Rev. Agricultura Tropical Vol. 4 No. 2:38-47, 2018
ISSN on line: 2517-9292

ACLIMATIZACIÓN DE PLANTAS PRODUCIDAS *IN VITRO* DE PAPAYA, var. 'MARADOL ROJA'

Víctor R. Medero Vega*, Yanelis Bravo Corrales, Milagros Basail Pérez, Aymé Rayas Cabrera, Jorge López Torres, Arletys Santos Pino, Daniel Rodríguez Pérez, Yoel Beovides García, Marlenis Torres Delgado, Wilfredo Caballero Álvarez y Carmen Pons Pérez.
Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT). Apartado 6, Santo Domingo, CP: 53 000, Villa Clara, Cuba.
**Autor para la correspondencia: vicedir.biotec@inivit.cu.*

RESUMEN
En papaya (*Carica papaya* L.), se dispone de protocolos para propagación masiva *in vitro*, tanto por vía organogénica como por vía embriogénica. Sin embargo, la principal limitante de estos protocolos radica en las grandes pérdidas de las plantas obtenidas *in vitro* durante la fase de aclimatización. La investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del INIVIT, con el objetivo de establecer una metodología para aclimatización de plantas producidas *in vitro* de la variedad 'Maradol Roja'. Se estudió el efecto de las cámaras húmedas sobre el porcentaje de supervivencia, logrado con bolsas de nylon transparente. Además, se evaluó la influencia de la altura de las plantas producidas *in vitro* y el efecto del tiempo de inmersión en una solución de ácido indol butírico (AIB) a una concentración de 2 $mg.L^{-1}$, sobre la supervivencia. Como resultado se obtuvo una metodología de aclimatización que permitió incrementar los porcentajes de supervivencia de 7,1 % con el método tradicional hasta un 58,5 % cuando se utilizó el cobertor diseñado con una bolsa de nylon transparente y combinado con la altura de la planta producida *in vitro*. Se alcanzó un 56,6 % de supervivencia cuando se utilizó un tiempo de 25 minutos de inmersión en AIB, con diferencias estadísticas significativas respecto al tratamiento control. En general se determinó que, para logar mayor éxito en la aclimatización de las plantas producidas *in vitro* en este cultivo, resulta fundamental mantener una alta humedad relativa durante los primeros siete a doce días después del trasplante a condiciones *ex vitro*.
Palabras clave: aclimatización, *Carica papaya*, micropropagación.

ACCLIMATIZATION OF PLANTS PRODUCED *IN VITRO* OF PAPAYA, var. 'MARADOL ROJA'

ABSTRACT
In papaya (*Carica papaya* L.), protocols for mass *in vitro* propagation are available, both organogenic and embryogenic. However, the main limitation of these protocols lies in the large losses of plants obtained *in vitro* during the acclimatization phase. The research was carried out in the Biotechnology Laboratory of INIVIT, with the aim of establishing a methodology for acclimatization of plants produced *in vitro* of the variety 'Maradol Roja'. The effect of the humid chambers was studied on the percentage of survival, achieved with transparent nylon bags. In addition, the influence of the caliber of the plants produced *in vitro* and the effect of the immersion time in a solution of Indole

Butyric Acid (IBA) at a concentration of 2 mg.L^{-1} on survival were evaluated. As a result, an acclimatization methodology was obtained that allowed to increase the percentage of survival from 7,1 % with the traditional method up to 58,5 % when the cover designed with a transparent nylon bag and combined with the caliber of the plant was used produced *in vitro*. A 56,6 % survival was achieved when a time of 25 minutes of immersion in IBA was used, with significant statistical differences with respect to the control treatment. In general, it was determined that, in order to achieve greater success in the acclimatization of the plants produced *in vitro* in this crop, it is fundamental to maintain a high relative humidity during the first seven to twelve days after the transplant to *ex vitro* conditions.
Keywords: acclimatization, *Carica papaya*, micropropagation.

INTRODUCCIÓN

En Cuba, los frutales constituyen cultivos de gran importancia y dentro de estos la papaya (*Carica papaya* L.) es una de las especies de gran interés para la alimentación humana, motivado por su alto contenido de proteínas y vitaminas en el fruto (Lima, 1991). Se cultiva a escala comercial desde 1906, su fruto es altamente apreciado por su sabor agradable, así como su uso industrial para compotas, mermeladas, repostería y farmacéutica (MINAG, 2018).

Su producción mundial ha estado estimada en millones de toneladas, a pesar de las dificultades congénitas de la especie (Quiot y Dowinel, 1990). La papaya presenta varios problemas fitosanitarios, provocados principalmente por enfermedades virales, fúngicas y procariotas, que causan el bajo rendimiento y afectan la calidad de los frutos (García, 2012); así como, la gran complejidad y diversidad sexual que presenta al ser propagado por semilla botánica, todo lo cual hace que sea afectada la calidad del fruto y su cultivo intensivo.

Según Roque y Ardisana (2006), para mantener en campo este cultivo se necesita de un suministro constante de semillas certificadas, pero este se ve limitado por la poca homogeneidad de plantas con frutos elongatas para la extracción de la semilla.

Debido a lo anterior, se hace necesario buscar nuevas alternativas para la propagación de este cultivo, que posibilite la multiplicación de plantas *plus* hermafroditas.

Al respecto, el cultivo de tejidos posibilita la propagación masiva de plantas por organogénesis (Baca, 2002; Gallardo *et al*., 2002; García *et al*., 2003; Posada, 2005; Roque, 2006; Medero *et al.*, 2011) y embriogénesis somática (Del Sol, 2001; Posada *et al.*, 2007; Posada *et al.*, 2017), así como el rescate de embriones cigóticos de plantas *plus* seleccionadas (Bravo, 2012; Medero *et al.*, 2013), lo cual constituye una alternativa para la multiplicación de plantas hermafroditas. Sin embargo, la principal limitante de estos protocolos radica en las grandes pérdidas de las plantas obtenidas *in vitro* durante la fase de aclimatización o transferencia a condiciones *ex vitro* (Patel *et al*., 2010; Wu *et al*., 2012; Posada *et al.*, 2015; Setargie *et al.*, 2015).

Las técnicas más eficaces de aclimatización son las que van encaminadas a lograr gradualmente menos humedad relativa, más luz y crecimiento autotrófico de las plantas micropropagadas.

Lo fundamental durante esta fase es lograr la supervivencia y el inicio del crecimiento de las plantas, ya que se produce un retorno gradual a sus características morfológicas normales, después de las etapas *in vitro*. La eficiencia en la aclimatización es

trascendental para la propagación comercial, pues del resultado de esta etapa dependerá en gran medida la eficiencia total del proceso y la calidad final del material de plantación producido.

En el INIVIT se trabaja en la propagación masiva *in vitro* de plantas hermafroditas de papaya por técnicas biotecnológicas desde hace varios años. Sin embargo, dentro de la metodología desarrollada existen dificultades durante la fase de aclimatización ya que se pierde más del 80 % de las plantas producidas *in vitro*, por lo que es necesario incrementar los porcentajes de supervivencia de las plántulas producidas para lograr su producción a escala comercial.

La presente investigación se realizó con la variedad de papaya 'Maradol Roja' para establecer una metodología de aclimatización que garantice incrementar los porcentajes de supervivencia de las plantas producidas *in vitro*, con los objetivos siguientes:

- Definir la influencia de las cámaras húmedas sobre la aclimatización de las plantas producidas *in vitro*.
- Evaluar la influencia de la altura de las plantas producidas *in vitro* sobre el porcentaje de sobrevivencia.
- Determinar el efecto del tiempo de inmersión de las plantas en ácido indol butírico (AIB) sobre el porcentaje de sobrevivencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se desarrolló en el área de aclimatización del laboratorio de Biotecnología Vegetal del Instituto de Investigaciones de Viandas Tropicales (INIVIT), ubicado en el municipio Santo Domingo, provincia Villa Clara, Cuba. Dicho instituto se encuentra situado en los 22° 35' de latitud norte y los 80° 18' de longitud oeste, a 40 metros sobre el nivel del mar (msnm). Desde el punto de vista climático, se caracteriza por una temperatura media anual de 24,4 °C, una humedad relativa del 80 % y un valor medio anual de precipitaciones de 1374,9 mm.

Se utilizó la variedad de papaya 'Maradol Roja', la cual se caracteriza por una alta productividad y excelentes características del fruto, tales como: sabor, forma, color, consistencia y factibilidad para su transportación. Además, es una planta de porte bajo, lo cual facilita su control fitosanitario y cosecha.

El stock de plantas donantes *in vitro* fue establecido, según la metodología descrita por Bravo, 2012 y Medero *et al.*, 2013.

Para el cambio de las condiciones *in vitro* a *ex vitro*, las plantas se extrajeron de los tubos de cultivo con la ayuda de una pinza, se eliminaron los residuos de medio de cultivo con agua común y se plantaron inmediatamente bajo las distintas condiciones de estudio para evitar la muerte por deshidratación.

Los experimentos se desarrollaron bajo un umbráculo cubierto por una malla plástica (zarán) de color negro, que logra una reducción de la intensidad luminosa del 30 %. El riego se realizó por microaspersión mediante sistema de *microjet* con una frecuencia de tres riegos por día y una duración de tres a cinco minutos cada uno, con lo que se garantizó una humedad relativa del 85 al 90 %. Se utilizaron bandejas de polieturano con 70 orificios de 120 cm^3. Se realizaron estudios sobre diferentes factores que influyen en la supervivencia de las plantas producidas *in vitro*, se experimentó el empleo

de cobertores durante los primeros 15 días de aclimatización, para esto se utilizó una bolsa de nylon transparente que permitió cubrir las bandejas recién plantadas.
Por otra parte, se estudió el efecto de la altura de las plantas producidas *in vitro*, estableciéndose tres categorías:

- Inferior a 2,5 cm.
- Entre 2,5 y 3,9 cm.
- Iguales o superiores a 4 cm.

Se utilizaron tres repeticiones por tratamiento y cada repetición con 70 plantas producidas *in vitro*. A los 15 días de cultivo se evaluó el porcentaje de supervivencia.
También, se realizó un experimento sobre el efecto de la inmersión de las plantas en ácido indol butírico a una concentración de 2,0 $mg.L^{-1}$ con diferentes tiempos (0, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos), con dos repeticiones por tratamiento y 70 plantas producidas *in vitro* en cada repetición. Se evaluó el porcentaje de supervivencia a los 30 días.
Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente mediante análisis de varianza de clasificación simple en el caso de los modelos paramétricos, y la comparación múltiple de medias se realizó según las dócimas de Tukey cuando se encontró homogeneidad de varianza y se aplicó Dunnett´C cuando no hubo homogeneidad de varianza y para las variables discretas. Además, se emplearon los procedimientos no paramétricos de Kruskall-Wallis (análisis de varianza por rangos) y Mann-Whitney (para la comparación de medias de rango). El nivel de significación fijado para todas las pruebas fue del 95 %, o sea $p< 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Respuesta de las plantas obtenidas en la fase de aclimatización

El éxito en la aplicación de un protocolo para la propagación masiva *in vitro* de cualquier cultivo, depende en gran medida los resultados que se obtengan durante la fase de aclimatización de las plantas producidas por esta vía. Por lo tanto, lograr un alto porcentaje de supervivencia es importante para reducir el costo de la producción de las plantas producidas *in vitro*.
Al respecto, en la tabla 1, se presentan los resultados de la aclimatización de plantas producidas *in vitro* de la variedad 'Maradol roja', donde se puede observar que con el empleo del cobertor (cámara húmeda) se incrementan los porcentajes de supervivencia hasta el 42,2 % con relación a un 7,1 % alcanzado con el testigo sin cobertor y con diferencias estadísticas significativas. Por lo tanto, con estos resultados se puede ratificar el criterio de que para este cultivo resulta fundamental mantener una alta humedad relativa durante los primeros siete a diez días después del trasplante y así lograr mayor éxito durante la aclimatización (Fig. 1).

Tabla 1. Influencia del cobertor en la supervivencia de las plantas producidas *in vitro* de papaya en fase de aclimatización.

Tratamientos	Supervivencia (%)	Media de rangos
Con cobertor	42,20	14,00 a
Sin cobertor	7,10	5,00 b

U de Mann-Whitney = 0,00**



Figura 1. Aclimatización de plantas producidas *in vitro* de papaya con el uso del cobertor.

Resultados similares fueron alcanzados por Gallardo *et al.* (2002), quienes para conseguir este propósito cubrieron individualmente las plantas producidas *in vitro*, del híbrido cubano de papaya 'IBP 42-99', con frascos de vidrio (250 mL) durante cuatro semanas y con ello garantizaron que durante los períodos de riego solo se humedeciera el sustrato y se mantuviera la humedad con lo cual aumentaron los porcentajes de supervivencia de las plántulas. Sin embargo, el método propuesto en este trabajo es más sencillo y de mayor aplicabilidad en condiciones de producción.

Los resultados obtenidos en este experimento demuestran que los primeros 15 o 20 días representan el período crítico en el proceso de aclimatización de plantas propagadas *in vitro* para este cultivo. Durante este tiempo deben aplicarse todas las medidas posibles que eviten la transpiración descontrolada, que caracteriza al material proveniente de condiciones *in vitro* (Medero, 2006; Paz, 2012), para lo cual es determinante lograr que se mantenga una alta humedad relativa y garantizar su reducción gradual para favorecer la formación, adaptación y funcionalidad de las estructuras involucradas en el control de la relación hídrica y en el incremento de la actividad metabólica conducente al fotoautotrofismo (Desjardins, 1995). Es conocido, que el estrés del trasplante es fundamentalmente por el estrés hídrico, el poco desarrollo de la cera cuticular y estomático lo que provocan la deshidratación de las plantas llevadas a fase de aclimatización (Morán, 2008).

Otro factor estudiado durante la realización del trabajo fue la altura de la planta producida *in vitro*. En la tabla 2, se puede observar que no se encontraron diferencias estadísticas entre las tres variantes estudiadas.

Tabla 2. Efecto de la altura de las plantas producidas *in vitro* en el porcentaje de supervivencia en fase de aclimatización.

Altura de la plantas producidas *in vitro*	**Supervivencia (%)**
1,5-2,4 cm	14,70
2,5-3,9 cm	34,46
Más de 4,0 cm	24,73

KW = 3,34 ns

Sin embargo, cuando se utilizó la combinación de la altura de las plantas producidas *in vitro* y el empleo de cobertor de nylon como cámara húmeda se incrementaron de forma

significativa los porcentajes de supervivencia. En la tabla 3, se puede observar que para los tratamientos con cobertor el resultado fue significativamente superior y se logró hasta un 58,5 % de supervivencia.

Tabla 3. Efecto de la combinación cobertor-altura en la supervivencia de las plantas producidas *in vitro,* en la fase de aclimatización.

Tratamientos	Supervivencia (%)	Media de rangos
Con cobertor-Altura (1,5-2,4 cm)	24,70	11,00 a
Con cobertor-Altura (2,5-3,9 cm)	58,50	17,00 a
Con cobertor-Altura (Más de 4,0 cm)	43,30	14,00 a
Sin cobertor-Altura (1,5-2,4 cm)	4,70	2,83 b
Sin cobertor-Altura (2,5-3,9 cm)	10,43	8,00 b
Sin cobertor-Altura (Más de 4,0 cm)	6,16	4,17 b

KW = 16,23**

En general, se observó que independientemente de las diferencias de la altura de las plantas producidas *in vitro*, no se logró alcanzar diferencias estadísticas entre ellos. Resultados similares han sido obtenidos por Jorge *et al.* (2000), quienes señalaron que el tamaño de la planta inicial no es un factor limitante en la aclimatización, aunque puntualiza que las plantas con mayor tamaño inicial muestran un desarrollo más vigoroso, después de los 45 días de aclimatización.

Posada *et al.,* (2007) obtuvieron resultados similares, cuando transfirieron a la fase de aclimatización plantas con tres centímetros de longitud, a los 60 días habían alcanzado una altura de 10-12 cm y emitieron de 5-7 hojas, por lo que estaban listas para el transplante a condiciones de campo y además demostraron que las plantas con menos de 3,0 cm de altura, aunque sobrevivieron y enraizaron, no se encontraban listas para ser trasferidas a campo a los 60 días de cultivo. Por otra parte, Rodríguez *et al.*, (2009), señaló que las plantas producidas *in vitro* deben ser transferidas a condiciones de casa de cultivo con una longitud mayor de 3,0 cm y la presencia de raíz pivotante lo cual debe tenerse en cuenta como criterio de calidad para una adecuada aclimatización.

Los resultados obtenidos indicaron que es de gran importancia que las plantas *in vitro* tengan un tamaño apropiado para su buen desarrollo durante la fase de aclimatización. La longitud de la planta *in vitro* es particularmente importante cuando se transfieren a la fase de aclimatización, ya que esta fase es considerada como la etapa más crítica en el proceso de propagación *in vitro* de especies como *Carica papaya*. Al respecto, Palhares *et al.* (2004) señalaron que la calidad del material vegetal *in vitro* tiene gran influencia en el porcentaje de supervivencia *ex vitro*.

Según (Martínez *et al*., 2005 y Sosa *et al*., 2009), en plantas aclimatizadas con alturas superiores de 3,0 cm tienen una mayor reserva de nutrientes y órganos más desarrollados, debido fundamentalmente a las características fisiológicas, estructurales y anatómicas que presentan producto del desarrollo *in vitro*. Estos autores señalan que dentro de los principales problemas que presentan las plantas cultivadas *in vitro* es la ineficiente absorción y transporte de agua, debido a una conexión vascular incompleta entre la raíz y el brote.

Por otra parte, Hurtado (2010) señaló que en plantas aclimatizadas de Bambú obtuvo el mejor resultado cuando las plantas producidas *in vitro* alcanzaron una altura mayor de 3,0 cm y se logró un mejor desarrollo morfológico y anatómico de las plántulas.

Respuesta de la inmersión en AIB sobre el enraizamiento ex vitro

Como es conocido durante la etapa de enraizamiento *in vitro*, no todas las plantas emiten raíces y en la base del tallo se forma un callo amorfo. Todo esto incide en que se incremente considerablemente el porcentaje de pérdidas al ser llevadas a fase de aclimatización. Para encontrar una posible solución a esta problemática, se decidió estudiar el efecto por inmersión total de la planta producida *in vitro* en una solución de AIB a una concentración de 2,0 $mg.L^{-1}$. En la tabla 4, se presentan los resultados y se puede apreciar que se alcanzó un 56,66 % de supervivencia de las plantas producidas *in vitro* cuando se utilizó un tiempo de 25 minutos de inmersión en AIB, con diferencias estadísticas significativas respecto al control donde no se realizó la inmersión. Resultados similares fueron obtenidos por Posada *et al.* (2007), quienes concluyeron que una vez obtenidas las plántulas con tres o más hojas y 3 cm de altura (provenientes del medio de elongación o multiplicación), deben lavarse en su base con abundante agua para eliminar restos del medio de cultivo y posteriormente colocarse durante 24 horas en bandejas con una solución enraizadora, la cual puede estar compuesta por ácido indol acético (AIA) a una concentración de 10 $mg.L^{-1}$ y AIB a 8,0 $mg.L^{-1}$ previo a la aclimatización. De igual forma, Caple y Cheah (2016), señalan que el enraizamiento *in vitro* de la papaya está influenciado por el tamaño del explante y la exposición al AIB.

Tabla 4. Efecto del tiempo de inmersión en AIB (2,0 $mg.L^{-1}$) de las plantas producidas *in vitro* sobre la supervivencia en fase de aclimatización.

Tiempo de Inmersión (min.)	Supervivencia (%)	Media de rangos
0 (control)	13,33	7,83 c
5	26,66	19,50 bc
10	30,00	21,17 bc
15	30,00	21,17 bc
20	33,33	24,50 b
25	56,66	38,83 a
30	23,33	17,50 c

KW = 21,43**

También, Posada *et al*., (2015) señalaron que con el empleo combinado floroglucinol y AIB se logró el 100% de enraizamiento de las plántulas y una sobrevivencia del 96,5 % durante la aclimatización. Posteriormente, Posada *et al*., (2016) plantearon que con la acción sinérgica entre el AIB (2 $mg.L^{-1}$) y el de Pectimorf (9 $mg.L^{-1}$) se obtuvieron plantas *in vitro* con un menor porcentaje de estomas abiertos, y un 76,2 % de supervivencia en condiciones *ex vitro*. Sin embargo, Setargie *et al.*, (2015), solamente obtuvieron un 40 % de las plántulas aclimatadas en el invernadero y Anandan, *et al.*, (2011) desarrollaron un protocolo eficiente para la micropropagación de la papaya con un 72 % de sobrevivencia de las plantas producidas durante su trasplante a condiciones *ex vitro*.

En general las plantas cultivadas *in vitro* tienen pobres conexiones raíz-tallo, la estructura de la raíz alterada, y por lo tanto la absorción y transporte del agua es negativo. La captación de agua por parte de las raíces, junto con la pérdida de agua por los ápices, es de importancia primaria para el mantenimiento del equilibrio del agua durante la aclimatización de las plantas cultivadas *in vitro*. Flachowsky *et al.* (2010) mostraron que las raíces de plantas propagadas *in vitro*, generalmente pierden sus pelos radicales durante la aclimatización, pero estas raíces son todavía importantes porque las nuevas raíces desarrolladas son totalmente funcionales a partir de ellas.

CONCLUSIONES

1. Se logró una metodología de aclimatización para las plantas producidas *in vitro* de papaya que garantiza porcentajes de supervivencia de hasta 58,5 %, mediante el empleo de una bolsa de nylon transparente como cámara húmeda.
2. Se demostró que la altura de las plantas producidas *in vitro* influye sobre el porcentaje de supervivencia, para este genotipo.
3. Se encontró influencia del tiempo de inmersión en AIB sobre la supervivencia de las plantas producidas *in vitro*.

BIBLIOGRAFÍA

ANANDAN, R.; S. THIRUGNANAKUMAR; D. SUDHAKAR and P. BALASUBRAMANIAN 2011. *In vitro* organogenesis and plantlet regeneration of (*Carica papaya* L.). *Journal of Agricultural Technology*, 7(5):1339-1348.

BACA, A. 2002. Optimización de la micropropagación *in vitro* de *Carica papaya* L. Tesis para optar por el Grado de Ingeniero Agrónomo. Univ. Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú. 107 p.

BRAVO, Y. 2012. Micropropagación a partir de embriones cigóticos de la papaya (*Carica papaya* L.) var. 'Maradol Roja'. Tesis para aspirar al título de Ingeniero Agrónomo. Univ. Centrl de Las Villas (UCLV). Santa Clara, Cuba. 59 p.

CAPLE A.D. and K.T. CHEAH. 2016. Micropropagation of hermaphrodite *Carica papaya* L. 'Rainbow' seedlings via axillary bud pathway. Biotechnology BIO-12. College of Tropical Agriculture and Human Resources (CTAHR), University of Hawaii, pp 1-5p.

DEL SOL, L. 2001. Efficient plant regeneration from somatic embryogenesis in papaya cv. INIVIT-2000. *Biotecnología Vegetal,* 3:133-215.

DESJARDINS, Y. 1995. Factors affecting CO_2 fixation in striving to optimize photoautotrophy in micropropagated plantles. *Plant Tissue Culture and Biotechnology,* 1(1):13-25.

FLACHOWSKY, H.; C. HÄTTASCH; M. HÖFER; A. PEIL and M.V. HANKE. 2010. Overexpression of leafy in apple leads to a columnar phenotype with shorter internodes. *Planta,* 231:251-263.

GALLARDO, J.; POSADA, L. y R. GÓMEZ. 2002. Micropropagación del híbrido cubano de Papaya IBP 42-99. *Biotecnología Vegetal,* 2(4):211-215.

GARCÍA, M.; D. GÁLVEZ; S. RODRÍGUEZ; V. MEDERO; J. LÓPEZ; J. VENTURA; M. CABRERA; A. RAYAS; A. SANTOS y M. BASAIL. 2003. Metodología para la propagación *in vitro* de la variedad de Papaya 'Maradol Roja' a partir de ápices meristemáticos. CD-ROM Memorias de AGROCENTRO 2003. II Conferencia sobre

desarrollo Agropecuario y Sostenibilidad. Facultad de Ciencias Agropecuarias UCLV, 17-19 junio 2003. ISBN 959-250-078-9.

GARCÍA, D. 2012. Fluctuación poblacional de áfidos y alternativas para el manejo del Virus de la mancha anular de la papaya en *Carica papaya* L. Tesis presentada en opción al título académico de Master en Agricultura Sostenible. UCLV. 78p.

HURTADO, O. 2010. Aclimatización y multiplicación vegetativa en casas de cultivo de plantas cultivadas *in vitro* de *Bambusa vulgaris* var. vulgaris Schrad. ex Wendl. Tesis en opción al título de Magister Scientiae en Biotecnología Vegetal, IBP-UCLV. 63 p.

JORGE, M.A.; M.T. CANHAO and A.I. Robertson. 2000. Factors affecting the acclimatization of *ex vitro* cassava in the semiarid regions. Cassava Biotechnology, Proceedings IV International Scientific Meeting Cassava Biotechnology Network, Salvador, Bahia, Brazil, pp. 396-407. Eds L.J.C.B. Carvalho, A.M. Thro and A.D. Vilarinhos. Brasilia: EMBRAPA/CENARGEN/CBN.

LIMA, H. 1991. Resultados obtenidos en las investigaciones de la estación nacional de frutales. Laboratorio de Cultivo *in vitro* y diagnóstico del Instituto de Investigaciones de cítricos y otros frutales. Laboratorio. Informe para el Ministerio de la Agricultura. La Habana. pp. 15-18.

MARTÍNEZ, R.; H.S. AZPÍROZ; J.L. RODRÍGUEZ; M. CETINA y M.A. GUTIÉRREZ. 2005. Aclimatización de plantas obtenidas *in vitro* (*Eucalyptus Urophylla* S.) blake *Eucalyptus Ggrandis* Hill ex maiden ra ximhai. *Universidad Autónoma Indígena de México*, 1(3):591-597.

MEDERO, V. 2006. Embriogénesis Somática en Yuca (*Manihot esculenta* Crantz). Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Agrícolas. Universidad de Ciego de Ávila. 101 p.

MEDERO, V.R.; GARCÍA, M.; BASAIL, M.; GÁLVEZ, D.; RODRÍGUEZ, S.; SANTOS, A.; LÓPEZ, J.; RAYAS, A.; CABRERA, M.; RODRÍGUEZ, G.; PONS, C. y J. GARCÍA. 2011. Empleo del Sistema de Inmersión Temporal para la propagación *in vitro* de la papaya, var. 'Maradol Roja'. CD-ROM: Memorias del VIII Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal BioVeg 2011. Ciego de Ávila. ISBN: 978-959-16-1286-1.

MEDERO, V.; Y. BRAVO, M. BASAIL, A. RAYAS, J. LÓPEZ, A. SANTOS, S. RODRÍGUEZ, M. TORRES, W. CABALLERO, C. PONS y J. GARCÍA. 2013. Propagación *in vitro* de la papaya a partir de embriones cigóticos inmaduros. CD Memorias del IV Simposio Internacional de Fruticultura Tropical y Subtropical. Taller de Recursos filogenéticos y mejoramiento por métodos tradicionales y biotecnológicos. (M-13) pp. 101-107.

MINAG. 2018. Instructivo técnico del cultivo de la papaya *(Carica papaya* L.).

MORÁN, P. 2008. Implementación de técnicas de aclimatización para plantas micropropagadas de vid (*Vitis vinifera* L.) Pontificia Universidad Católica de Alparaíso.

PALHARES, G.A.; R. RODRÍGUEZ; M. CID; D. PINA y J. GONZÁLEZ. 2004. Efecto de un análogo de brasinosteroides (MH5) en la propagación de *Eucalyptus urograndis* en biorreactores de inmersión temporal. *Cultivos Tropicales,* 25(1):39-44.

PATEL, J.R.; R.M. PATEL; R.R. SHAH and K.A. SHINDE. 2010. Proliferation, rooting and acclimatization of micropropagated papaya cv. Red Lady. *International Journal of Plant Sciences,* Muzaffarnagar, 5(2):459-462.

PAZ, E. 2012. Nueva metodología para la aclimatización de vitroplantas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) y su respuesta en campo. Tesis para aspirar al título de Ingeniero Agrónomo. UCLV. 43p.

POSADA, L. 2005. Aplicaciones de la Biotecnología en la propagación de la papaya (*Carica papaya* Lin). *Biotecnología Vegetal,* 5(2):67-79.

POSADA, L.; R. KOSKY y M. REYES. 2007. Embriogénesis somática en *Carica papaya* L. var. Maradol Roja. *Biotecnología Vegetal,* 7(3):131-138.

POSADA, L.; Y. PADRÓN; J. GONZÁLEZ; R. BARBÓN; R. RODRÍGUEZ; O. NORMAN, R.C. RODRÍGUEZ; D. DANIELS and R. GÓMEZ-KOSKY. 2015. Effect of phloroglucinol on rooting and *in vitro* acclimatization of papaya (*Carica papaya* L var. Maradol Roja). *In Vitro Cell Dev Biol Plant.,* 52(2):196-203.

POSADA L.; Y. PADRÓN; J. GONZÁLEZ; R. RODRÍGUEZ; R. BARBÓN; R. RODRÍGUEZ; O. NORMAN y R. GÓMEZ-KOSKY. 2016. Efecto del Pectimorf® en el enraizamiento y la aclimatización *in vitro* de brotes de papaya (*Carica papaya* L.) cultivar Maradol Roja. *Cultivos Tropicales*, 37(3):50-59.

POSADA, L.; R. GÓMEZ-KOSKY; Y. PADRÓN; J. GONZÁLEZ y R. RODRÍGUEZ. 2017. Embriogénesis somática en papaya cultivar Maradol Roja una alternativa para la propagación y el mejoramiento genético. *Biotecnología Aplicada,* 34(3):3501-3504. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/bta/v34n3/bta04317.pdf.

QUIOT, D.L. y J. DOWINEL. 1990. Serological and biological variability of virus isolates related to strains of papaya (*Carica papaya* L.) ringspot virus. *Phytopatology*, 80:256-263.

RODRÍGUEZ, A.; L. POSADA; R. GOMÉZ; M. REYES y M. TEJEDA. 2009. Aclimatización de plantas de *Carica papaya* var. Maradol roja obtenidas por embriogénesis somática. *Biotecnología Vegetal*, 9(2):91-97.

ROQUE, A.Y. 2006. Obtención de posturas de papaya (*Carica papaya* L.) cv. 'Maradol Roja' por cultivo *in vitro* de segmentos nodales de plantas jóvenes. Disponible en: http://www.forumcyt.cu/UserFiles/forum/Textos/1050511.pdf

ROQUE, A.Y. y E.H. ARDISANA. 2006. Propagación *in vitro* de papaya (*Carica papaya* L.) cv. Maradol Roja: una alternativa para el desarrollo local de las provincias Habaneras. Memorias del I Encuentro Internacional de Desarrollo Agrario y Rural ISBN: 959-16-0280-05.

SOSA, R.F.; M. ORTIZ; S. HERNÁNDEZ; R. ARMAS y P. GUILLEN. 2009. *In vitro* acclimatization of aseptically cultured plantlets to humidity. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*., 108 (3): 386-389.

SETARGIE, A.; F. MEKBIB and E. ABRAHA. 2015. *In vitro* propagation of papaya (*Carica papaya* L.). *World Journal of Agricultural Sciences*, 11(2):84-88.

WU, K.; S. Zeng; Z. CHEN and J. DUAN. 2012. *In vitro* mass propagation of hermaphroditic *Carica papaya* cv. Meizhonghong. *Pakistan Journal of Botany*, 44(5):1669-1976.