

El papel de los estomas de las hojas de la papaya cv. Maradol *Carica papaya* bajo cultivo *in vitro*^φ

Amaranta Girón-Ramírez*, Gaspar Eduardo Castillo-Castro,
Gabriela Fuentes Ortiz, Jorge M. Santamaría-Fernández

Introducción

La técnica de cultivo *in vitro* en la papaya cv. Maradol *Carica papaya* L. (Brassicales: Caricaceae) es crucial para conservar material vegetal con características genéticas idénticas a las de la planta madre (Talavera May *et al.* 2007; Encina *et al.* 2023). A simple vista, una papaya micropropagada tiene una morfología similar a una cultivada por semilla (Talavera May *et al.* 2007). Sin embargo, la tasa de mortalidad alta durante la aclimatación *ex vitro* sugiere la existencia de diferencias morfológicas, fisiológicas y bioquímicas críticas (Hazarika 2006). Un ejemplo radica en los estomas, que son pequeñas estructuras en la epidermis de las hojas que funcionan como guardianes al equilibrar la entrada de dióxido de carbono (CO₂) hacia la planta para la fotosíntesis y la pérdida de agua excesiva por transpiración (Lasky 2024).

Los estomas facilitan el intercambio de gases entre la planta y la atmósfera, y son clave en los ciclos del carbono y del agua (Nguyen *et al.* 2023). Pero ¿Qué sucede con los estomas de las hojas de papaya bajo cultivo *in vitro*? Las papayas cultivadas *in vitro* crecen en condiciones artificiales en recipientes herméticos con alta humedad relativa, escasez de dióxido de carbono (CO₂), altas concentraciones de azúcar en el medio y una tasa fotosintética casi nula.

Entonces, ¿Son sus estomas funcionales? ¿O pueden serlo una vez que las plantas son expuestas a condiciones *ex vitro*? El objetivo de este artículo es describir el papel de los

^φ Centro de Investigación Científica de Yucatán A.C., Calle 43 No. 130 x 32 y 34, Chuburná de Hidalgo; CP 97205, Mérida, Yucatán, México * amara3187@gmail.com
DOI: <http://doi.org/10.56369/BAC.6548>



estomas durante la micropropagación de la papaya Maradol bajo condiciones de cultivo *in vitro*.

*“Las papayas cultivadas *in vitro* crecen en condiciones artificiales en recipientes herméticos con alta humedad relativa, escasez de dióxido de carbono (CO₂), altas concentraciones de azúcar en el medio y una tasa fotosintética casi nula.”*

El cultivo *in vitro* de papaya Maradol

El cultivo de tejidos vegetales *in vitro* es una técnica donde el crecimiento de células, tejidos u órganos ocurre artificialmente y es enriquecido con azúcares, nutrientes, vitaminas y reguladores del crecimiento bajo condiciones ambientales estrictamente controladas (Calva-Calva y Pérez-Vargas 2005). El cultivo de tejidos se basa en el principio de la totipotencia celular, que es la capacidad que tiene una célula vegetal para regenerar una planta completa (Ferl y Paul 2000). Debido a sus aplicaciones potenciales en la agricultura moderna, las técnicas de cultivo *in vitro* son ampliamente utilizadas (Fig. 1).



Figura 1. Aplicaciones del cultivo de tejidos vegetales en la agricultura moderna (Adaptado de Mahato *et al.* 2023).

La micropropagación se ha usado para el desarrollo de plantas comerciales porque permite la producción masiva de plantas genéticamente idénticas, libres de patógenos y con características agronómicas deseables de utilidad en programas de mejoramiento vegetal, conservación de germoplasma y propagación comercial de especies ornamentales, frutales y forestales (Mahato *et al.* 2023). Para la papaya Maradol, cuyo cultivo tropical es reconocido en todo el mundo por su valor nutritivo y medicinal, se han propuesto distintos enfoques basados en técnicas *in vitro* que ofrecen ventajas en comparación a los métodos de propagación convencionales que resultan poco eficientes para producir plántulas de papaya a gran escala.

El cultivo de brotes axilares y la regeneración de plantas a partir de embriones somáticos (semillas inmaduras) son algunos ejemplos de estrategias exitosas y que han permitido la propagación masiva de diferentes cultivares de papaya (Encina *et al.* 2023). Además, las técnicas de cultivo *in vitro* son adecuadas para la preservación de germoplasma de genotipos silvestres que han estado expuestas a factores ambientales y se han adaptado a condiciones estresantes, como temperaturas altas e inundaciones o sequía, convirtiéndolos en reservorios genéticos invaluable (Girón-Ramírez *et al.* 2023).

En el Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), el grupo de Fisiología Vegetal Molecular de la Unidad de Biotecnología (LFVM) ha trabajado en los últimos 25 años sobre el desarrollo de variedades de papaya, incluida Maradol y papaya silvestre. A la fecha, el CICY ha realizado estudios de embriogénesis somática, transformación genética, conservación de germoplasma *in vitro* de genotipos silvestres y desarrollo de variedades 100% hermafroditas, con base en protocolos de micropropagación que incluyen la fase de aclimatación *ex vitro* en condiciones de invernadero y actualmente en campo abierto (Talavera May *et al.* 2007; Girón-Ramírez *et al.* 2024) (Fig. 2).

Aunque son claros los avances científicos en la propagación masiva de plantas de papaya por técnicas de cultivo *in vitro* (Encina *et al.* 2023; Fitch 2025), el proceso de aclimatación continúa siendo un desafío (Mahato *et al.* 2023). Durante la fase de aclimatación *ex vitro* las plantas experimentan cambios fisiológicos y morfológicos en su supervivencia a condiciones ambientales y sustratos diferentes (Hazarika 2006; Mahato *et al.* 2023). En este sentido, el grupo LFVM ha estudiado los factores que influyen en el éxito de la aclimatación en la fase *ex vitro* y han encontrado diferencias importantes en la morfología de los estomas a través del proceso de aclimatación *ex vitro*.

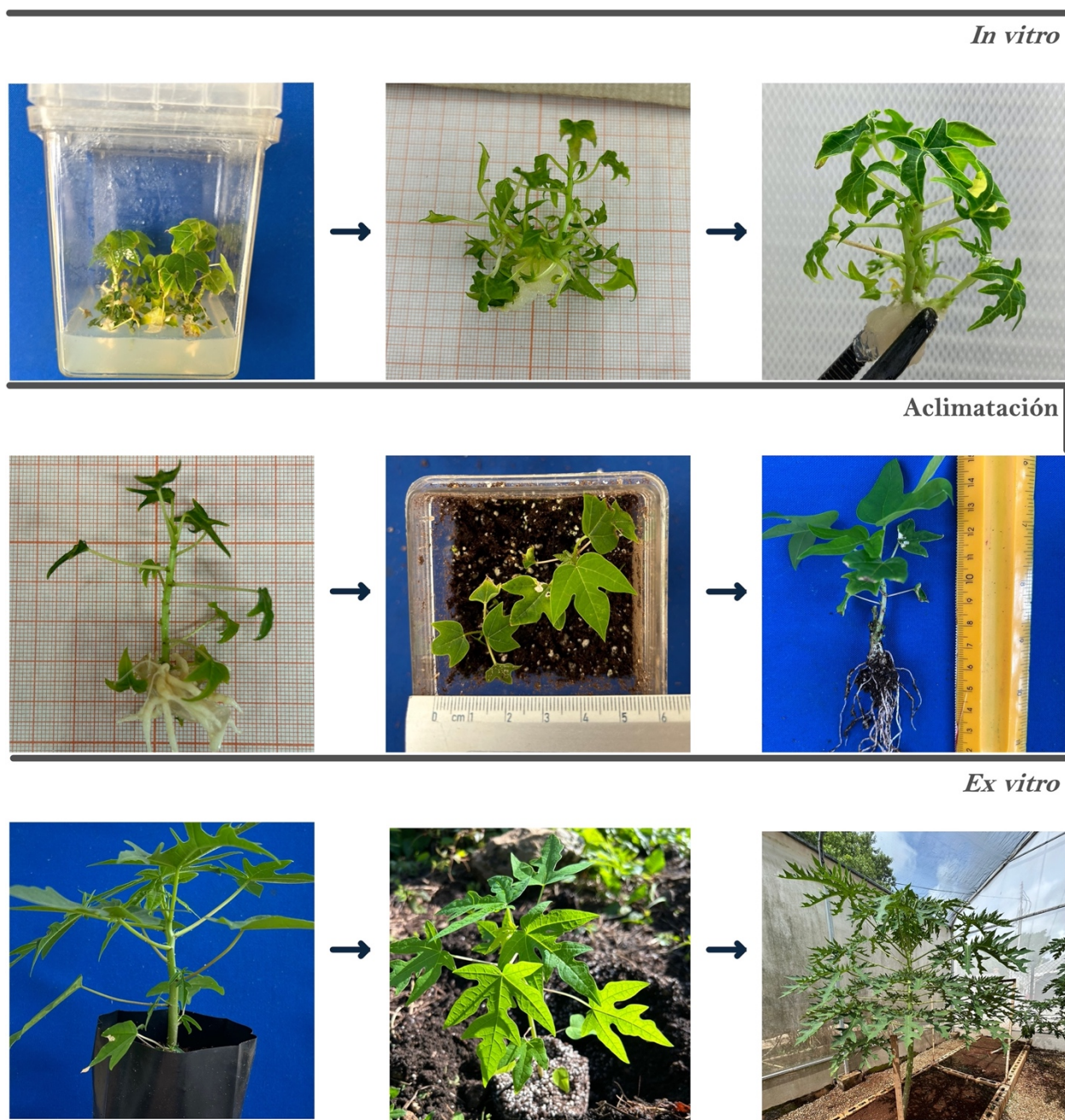


Figura 2. Micropropagación de plantas de la papaya *Carica papaya* Maradol (Protocolo del grupo de Fisiología Vegetal Molecular de la Unidad de Biotecnología (LFVM)).

“La micropropagación se ha usado para el desarrollo de plantas comerciales porque permite la producción masiva de plantas genéticamente idénticas, libres de patógenos y con características agronómicas deseables de utilidad en programas de mejoramiento vegetal, conservación de germoplasma y propagación comercial de especies ornamentales, frutales y forestales.”

Los estomas en el cultivo *in vitro* de papaya Maradol

En la mayoría de las plantas, como la papaya, los estomas se ubican en la parte inferior de la hoja (envés) y esta ubicación les protege de la sobreexposición al calor y las corrientes de aire (Lasky 2024). La forma de los estomas es similar a una boca que se abre y se cierra por ayuda de las células guarda, donde éstas se expanden y contraen en respuesta a diferentes factores ambientales, incluidos la concentración de CO₂, luz solar y humedad (Fig. 3). Cuando los estomas están abiertos, las plantas absorben dióxido de carbono para la fotosíntesis y liberan vapor de agua y oxígeno, como parte de la respiración. Por el contrario, los estomas cerrados evitan pérdida excesiva de agua en la planta.

En condiciones normales, los estomas permanecen abiertos y la fotosíntesis se lleva a cabo durante el día, y se cierran cuando la luz solar ya no está disponible por la noche. Bajo condiciones ambientales cambiantes, los estomas juegan un papel clave en la capacidad de las plantas para adaptarse y, en última instancia, sobrevivir (Nguyen *et al.* 2023; Lasky 2024).

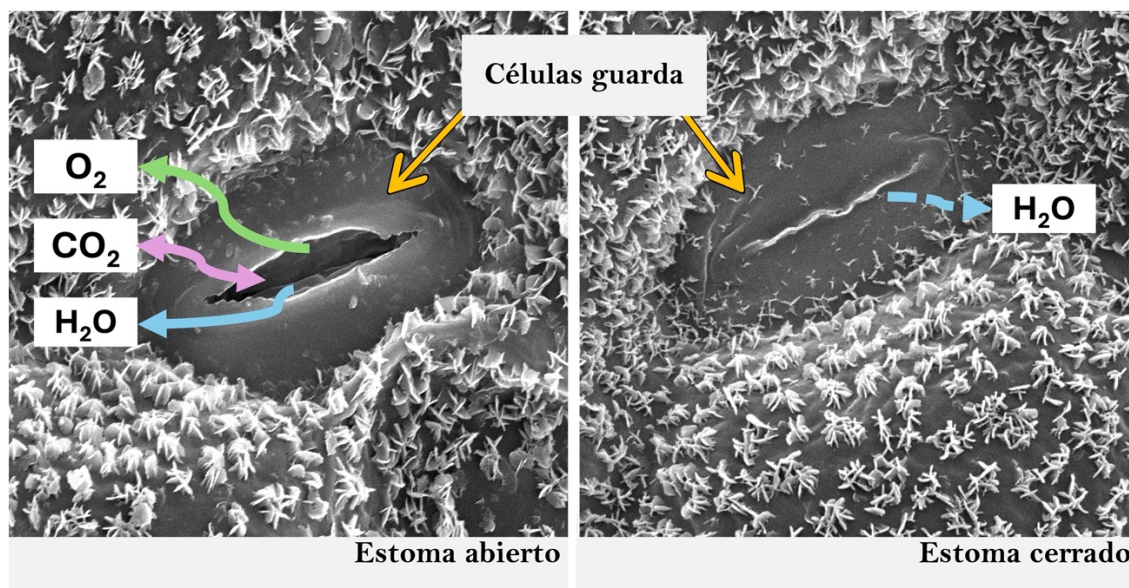


Figura 3. Intercambio gaseoso en estomas de papaya *Carica papaya* Maradol. Las flechas indican la dirección del flujo de gases. Una flecha en dirección al exterior del estoma indica la salida de oxígeno (O_2) y agua (H_2O), mientras que una flecha en ambas direcciones muestra la entrada y salida de dióxido de carbono (CO_2) (Adaptado de Girón-Ramírez *et al.* 2021).

La microscopía óptica ha revelado diferencias estructurales entre los estomas de una planta proveniente de semilla y la de una planta cultivada *in vitro*. Estas diferencias son consideradas como factores clave en la supervivencia de la planta micropropagada cuando es expuesta a condiciones de campo, ya que causan la pérdida excesiva de agua y consecuentemente su muerte (Santamaría *et al.* 1993).

En la papaya, se ha registrado que los estomas *in vitro* presentan una estructura morfológica y un funcionamiento deteriorado. Las células guarda de plantas cultivadas *in vitro* están expandidas, por lo que los estomas están abiertos permanentemente mientras que en las plantas de semilla están cerrados en respuesta a factores ambientales, como la falta de agua. Los estomas durante la fase de aclimatación presentan una fase intermedia (*i.e.*, estomas abiertos y cerrados bajo condiciones de poca humedad), lo que indica que los estomas pueden recuperar parcialmente su funcionalidad tras ser retirados del medio de cultivo *in vitro* (Fig. 4). Esta respuesta ha sido documentada en otras plantas frutales, como los cítricos, donde los estomas pueden responder a tratamientos químicos, oscuridad o cambios en el gradiente de humedad (Hazarika 2006).

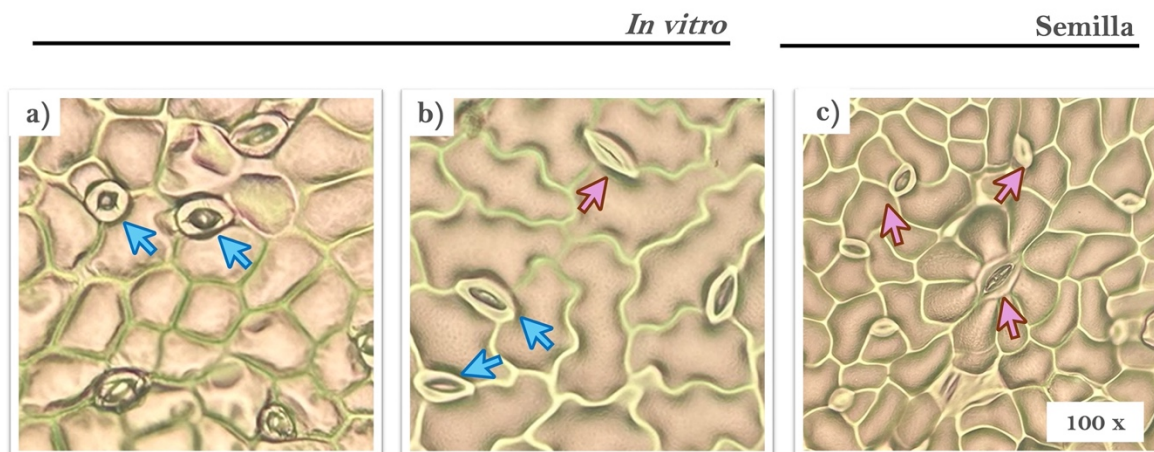


Figura 4. Impresiones epidérmicas de estomas en hojas de plantas *in vitro* y *Carica papaya* Maradol en diferentes etapas de crecimiento: a) fase *in vitro*, b) fase de aclimatación, c) planta de semilla *ex vitro*. Flechas azules y rojas indican estomas abiertos y cerrados, respectivamente.

Los cambios en la funcionalidad de los estomas pueden correlacionarse con los valores de fotosíntesis y transpiración (Saeedi *et al.* 2023). Una afectación en la regulación estomática, como el caso de las plantas cultivadas *in vitro*, impacta no solo en su tasa de crecimiento sino en la cantidad de agua perdida por transpiración, comprometiendo las funciones vitales de la planta y por consecuencia su supervivencia (Hazarika 2006).

Ante este escenario, se ha propuesto la ventilación mediante pequeñas aberturas en las tapas de los contenedores, selladas con filtro, durante las últimas fases *in vitro*. Esta práctica tiene un efecto positivo en la tasa de crecimiento y en los porcentajes de supervivencia durante la fase de aclimatación *ex vitro* en algunas plantas ornamentales (Murphy *et al.* 1998). Esta estrategia ha sido incorporada a nuestro protocolo de micropropagación de papaya con éxito.

“La microscopía óptica ha revelado diferencias estructurales entre los estomas de una planta proveniente de semilla y la de una planta cultivada in vitro.”

Conclusiones

Los estomas de las plantas son pequeñas estructuras en el envés de las hojas, y que son esenciales para el equilibrio entre el CO₂ durante la fotosíntesis y la pérdida de agua por la transpiración. La regulación estomática permite la absorción de cerca del 20% del CO₂ atmosférico, moviliza anualmente el 50% del agua en la atmósfera y produce entre el 80 y 90% de la evaporación continental (Hetherington y Woodward 2023). Sin embargo, la

funcionalidad de los estomas se ve comprometida bajo condiciones de cultivo *in vitro* diseñados para brindar los recursos y el ambiente necesarios para el crecimiento de la planta. En el caso de papaya, en la aclimatación *ex vitro* es donde los estomas se convierten en un factor clave en la supervivencia de las plantas; sin embargo, aún son necesarias más investigaciones para entender la funcionalidad de los estomas bajo estas condiciones. A pesar de estos desafíos, en los últimos años las técnicas de cultivo *in vitro* en cultivos tropicales, como de la papaya, han registrado grandes avances en las ciencias agrícolas y hoy son una herramienta esencial para la agricultura moderna.

Agradecimientos

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades y Tecnología e Innovación (SECIHTI), por fomentar la vinculación de jóvenes investigadores en grupos consolidados a través del programa de Estancias Posdoctorales por México 2023, Modalidad Académica. Agradecemos a la IBQ. Alexa Michell Andrade Castro por el apoyo técnico en el proyecto. Al proyecto "Iniciativas para la conservación, salvaguarda y uso de colecciones biológicas vivas de *Carica papaya* L. (Banco *in vitro* y colecciones vivas), para revalorizar la importancia de poblaciones silvestres, en colaboración con comunidades locales de Yucatán" PRONAI-2024-151 (SECIHTI).

Referencias

- Calva-Calva G y Pérez-Vargas J. 2005. Cultivo de células y tejidos vegetales: fuente de alimentos para el futuro. *Revista Digital Universitaria* 6(11):1-16.
- Encina CL, Granero ML y Regalado JJ. 2023. *In vitro* long-term cultures of Papaya (*Carica papaya* L.cv. Solo). *Horticulturae* 9(6):671.
- Ferl R, y Paul AL. 2000. Genome organization and expression. En: Buchanan B, Gruissem W y Jones R (eds.). *Biochemistry and molecular biology of plants*. American Society of Plant Physiologists. USA. pp. 312-357.
- Fitch MMM. 2005. *Carica papaya* Papaya. En: Litz RE (ed.). *Biotechnology of fruits and nut crops*. CABI publishing. UK. pp. 174-201.
- Girón-Ramírez A, Bautista-Bautista Y, Estrella-Maldonado H, Chan-León A, Turrent E, Talavera C, Solís A, Castillo E, Fuentes G y Santamaría JM. 2024. Direct somatic embryogenesis in *Carica papaya* L. genotypes for genetic modification purposes. En: Loyola-Vargas V y Ochoa-Alejo N (eds.). *Plant cell culture protocols. Methods in molecular biology*, vol 2827. Humana. USA. pp. 279-290.
- Girón-Ramírez A, Chan-León A, Bautista Y, Arroyo-Álvarez E, Estrella-Maldonado H, Fuentes G y Santamaría JM. 2023. Domesticación en papaya: implicaciones en la tolerancia al cambio climático. *Desde el Herbario CICY* 15:174-179.
- Girón-Ramírez A, Peña-Rodríguez LM, Escalante-Erosa F, Fuentes G y Santamaría JM. 2021. Identification of the SHINE clade of AP2/ERF domain transcription factors genes in *Carica papaya*; their gene expression and their possible role in wax accumulation and water deficit stress tolerance in a wild and a commercial papaya genotypes. *Environmental and Experimental Botany* 183:104341.

- Hazarika BN. 2006. Morpho-physiological disorders in *in vitro* culture of plants. *Scientia Horticulturae* 108(2):105-120.
- Hetherington AM y Woodward FI. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424:901-908.
- Lasky J (2024). Stomate (stoma). EBSCO. Fecha de consulta 05/08/2025 en <https://www.ebsco.com/research-starters/anatomy-and-physiology/stomate-stoma#full-article>.
- Mahato A, Chaudhari G, Banjade G y Uprety S. 2023. Tissue culture and its application in modern agriculture. i *TECH MAG* 5:09-11.
- Murphy KP, Santamaría JM, Davies WJ y Lumsden PJ. 1998. Ventilation of culture vessels. I. Increased growth *in vitro* and survival *ex vitro* of *Delphinium*. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 73(6):725-729.
- Nguyen TBA, Lefoulon C, Nguyen TH, Blatt MR y Carroll W. 2023. Engineering stomata for enhanced carbon capture and water-use efficiency. *Trends in Plant Science* 28 (11):1290-1309.
- Saeedi SA, Vahdati K, Sarikhani S, Daylami SD, Davarzani M, Gruda NS y Aliniaiefard S. 2023. Growth, photosynthetic function, and stomatal characteristics of Persian walnut explants *in vitro* under different light spectra. *Frontiers in Plant Science* 17(14):1292045.
- Santamaría JM, Davies WJ y Atkinson CJ. 1993. Stomata of micropropagated *Delphinium* plants respond to ABA, CO₂, light and water potential, but fail to close fully. *Journal of Experimental Botany* 44 (1):99-107.
- Talavera May C, Espadas y Gil F, Contreras M y Santamaría JM. 2007. Field performance of 100% hermaphrodite micropropagated papaya plants. *Acta Horticulturae* 748:219-222.

Girón-Ramírez A, Castillo-Castro GE, Fuentes Ortiz G, Santamaría-Fernández JM. 2025. El papel de los estomas de las hojas de la papaya cv. Maradol *Carica papaya* bajo cultivo *in vitro*. *Bioagrociencias* 18 (2): 191-199.
DOI: <http://doi.org/10.56369/BAC.6548>