip. <u>C. stipulata</u> X <u>C. monoica</u> y recip. <u>C. horovitziana</u> X <u>C. cauliflora</u> y recip.

Mekako y Nakasone (39), realizaron cru-  
zas interespecí-  
ficas entre 5 especies del género Carica obteniendo los si-  
guientes resultados:

Polinizaciones	Amarre de frutos %	Viabilidad de las sem.
<u>C. goudotiana</u> (AR)	43.3 12.6	+++
<u>C. goudotiana</u> (B)	46.4 16.1	++
<u>C. goudotiana</u> (AGxAR)	25.3 15.1	+++
<u>C. goudotiana</u> (ARxAG)	24.3 15.2	+++
<u>C. pennata</u>	94.3 7.2	+
<u>C. cauliflora</u> (A)	88.0 10.0	+++
<u>C. cauliflora</u> (BxA)	50.0 16.7	+
<u>C. monoica</u> (por sí misma)	57.6 13.5	+++
<u>C. parviflora</u>	86.4 0.0	+
<u>C. papaya</u> (Línea 26 por sí misma)	85.7 14.8	+++

Rangos de viabilidad de la semilla: +++bueno (70%); ++ regu

lar (40-69%); + pobre (40%). A y B se refieren a las especies obtenidas de diferentes fuentes. (R) y (G) se refieren al tipo de pigmentación del tallo (Red) - (Green).

Los mismos autores (40), realizaron las siguientes cru-  
zas interespecíficas obteniendo los siguientes resultados:

Frutos con semillas no viables:	% de amarre de frutos	
<u>C. pennata</u> X <u>C. monoica</u>	38.1	14.7
<u>C. cauliflora</u> X <u>C. goudotiana</u>	82.0	10.6
<u>C. goudotiana</u> X <u>C. pennata</u>	15.9	10.8
<u>C. papaya</u> X <u>C. cauliflora</u>	63.2	15.3
<u>C. papaya</u> X <u>C. parviflora</u>	50.0	17.9
<u>C. papaya</u> X <u>C. monoica</u>	26.7	12.9
<u>C. papaya</u> X <u>C. goudotiana</u>	66.7	15.4
<u>C. cauliflora</u> X <u>C. parviflora</u>	86.9	8.5
<u>C. cauliflora</u> X <u>C. papaya</u>	66.7	21.8
<u>C. monoica</u> X <u>C. parviflora</u>	28.6	16.7

Cruzas que produjeron frutos con semillas viables:

	% de amarre de f.		Viab. sem.
<u>C. monoica</u> X <u>C. cauliflora</u> (A)	40.0	12.4	++
<u>C. cauliflora</u> (A) X <u>C. monoica</u>	89.2	7.5	++
<u>C. cauliflora</u> (B) X <u>C. monoica</u>	60.0	14.3	++
<u>C. goudotiana</u> (A) X <u>C. monoica</u>	17.8	8.8	+
<u>C. monoica</u> X <u>C. goudotiana</u> (A)	20.0	12.4	y
<u>C. goudotiana</u> (B) X <u>C. monoica</u>	60.0	14.3	++
<u>C. monoica</u> X <u>C. goudotiana</u> (B)	20.0	17.5	y
<u>C. pennata</u> X <u>C. cauliflora</u> (A)	45.5	12.0	y
<u>C. cauliflora</u> (A) X <u>C. pennata</u>	41.7	11.4	+
<u>C. cauliflora</u> (B) X <u>C. pennata</u>	100.0	0.0	+
<u>C. goudotiana</u> (A) X <u>C. parviflora</u>	23.8	9.3	y
<u>C. parviflora</u> X <u>C. goudotiana</u> (A)	44.8	12.8	+

Rangos de viabilidad de la semilla: +++buena (70%); ++regular (40-69%); +pobre (40%); y Semillas no viables  
 Polinizaciones en las que no hubo amarre de frutos:

- C. pennata X C. goudotiana (A)R  
C. pennata X C. papaya (Línea 5B)  
C. goudotiana (A)R X C. papaya (Línea 5B)  
C. monoica X C. papaya (Línea 26)  
C. parviflora X C. monoica  
C. parviflora X C. pennata  
C. parviflora X C. cauliflora (A)  
C. parviflora X C. goudotiana (B)  
C. monoica X C. pennata  
C. cauliflora (A) X C. goudotiana (B)  
C. papaya (Línea 5B) X C. parviflora  
C. papaya (Línea 5B) X C. monoica

Otro trabajo realizado por Mekako y Nakasone (41), fué en el que realizaron cruzas interespecíficas entre 5 especies del género Carica con el fin de determinar la herencia del sexo y comprobar las dos hipótesis propuestas por Hofmyer y Storey. Algunos de los resultados obtenidos son los siguientes:

S. parental		P. parental		Monoicas	Estamin.	Pistil.
<u>C. cauliflora</u>	X	<u>C. monoica</u>		24	0	0
<u>C. monoica</u>	X	<u>C. cauliflora</u>		23	16	0
<u>C. cauliflora</u>	X	<u>C. monoica</u>		27	0	0
<u>C. goudotiana</u>	X	<u>C. monoica</u>		18	0	0
<u>C. goudotiana</u>	X	<u>C. monoica</u>		10	0	0

Tipos de sexo en la F<sub>1</sub> en cruzas entre C. monoica y plantas de algunas especies dioicas.

Cruzas entre *C. monoica* como polen parental y plantas - pistiladas de Carica dioicas, producen en la  $F_1$  monoicas y - en la  $F_2$  3 monoicas: 1 pistilada. Cuando *C. cauliflora* es -- usada como polen parental con *C. monoica*, la  $F_1$  es 1 estami- nada: 1 monoica. Retrocruzando plantas monoicas  $F_1$  de esta - cruza con plantas estaminadas de *C. cauliflora* producen 1 mo- noica: 1 pistilada: 2 estaminadas.

Jagannatan y Mascarenhas (25), reportaron la obtención de híbridos de *C. papaya* X *C. cauliflora*. Indicaron que el 75% de las plántulas de la generación  $F_2$  son resistentes al virus; sin embargo no se describe la metodología seguida.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Alonso, O.R.E. 1953. Observaciones sobre el cultivo y mejoramiento de la fruta bomba (Carica papaya L.). Cuba. 67:5-10
- 2.- Anónimo. 1972. La papaya. Aspectos de su cultivo y --- aprovechamiento. CONAFRUT, México. Serie de divulga--- ción. Folleto No. 5.
- 3.- Anagnostakis, L.S. 1977. In vitro culture of immature embryos of American Elm. Hort. Sci. 12(1):44.
- 4.- Arora, I.K. and R.N. Singh. 1978. Callus initiation in the propagation of papaya (Carica papaya L.) in vitro. J. of Sci. 53(2):151
- 5.- \_\_\_\_\_ 1978. Growth hormones and in vi--- callus formation of papaya. Sci. Hort. 8(4):357-361.
- 6.- \_\_\_\_\_ 1978. In vitro plant regeneration in papaya. Current Science. 47(22):867-868.
- 7.- Badillo, M.V. 1971. Monografía de la Familia Caricaceae. Univ. Central de Venezuela. Fac. de Agronomía. Maracay. 222p.p.
- 8.- Chandler, W.H. 1962. El papayo y el árbol de la pasión. En: Frutales de hojas perennes. UTEMA:366-385
- 9.- Cook, A.A. 1975. Diseases of tropical and subtropical -- fruits and nuts. Hafner Press. New York:275-283.
- 10.- Damiano, C. 1978. Il carbone attivo nella coltura "in- vitro" della fragola. Grupo Giornalistico Edagricole; Estratto de Frutticoltura. Anno XL-n.5 V/49-V/50.

- 11.- Del Campo, N.R.E. 1980. Estudio físico-químico de diez fenotipos criollos de Carica papaya L. de la región -- central del Estado de Veracruz. Tesis profesional. --- Univ. Veracruzana. 61p.p.
- 12.- Drew, R.L.K. 1979. Effect of activated charcoal on embryogenesis and regeneration of plantlets from suspension cultures of carrot (Daucus carota L.). Ann. Bot. 44:387-389.
- 13.- Earle, E.D. and J.G. Torrey. 1965. Morphogenesis in -- cell colonies grown from Convolvulus cell suspensions plated on synthetic media. Amer. Jour. Bot. 52(9):891-899.
- 14.- Foster, L.T. 1943. Morphological and cytological studies on Carica papaya L. Bot. Gaz. 105:116-126.
- 15.- Fridborg, G. and T. Eriksson. 1975. Effects of activated charcoal on growth and morphogenesis in cell cultures. Physiol. Plant. 34:306-308.
- 16.- \_\_\_\_\_ y col. 1978. The effect of activated charcoal on tissue cultures: adsorption of metabolites --- inhibiting morphogenesis. Physiol. Plant. 43:104-108.
- 17.- Gutiérrez, M.M.G. 1982. Cultivo in vitro de embriones maduros de Carica papaya L. U.A.E.M. Toluca 102p.p.
- 18.- Halperin, W. 1966. Alternative morphogenetic events in cell suspensions. Amer. J. Bot. 53(5):443-453.
- 19.- Hanning, E. 1904. Zur physiologie pflanzenlicher embryonen. I. Über die kultur von Cruciferen-Embryonen - ausser-halbes Embryo sacks. Bot. Zeit. 62:45-80.

- 20.- Hernández, R.A.L. 1981. Estudio comparativo de carbohidratos de semilla de papaya (Carica papaya L.) tipos - Cera y Mamey. Tesis Profesional. ENEP Iztacala UNAM -- 51p.p.
- 21.- Higa, S.Y. and Namba. 1971. Vectors of the papaya mosaic virus in Hawaii. Pros. Hawaiian Entomol. Soc. 21: 93-96.
- 22.- Horovitz, S. y H. Jiménez. 1967. Cruzamientos interespecíficos en Caricaceas y sus implicaciones fitotécnicas. Agron. Trop. 17:323-343.
- 23.- Huang, L. and T. Murashige. \_\_\_\_ Plant tissue culture media: Major constituents their preparation and some applications. Dep. of plant Sci. Univ. Calif.
- 24.- Ivancheva, G.T. et al. 1967. Las enfermedades virosas de la Fruta Bomba (Carica papaya L.) en Cuba. Agricultura. Año 1(2). Academia de Ciencias en Cuba.
- 25.- Jagannatan, V. and A.F. Mascarenhas. 1980. Culture of immature embryos of hybrids. Newletter. International Association for plant tissue culture. No.32:13
- 26.- Jiménez. H. y S. Horovitz. 1958. Cruzabilidad entre especies de Carica. Agron. Trop. 7(4):207-215.
- 27.- Krochmal, A. 1978. Algunas enfermedades comunes de la papaya. La Hacienda 36(46):50-53.
- 28.- Laibach, F. 1925. Das taubwerden von Bastardsamen und Künstliche aufzucht früh absterbender bastard-embryonen. Zeits. Bot. 17:417-459.

- 29.- Lana, A.F. 1980. Transmission and properties of virus isolated from *Carica papaya* in Nigeria. J. Hort. Sci. 55(2):191-197.
- 30.- Lawrence, M.H.G. 1971. Taxonomy of vascular plants. -- The MacMillan Company. New York.
- 31.- Linsmaier, E.M. and F. Skoog. 1965. Organic growth factor requirement of tobacco tissue culture. Physiol. -- Plant. 18:100-127.
- 32.- Litz, R.E. and R.A. Conover. 1977. Tissue culture propagation of papaya. Proc. Fla. St. Hort. Soc. 90: 245-246.
- 33.- \_\_\_\_\_ 1978. In vitro propagation of papaya. Hort. Sci. 13(3):241-242.
- 34.- \_\_\_\_\_ 1980. Somatic embryogenesis in cell cultures of *Carica stipulata*. Hort. Sci. 15(6):733-735.
- 35.- López, P.O. 1972. Identificación de las virosis de la lechosa (*Carica papaya* L.) en Venezuela. Fac. Agron. 6(4):5-36.
- 36.- Luna, R.B.S. 1982. Propagación "in vitro" de la Orquídea *Laelia anceps* var. alba. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias. U.N.A.M. México. 108p.p.
- 37.- Mandujano, B.R. 1981. Apuntes de papaya para el curso de especialización frutícola de postlicenciatura. ---- CEEIF. CONAFRUT.
- 38.- Mauney, J.R. 1961. The culture in vitro of immature cotton embryos. Bot. Gaz. 122:205-209.

- 39.- Mekako, H.U. and H.Y. Nakasone. 1975. Floral development and compatibility studies of Carica species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100(2):145-148.
- 40.- \_\_\_\_\_ 1975. Interespecific hibridization among 6 Carica species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100(3):237-242.
- 41.- \_\_\_\_\_ 1977. Sex inheritance in some Carica species. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102 (1):42-45.
- 42.- Micheletti, D. de Z. 1958. Tetraploidia en Carica papa ya y Carica cauliflora. Agron. Trop. 8(2):67-75.
- 43.- Moreno, N.P. 1980. Caricaceae. Flora de Veracruz. Fascículo 10. INISRB. Xalapa, Ver.
- 44.- Mosqueda, V.R. 1981. Problemática de la fruticultura en perennifolios. Conferencia, CONAFRUT. Marzo 24.
- 45.- Muir, W.H., A.C.H. Hildebrandt and A.J. Riker. 1954. Plant tissue cultures produced from single isolated cells. Science. 119:877-878.
- 46.- \_\_\_\_\_ 1958. The preparation, isolation and growth in culture of single cells from higher plants. Amer. Jour. of Bot. 45:589-596.
- 47.- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and Bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15:473-497.

- 48.- Murashige, T. and R. Nakano. 1965. Morphogenetic behavior of tobacco tissue cultures and implication of --- plant senescence. Am. J. Bot. 52:819.
- 49.- \_\_\_\_\_ 1974. Plant propagation through tissue - culture. Ann. Rev. Plant. Physiol. 25:135-166.
- 50.- Overbeek, K.J. 1942. Cultivation in vitro of small --- Datura embryos. Amer. Jour. Bot. 29:472-477.
- 51.- Oviedo, G.H.De. 1535. Historia natural y general de -- las Indias. Primera parte. Libro 8 Cap. VIII:322-342. España.
- 52.- Quezada, N. 1981. Tesis en publicación. Universidad -- Autónoma de Nayarit.
- 53.- Rappaport, J. 1954. In vitro culture of plant embryos and factors controlling their growth. The Bot. Rev. -- 20(4):201-225.
- 54.- Riccelli, M. y D. Micheletti de Z. 1959. Tetraploidia en Carica monoica Desf. Agron. Trop. 13(1):23-31.
- 55.- Rojkind, M.C., N. Quezada y M.G. Gutiérrez. 1981. Cultivo in vitro de embriones de Carica papaya, Carica -- cauliflora y sus híbridos. Fourth International Con--- gress of tissue culture. Tokio, Japón. Julio 1982. En prensa para publicación.
- 56.- Roth, I. y E.I. Clausnitzer. 1973. Desarrollo y anatomía de Carica papaya L. Acta Bot. Ven. 7:187 206.
- 57.- Schopfer, W.H. 1949. Plants and vitamins. Waltham, Mass. U.S.A.

- 58.- Sharp, W.R. et al. 1979. Plant cell and tissue culture: Principles and applications. Ohio State University --- Press. pp.179-202.
- 59.- Skirvin, R.M. 1978. Natural and induced variation in tissue culture. Euphytica. 27:241-266.
- 60.- Stambaugh, S.U. A new hybrid papaya backcross blue Solo on Solo. Fla. St. Hort. Sci. Proc. 68:282-284.
- 61.- Steward, F.C. et al. 1964. Growth and development of - cultured plant cells. Science. 143:20-27.
- 62.- Storey, G.E. and R.S. Halliwell. 1969. Association of amycoplasmalike organism with the bunchy top disease - of papaya. Phytopatology. 59:1336 1337.
- 63.- Street, H.E. 1977. Plant tissue and cell culture. Botanical Monographs. Vol.11. University California Press. California. pp.31-101.
- 64.- Symposia of the Society for experimental Biology. 1963. Cambridge University Press. No. XVII. pp.234-284.
- 65.- Thomas, E. and M. Davey. 1975. From single cells to -- plants. The Wykeham Science Series. London.
- 66.- Valencia, S.P.R. 1983. Micropropagación "in vitro" de embriones de Carica papaya L. Tesis Profesional. Fac. de Ciencias, U.N.A.M. México. 74p.p.
- 67.- Wang, P.J. and L.C. Huang. 1976. Beneficial effects of activated charcoal on plant tissue and orgab cultures. In vitro. 12(13):260-262.

- 68.- Warmke, H.E., E. Cabanillas and H.J. Cruzado. 1954. A new interespecific hybrid in the Genus Carica. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 64:284-288.
- 69.- Yie, S.T. and I. Liaw. 1977. Plant regeneration from - shoot tips and callus of papaya. In vitro. 13(9):564-568.