



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA**

**MICROPROPAGACIÓN IN VITRO DE PITAHAYA
AMARILLA (*Selenicereus megalanthus* Haw) A PARTIR DE
TALLOS SELECCIONADOS DE SIEMBRAS
COMERCIALES, LIMONCITO - SANTA ELENA**

TRABAJO EXPERIMENTAL

Trabajo de titulación presentado como requisito para la
obtención del título de
INGENIERO AGRÓNOMO

**AUTOR
GONZÁLEZ BURGAS GUSTAVO ANDRÉS**

**TUTOR
PhD. ARIADNE VEGAS GARCÍA**

GUAYAQUIL – ECUADOR

2020



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, **ARIADNE VEGAS GARCÍA**, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **“MICROPROPAGACIÓN IN VITRO DE PITAHAYA AMARILLA (*Selenicereus megalanthus* Haw) A PARTIR DE TALLOS SELECCIONADOS DE SIEMBRAS COMERCIALES LIMONCITO, SANTA ELENA”**, realizado por el estudiante **GONZÁLEZ BURGAS GUSTAVO ANDRÉS**; con cédula de identidad N° **0927204255** de la carrera **INGENIERÍA AGRONÓMICA**, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

Firma del Tutor

Guayaquil, 18 de febrero del 2020



**UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: “**MICROPROPAGACIÓN IN VITRO DE PITAHAYA AMARILLA** (*Selenicereus megalanthus* Haw) **A PARTIR DE TALLOS SELECCIONADOS DE SIEMBRAS COMERCIALES LIMONCITO, SANTA ELENA**”, realizado por el estudiante **GONZÁLEZ BURGAS GUSTAVO ANDRÉS**, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

Ing. Arnaldo Barreto Macías, M.Sc.
PRESIDENTE

PhD. Armando Vega Rivero
EXAMINADOR PRINCIPAL

PhD. Daniel Marceró Castillo
EXAMINADOR PRINCIPAL

Ing. Wilmer Baque Bustamante, M.Sc.
EXAMINADOR SUPLENTE

Guayaquil, 03 de marzo del 2020

Dedicatoria

Esta tesis se la dedico a mis padres Mariano González y Lourdes Burgas Mite; por ser las personas que me han apoyado en el transcurso de mi vida y carrera profesional. También a mi abuela Elida Mite, a mis hermanas Mariuxi y Andrea, a mi sobrina Amélie y en especial a mi mamá de crianza Petita Torres Touriz, quien antes de partir de este mundo, me motivo a seguir mi carrera universitaria.

Agradecimiento

Agradezco a Dios, por bendecirme, guiarme y ser mi mayor fortaleza en los momentos de debilidades.

A toda mi familia, por ser un pilar de apoyo ante las dificultades que se me presentaban en mí día a día.

A mi tutora, por haberme guiado y apoyado en mi desarrollo profesional.

A Joselyn Sánchez, por su apoyo, cariño, y consejos que me ayudaron a seguir adelante durante mi carrera.

A mis mejores amigos/as: Eduardo, Kevin, Carlos Andrés, Daniela, Ruddy, Bianca, Jonathan, Kevin D., José, Josué; por estar siempre en los buenos y malos momentos.

A la Universidad Agraria del Ecuador, a todas las autoridades y docentes, en especial al creador fundador Dr. Jacobo Bucaram Ortíz. PhD., y la rectora Ec. Martha Bucaram Leverone, PhD., por haberme permitido formame en esta etapa de mi vida.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo **GUSTAVO ANDRÉS GONZÁLEZ BURGAS**, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre **“MICROPROPAGACIÓN *IN VITRO* DE PITAHAYA AMARILLA (*Selenicereus megalanthus* Haw) A PARTIR DE TALLOS SELECCIONADOS DE SIEMBRAS COMERCIALES LIMONCITO, SANTA ELENA”** para optar el título de **INGENIERO AGRÓNOMO**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, marzo 03, 2020

FIRMAR

GUSTAVO ANDRÉS GONZÁLEZ BURGAS
C.I. 0927204255

Índice general

PORTADA	1
APROBACIÓN DEL TUTOR	2
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN.....	3
Dedicatoria	4
Agradecimiento	5
Autorización de Autoría Intelectual	6
Índice general.....	7
Índice de tablas	11
Índice de figuras	12
Resumen.....	13
Abstract	14
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1 Antecedentes del problema.....	15
1.2 Planteamiento y formulación del problema	16
1.2.1 Planteamiento del problema	16
1.2.2 Formulación del problema	16
1.3 Justificación de la investigación.....	16
1.4 Delimitación de la investigación	17
1.5 Objetivo general	17
1.6 Objetivos específicos	17
1.7 Hipótesis.....	18
2. MARCO TEÓRICO	19
2.1 Estado del arte	19
2.2 Bases teóricas.....	20

2.2.1 Origen	21
2.2.2 Taxonomía	22
2.2.3 Morfología	22
2.2.3.1. Raíces	22
2.2.3.2. Tallos	22
2.2.3.3. Flores	23
2.2.3.4. Fruto.....	23
2.2.3.5. Semilla	23
2.2.3.6. Requerimientos de clima.....	24
2.2.3.7. Cosecha y post cosecha	24
2.2.3.8. Costos de producción	26
2.2.3.9. Cultivo <i>in vitro</i>	27
2.2.3.9.1 Pasos necesarios para generar plantas a partir de ex plantas aislados.	28
2.2.3.9.2 Contaminación en la micro propagación.	29
2.2.3.10. Medio de cultivo MS (Murashige & Skoog)	30
2.2.3.11. Reguladores de crecimiento	30
2.2.3.11.1 ANA	30
2.2.3.11.2 BAP	31
2.2.3.11.3 CINETINA	31
2.2.3.11.3 Prueba de KOH.....	31
2.3 Marco legal	31
3. Materiales y métodos	33
3.1 Enfoque de la investigación	33
3.1.1 Tipo de investigación	33

3.1.2 Diseño de investigación	33
3.2 Metodología	33
3.2.1 Variables	33
3.2.1.1 <i>Variable independiente</i>	33
3.2.2 Tratamientos	34
3.2.3 Diseño experimental	36
3.2.4 Recolección de datos	36
3.2.4.1 <i>Recursos</i>	36
3.2.4.2 <i>Métodos y técnicas</i>	37
3.2.5 Análisis estadístico.....	37
3.2.5.1. <i>Análisis funcional</i>	37
3.2.5.2. <i>Esquema del análisis no paramétrico (Kruskall Wallis)</i>	38
3.2.5.3. <i>Hipótesis estadísticas</i>	38
3.2.5.4. <i>Delimitación experimental</i>	38
3.2.5.5. <i>Manejo de ensayo</i>	39
3.2.5.6. <i>Variables a evaluarse</i>	40
4. Resultados.....	41
4.1 Selección de tallos idóneos que sirvan de material parental para la reproducción en laboratorio.	41
4.2 Determinar los medios de cultivo idóneos para la fase de iniciación y multiplicación de tallos de pitahaya amarilla (<i>Selenicereus megalanthus</i> Haw).....	41
4.2.1 Desinfección de explantes	41
4.2.2 Fase de iniciación	43
4.2.2.1. <i>Porcentaje de brotación (PB)</i>	43

4.2.3 Fase de multiplicación.....	44
4.3 Analizar el mejor medio de cultivo para el enraizamiento <i>in vitro</i> de los tallos de pitahaya amarilla (<i>Selenicereus megalanthus</i> Haw).	45
4.3.1. Porcentaje de enraizamiento	45
5. Discusión.....	47
6. Conclusiones	50
7. Recomendaciones	51
8. Bibliografía	52
9. Anexos.....	62

Índice de tablas

Tabla 1. Descripción de los tratamientos a utilizar en la iniciación de tallos de Pitahaya amarilla.....	34
Tabla 2 Descripción de los tratamientos utilizados para la fase de multiplicación.	35
Tabla 3. Descripción de los tratamientos a utilizar en el enraizamiento de brotes de Pitahaya amarilla.	35
Tabla 4. Valoración económica del proyecto.....	37
Tabla 5. Ensayo para la iniciación <i>in vitro</i> de tallos de Pitahaya amarilla.	38
Tabla 6. Ensayo para la multiplicación <i>in vitro</i> de tallos de Pitahaya amarilla .	38
Tabla 7. Ensayo para el enraizamiento <i>in vitro</i> de tallos de Pitahaya amarilla.	39
Tabla 8. Contaminación de explantes en la fase de iniciación.	41
Tabla 9. Porcentaje de brotación de los tres medios en estudio en la fase de iniciación.	43
Tabla 10. Coeficiente de multiplicación de los tratamientos en estudio.....	44
Tabla 11. Promedio de contaminación en la fase de multiplicación.....	45
Tabla 12. Porcentaje de enraizamiento de los tres medios en la fase de enraizamiento.....	46
Tabla 13 Porcentaje de contaminación de la fase de enraizamiento.....	46

Índice de figuras

Figura 1. Contaminación de explantes (brotes) por hongos y bacterias	42
Figura 2. Porcentaje de brotación en la fase de iniciación.	44
Figura 3. Obtención de nuevos brotes en laboratorio.....	45
Figura 4. Porcentaje de enraizamiento.....	46
Figura 5. (A) Disección de nervadura central de los tallos de pitahaya amarilla de la comuna Limoncito para la inducción del enraizamiento en el suelo. (B) Tallos de pitahaya sembrados para el desarrollo de los brotes utilizados en el estudio, a los 4 meses después de la siembra.	62
Figura 6. Elaboración de los medios de cultivos en el laboratorio de Biotecnología. (A) Macro y micro nutrientes; (B) Pesaje de los micronutrientes; (C) Soluciones madres de macro nutrientes; D) Medición de pH de los medios de cultivo.....	62
Figura 7. Disección y siembra de explantes (brotes) en la cámara de flujo laminar, en condiciones asépticas.....	63
Figura 8. Crecimiento de los explantes en las condiciones de luz en el laboratorio de Biotecnología.	63
Figura 9. Contaminación de explantes iniciales a) contaminación fúngica; b) contaminación bacteriana.....	64
Figura 10. Fase de Multiplicación en el medio de cultivo MS + K (8mg.L-1) en condiciones de luz, dentro del laboratorio.	64
Figura 11. Fase de enraizamiento en el medio de cultivo MS en condiciones de luz, dentro del laboratorio.	65
Figura 12. Porcentaje de brotación en la fase iniciación.	65
Figura 13. Porcentaje de enraizamiento.....	65

Resumen

La pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw) es una especie de tallos largos, originaria de Centroamérica. El objetivo fue: la producción plantas sanas mediante la micro propagación in vitro a partir de tallos seleccionados de siembra en condiciones de laboratorio. Para la desinfección de los explantes se lo realizó con NaClO 3% + Alcohol 70% con un tiempo de inmersión de 10 min. Para cada fase hubo un rango de tiempo de 45 días.

En la fase de iniciación se probaron tres medios de cultivos diferentes con varias concentraciones; el mejor tratamiento para la brotación en esta fase fue el T3 (MS + BAP (2 mg. L⁻¹) + K (2 mg. L⁻¹)) con el 60%, y el tratamiento con menor porcentaje fue el T1 y T2.

En la fase de multiplicación de la misma manera se examinaron tres medios de cultivos diferentes. En dicha fase el medio de cultivo que predominó el T3 (MS + K (8 mg. L⁻¹)) con un coeficiente de multiplicación con un valor 1,8; y los tratamientos de descarte fueron T1 y T2.

En la fase de enraizamiento el mejor tratamiento fue T1 MS (100%) con un 60% el cual obtuvo mayor explantes enraizados.

Los resultados adquiridos de este estudio ofrecen una buena alternativa para la micro propagación de pitahaya amarilla, lo cual favorecerá al establecimiento de plantaciones comerciales sana libre de patógenos.

Palabras claves: *in vitro*, micro propagación, patógenos, pitahaya.

Abstract

The yellow pitahaya (*Selenicereus megalanthus* Haw) is a species of long stems, native to Central America. The objective was: the production of healthy plants by micro propagation in vitro from selected planting stalks under laboratory conditions. For the disinfection of the explants, it was performed with 3% NaClO + 70% Alcohol with an immersion time of 10 min. For each phase there was a time range of 45 days.

In the initiation phase, three different culture media with various concentrations were tested; the best treatment for sprouting in this phase was T3 (MS + BAP (2 mg. L⁻¹) + K (2 mg. L⁻¹)) with 60%, and the treatment with the lowest percentage was T1 and T2.

In the multiplication phase in the same way three different culture media were examined. In that phase, the culture media that predominated the T3 (MS + K (8 mg. L⁻¹)) with a multiplication coefficient with a value of 1, 8; and the discard treatments were T1 and T2.

In the rooting phase, the best treatment was T1 MS (100%) with 60%, which obtained higher rooted explants.

The acquired results from this study offer a good alternative for the micro propagation of yellow pitahaya, which will favor the establishment of healthy pathogen-free commercial plantations.

Keywords: *in vitro*, micropropagation, pathogens, pitahaya.

1. Introducción

1.1 Antecedentes del problema

La pitahaya (*Selenicereus megalanthus* Haw) es un cactus suculento de tallos largos, originaria de Centroamérica. Ampliamente distribuida por el resto del continente americano. En Ecuador; está distribuido en las provincias de Pichincha, Morona Santiago, Loja y Santa Elena. Debido a sus características nutricionales, en los últimos, se ha incrementado el consumo de esta fruta, así como la apertura de nuevos mercados a nivel nacional e internacional (Huachi, et al, 2015).

La propagación *in vitro* es un método alternativo para prevenir los problemas fitosanitarios causados por diferentes especies de ***Fusarium***, ***Colletotrichum*** y ***Pectobacterium***. De acuerdo con Castillo (2004), es posible reproducir plantas en condiciones de laboratorio, para obtener material vegetal más resistente por ende una buena producción; tomando en consideración aquellos factores que se puedan mantener controlados.

Son pocos los reportes de trabajos de micro propagación para la pitahaya amarilla. En estos se observa el uso predominante de la auxina 2-ácido naftalenacético (ANA), así como las citocininas 2-benciladenina (BA) y 3 feniltiazol-urea (Thidiazurón-TDZ); y poco se ha evaluado el efecto de la concentración de estas hormonas en el crecimiento. Algunos trabajos solo se enfocaron en la producción de callo o tejido des diferenciado (Zambrano et al., 2015).

Asi mismo, la micropropagación es un conjunto de métodos y técnicas que sirven

para propagar plantas nuevas de manera asexual, con la característica de estar libre de patógenos. Por tanto, la micropropagación del cultivo ya mencionado ayudará a obtener plantulas que sirvan para la producción en campo.

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

Es escasa la información científica sobre la propagación *in vitro* para obtener plantas completas de pitahaya que puedan ser usadas como semillas comerciales. Dentro de este contexto, para que Ecuador alcance un nivel competitivo sustentable frente al creciente interés por la pitahaya en el mercado internacional, se deben fomentar y promover investigaciones que canalicen la consecución de una metodología sostenible de propagación, así como la obtención masiva y homogénea de material élite con altos niveles de producción y tolerancia a agentes patógenos; además del establecimiento programas de transformación de plantas por ingeniería genética a partir de genotipos seleccionados, mediante protocolos de alto nivel de confiabilidad científica.

1.2.2 Formulación del problema

¿Se podrá obtener la iniciación *in vitro* de *Selenicereus megalanthus* Haw (pitahaya amarilla), libre de patógenos para garantizar una semilla sana y que conserve las características genotípicas y fenotípicas, a partir de parentales seleccionadas de siembras comerciales?

1.3 Justificación de la investigación

Con los resultados de esta investigación, a nivel técnico y científico se aportará informaciones actualizadas, que nutrirán la escasa información existente hasta el momento en nuestro país sobre la micro propagación. El establecimiento de un sistema sostenible de producción de plantas altamente productivas y sanas de

pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw) a partir de tallos seleccionados en el campo, de acuerdo a su producción, que serán un gran aporte técnico en un país, como el nuestro, en el que este cultivo crece debido al interés internacional de esta fruta. Además, los datos proporcionados con esta investigación serán un sólido fundamento para futuros trabajos de campo y laboratorio.

1.4 Delimitación de la investigación

- **Espacio:** Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Agraria del Ecuador, Guayaquil – Ecuador, con las siguientes coordenadas UTM **X:** 622845.84, **Y:** 9752378.54.
- **Tiempo:** El trabajo de titulación se realizó en un periodo de 12 meses. (Septiembre – Septiembre).
- **Población:** Los beneficiarios con este proyecto son los estudiantes de la Universidad Agraria del Ecuador; Comunidad Agrícola del país.

1.5 Objetivo general

Comparar diferentes de medios de cultivos para la producción de plantas sanas de pitahaya amarilla (***Selenicereus megalanthus* Haw**), mediante la micropropagación en condiciones de laboratorio de tallos seleccionados.

1.6 Objetivos específicos

- Propagar los tallos idóneos que sirvan de material parental para la reproducción en laboratorio.
- Determinar los medios de cultivo idóneos para la brotación de tallos de pitahaya amarilla (***Selenicereus megalanthus* Haw**).
- Evaluar el mejor medio de cultivo para el enraizamiento *in vitro* de los tallos de pitahaya amarilla (***Selenicereus megalanthus* Haw**).

1.7 Hipótesis

Al menos uno de los tratamientos en estudio mostrará una diferencia significativa para micro propagación de los tallos *in vitro* de pitahaya amarilla (***Selenicereus megalanthus* Haw**).

2. Marco teórico

2.1 Estado del arte

Aguilar (2015) realizó estudios en donde se evaluó tres enraizantes (ANA, estiércol bovino enriquecido con fósforo y dos cepas de *Trichoderma harzianum* ThLE24 y ThLE26) y dos tamaños de cladodios (30 y 50 cm de altura) en la propagación asexual de pitahaya durante 120 días en la región amazónica, utilizando un diseño de bloques al azar en arreglo bifactorial. Los resultados obtenidos determinaron que los cladodios de 50 cm fueron los de mejor resultado frente a los de 30 cm, influyendo significativamente en las variables longitud de brotes (101,52 cm), peso de brotes (122,98 g), número de raíces (6,21) y peso de raíces (13,62 g). Por lo que se recomienda utilizar cladodios de 50 cm en la propagación asexual de esta planta.

Pérez (2011) estableció protocolos para la micro propagación de las especies *Selenicereus megalanthus* Haw y *Hylocereus undatus* donde se obtuvieron explantes a partir de semillas germinadas en medio de Murashige y Skoog (MS). Para el efecto utilizaron diferentes reguladores de crecimiento, las auxinas fueron: ácido naftalenacético (ANA), ácido indolacético (AIA), ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), y las citocininas: benciladenina (BA), 6 dimetilaminopurina (2-ip) Thidiazuron (TDZ). Con base en estos reguladores se establecieron 11 tratamientos. Para *Selenicereus megalanthus* Haw el mejor tratamiento para la generación de brotes fue 0.1mg L⁻¹ ANA más 1 mg L⁻¹ BA, y de brotes con raíz 1.0 mg. L⁻¹ 2iP.

De acuerdo con Ruíz (2009) quien realizó un estudio en el cultivo de pitahaya

roja y amarilla, el cual efectuó la multiplicación estudio las fases de multiplicación, enraizamiento, climatización y el trasplante en el cultivo de pitahaya (*Hylocereus undatus Britton et Rose*) cultivar Chocoya. El ensayo que desarrollo en 4 fases: Multiplicación con efecto de 9 medios de cultivo y tipo de explantes (apical, central y basal).

2.2 Bases teóricas

La pitahaya amarilla (***Selenicereus megalanthus Haw***) es una cactácea, la cual tiene la capacidad para restablecerse demográficamente en un área perturbada, aunque esta habilidad sea limitada. Su crecimiento natural es bastante lento, por lo tanto, gracias a las técnicas que se emplean en la biotecnología como la micro propagación in vitro, se podría propagar de manera rápida y masiva, lo que implicaría una alternativa potencial para las cactáceas (Pérez, 2011).

Caetano Nunes, Escobar y Caetano (2014) mencionan que las pitahayas amarillas se propagan por estacas (cladodios) y de forma natural por semillas diseminadas por aves y otros animales. A nivel comercial, la propagación sexual no es recomendable, ya que durante el semillero vegetativo las plántulas requieren de mantenimiento minucioso y tardan entre 4 y 6 años para alcanzar su etapa reproductiva.

De acuerdo con Perea et al., (2014), “Los sistemas *in vitro* permiten establecer estrategias para incrementar la producción y la rentabilidad de las especies que se propagan vegetativamente, así como para lograr la eficiencia de las plantas en cultivos agrónomicamente importantes”.

Según Avalos (2010), se han desarrollado diversos sistemas de propagación masiva *in vitro* a través del establecimiento de los tejidos en medios de cultivo suplementados basados en tratamientos con diversos reguladores de crecimiento vegetal: Cinetina (CIN), Isopentiladenina (2iP), TDZ, Mt y Bencilaminopurina BA: donde se evaluaron el tipo y la concentración óptima de citocinina para la generación de brotes.

De acuerdo con Caetano (2012), para el procedimiento de desinfección previa de explantes de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw), se debe utilizar la secuencia de lavados con detergente Tween 20 al 1% por 10 minutos, y agua destilada por 1 minuto, alcohol etílico al 70 % por 1 minuto, agua destilada por 1 minuto, hipoclorito de sodio al 3% por 10 minutos, agua destilada por 1 minuto.

Según Aguilar (2015) no se ha llegado a conocer una técnica de propagación que sea idónea para la obtención de un sistema radicular abundante para la planta, y que sea de buena calidad, lo cual incide en un bajo rendimiento en la producción y la vida útil de las plantas, sin embargo la implementación de la infraestructura necesaria para el cultivo, en lo que respecta a tutores, riego, etc., asciende a 25.000 dólares por hectárea según la empresa PITASOL, sin embargo el costo de la fuente y su calidad lo hacen un cultivo no rentable y valorada en el mercado internacional.

2.2.1 Origen

Su origen no está bien definido, pero se encuentra distribuida por América Central en donde tiene su principal desarrollo en Nicaragua y Costa Rica. En América de sur la encontramos en Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela. También la podemos encontrar en forma natural en los bosques secos de

América. Esta planta ha sido introducida y cultivada en países de Medio Oriente y Asia como Israel, Vietnam y Malasia (Vite, 2014).

2.2.2 Taxonomía

Nombre común: Pitahaya amarilla (Morán, 2014)

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex Takht.

Superorden: Caryophyllanae Takht.

Orden: Caryophyllales Juss. ex Bercht & J. Presl

Familia: Cactaceae Juss.

Género: *Selenicereus* (A. Berger) Britton & Rose

Especie: *megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran 1953

2.2.3 Morfología

2.2.3.1. Raíces

Posee un sistema de raíces fibrosas, con dos o más raíces gruesas, que dan origen a las raíces secundarias, las cuales se desarrollan con mayor vigorosidad en presencia de material vegetal en descomposición, donde pueden llegar hasta los cuatro metros del tallo, desarrollándose entre la capa orgánica y el suelo. En suelos arenosos llega a ocupar un espacio de 30-40 cm alrededor del tallo y una profundidad de 30 cm (Kondo et al., 2013).

2.2.3.2. Tallos

Desde el punto de vista botánico se le dice cladodios a los tallos que realizan fotosíntesis sustituyendo a las hojas, estos se caracterizan por presentar formas aplanados. El grosor puede variar de desde los 4 a 10 cm, dependiendo de la

exposición a la luz, desarrollo de la planta y del clima. Otra de las características es que presentan tres costillas o aristas en las que se encuentran las areolas que son características exclusivas de las cactáceas. Sobre las areolas crecen las espinas que pueden estar presentes en número de dos o tres (Suárez Morán, 2011).

2.2.3.3. Flores

Son típicas de este género, realizan la antesis en la noche y se cierran en las horas de la mañana, su fragancia aumenta con el pasar de las horas. La longitud varía entre los 30 y 40 cm y presentan abundantes protuberancias y brácteas, en cuya base nacen espinas largas. Del extremo nacen los sépalos de color amarillo y los pétalos blancos. Presentan ovario ínfero con gran cantidad de estambres (más de 300) y un estigma con múltiples divisiones (Medina et al., 2013).

2.2.3.4. Fruto

El peso del fruto, diámetro y longitud varía entre los 70 y 390 gr, 45 a 90 mm y 80 y 140 mm. Respectivamente el fruto presenta una cascara gruesa, la cual representa entre el 46 y 55% del peso total. El fruto es una baya de color amarillo con protuberancias de nombre mamillas. Tienen un gran número de semillas de color negro (Alvarado J. , 2014).

2.2.3.5. Semilla

Las semillas tienen una longitud de 2 a 4mm. Aproximadamente presentan una tonalidad café oscura pero cuando el fruto está totalmente maduro adquiere un

color negro mate. Cada fruto contiene alrededor de 650 semillas distribuidas por todo el fruto (ICA, 2012).

2.2.3.6. Requerimientos de clima

INTA (2014), menciona que los requerimientos de clima del cultivo de pitahaya son:

Temperatura: El rango de temperatura dentro del que se adapta la pitahaya oscila entre 28°C y 30°C, siendo 29°C la temperatura óptima para su desarrollo vegetativo y reproductivo (Jimenez et al., 2017).

Precipitación: Durante la floración requiere lluvias moderadas, altas precipitaciones causan la caída de flores. Se considera que las precipitaciones óptimas están entre 500 a 700 mm/año (Sánchez et al., 2014).

Altura: La pitahaya crece adecuadamente desde el nivel del mar hasta los 800 msnm (Saltos Guale, 2015).

Luz: Para su óptimo desarrollo requiere de altos niveles de fotosíntesis. Se ha comprobado que la exposición solar es esencial para el desarrollo de los procesos fisiológicos, excesivos periodos de sombra reducen significativamente los rendimientos de este cultivo (Infoagro, 2015).

2.2.3.7. Cosecha y post cosecha

Los frutos se cosechan cuando comienzan a “pintar” y se dejan madurar a la sombra, en un lugar seguro, para preservarlos del daño ocasionado por pájaros y roedores. En la cosecha se debe usar tijeras de podar bien afiladas para no lesionar la base de los frutos (Vásquez, y otros, 2016) (p.3).

En ambiente natural, el fruto recién maduro dura de cinco a seis días, y el que se cosecha “pinto” aproximadamente, se conserva ocho días. Los frutos sazones con madurez fisiológica tienen un periodo de conservación de nueve a once días (Alvarado, 2014).

Los frutos cortados verdes o pintos y conservados en temperatura de 10-12°C, adquiere lentamente su madurez. Sin embargo, el color rojo de la cáscara no es tan intenso, pero el color de la pulpa y la palatabilidad no es afectado. Durante

la cosecha, colecta y manejo correcto de los frutos es importante conocer algunas características directamente relacionadas con las fases de maduración y corte de los mismos, además del manejo pos cosecha, especialmente si es para exportación (Castro Mora).

La cosecha debe realizarse de forma y los cortes mediante el uso de tijeras de podar se realiza el corte desde la vaina sin dañar el fruto, su recolección debe ser en cubetas plásticas eliminando las espinas que se encuentran presentes con un cepillo de cerdas duras, lo que implica que esta actividad se realice de forma delicada para evitar lesiones y reduciendo los riesgos de contaminación, también es importante recordar la desinfección de ropa y de las herramientas de recolección; la misma que se realiza cuando el fruto tiene sus $\frac{3}{4}$ partes de tonalidad amarilla así no sufre mientras se transporta (Guerrero, 2014).

Las épocas de cosecha que son significativas en las plantas de Pitahaya amarilla son en los meses de enero – abril, junio – agosto y octubre – diciembre, pero su precio varía si la temporada es alta o baja. La cosecha se realiza 18 meses después del trasplante, en el quinto o sexto año la plantación alcanza un promedio de 10 toneladas de producción por hectárea con una densidad de 1100 plantas/ha (Andrade y Vaca, 2016).

El tratamiento post cosecha de pitahaya amarilla abarca las operaciones técnicas como la recepción, clasificación, corte del pedúnculo, limpieza, desinfección, secado, tratamiento post cosecha. Al llegar de campo las frutas se pesan y almacenan en áreas refrigeradas a temperaturas de 10 – 12 °C, después

se van clasificando las frutas que presentan daños (causado por patógenos, daños mecánicos al momento de su transporte o por manchas), una vez clasificadas se procede a eliminar el pedúnculo y se procede a ordenar la fruta por peso y color, a continuación se colocan las frutas en tinas con para cepillarlas eliminando así las impurezas del exterior, continuando con la limpieza se sumergen en una solución de Mertec al 0,1% durante un tiempo estimado de 1 minuto, también pueden usarse ácidos orgánicos (ácido cítrico, tartárico y láctico), posteriormente se colocan las frutas sobre mesas con ventilación para que la solución escurra y se elimine el exceso de humedad. Para una mayor vida útil de la fruta se aplican tratamientos como: pre-friamiento, almacenamiento controlando la temperatura, la humedad relativa, atmósferas modificadas y recubrimientos comestibles (Paredes Bautista, 2014).

2.2.3.8. Costos de producción

“El cultivo de pitahaya, en general, tiene un costo de inversión de 25 mil dólares por hectárea para un cultivo tecnificado” (Delgado, 2015).

Al iniciar todo este proceso, la construcción de los tutores de cemento tiene un precio de \$12,00 c/u, los mismos pueden tener una duración de unos 50 años aproximadamente, o también se puede usar de plástico reciclado relleno de cemento, con un tiempo de vida útil de 100 años, y el costo de este material es de \$7,00 c/u (Castañeda X. , 2015).

La primera producción se da a los 18 meses y a los tres años obtenemos 100 frutas por plantas casi todo el año. En este punto es donde se empieza a

estabilizar la inversión a un peso por fruta de casi 600 gramos con una rentabilidad de casi \$30.000 al año por hectárea. El kilo de pitahaya (3 unidades) tiene un precio de \$3,50 pero este precio depende de la temporada, ya que kilo de esta fruta puede llegar a costar en un supermercado unos \$4,30, dependiendo del tratamiento de higiene y limpieza de impurezas, para luego ser presentada al consumidor (Castañeda C. , 2015).

2.2.3.9. Cultivo *in vitro*

Cuando se desea multiplicar una planta para mantener sus características, se debe utilizar la propagación por vía vegetativa, siendo la estaquia y la injerta las formas más utilizadas. También se puede realizar la propagación *in vitro*, siendo indicado en ocasiones cuando el material vegetativo que se desea multiplicar es muy escaso y de gran importancia, ya que es un método relativamente caro y que necesita una estructura especializada, pudiendo ser un método útil para la conservación de germoplasma (Castro Correia da Silva, 2014).

La expresión cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial, esta forma de cultivar se caracteriza por la asepsia y el control de los factores que afectan el crecimiento. El avance alcanzado por las ciencias biológicas ha permitido en los últimos años el estudio detallado de las plantas tanto a nivel celular como molecular, y en condiciones de laboratorio es posible actualmente reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Castillo I. , 2010).

La micro propagación y propagación vegetativa permiten emplear técnicas de selección y mejoramiento de las características favorables de estas plantas por medio de la selección clonal (Vegas, y otros, 2015).

Las características que pueden mejorarse cubren un amplio rango de posibilidades; por ejemplo, la resistencia de las plantas a las variaciones de temperatura, la sequía, a crecer en suelos pobres o con características desfavorables, como acidez o alcalinidad excesiva, salinidad alta o saturación de humedad. Es posible conseguir mediante propagación asexual, plantas con características semejantes a uno de los padres, a los dos o a ninguno de ellos, generando materia con características diversas, y luego seleccionar aquellos con características deseadas (Hernández, 2010).

Según Jamilah et al. (2011), los diversos trabajos desarrollados con el objetivo de mejorar las especies de pitahaya, son de gran importancia pues, de ellos puede resultar una selección de materiales más vigorosos, productivos y con frutos de mejor calidad que los disponibles actualmente. De esta forma a partir de trabajos *in vitro* se pueden seleccionar características favorables para la especie en cuestión.

La principal ventaja de esta técnica estriba en la multiplicación rápida de material clonal libre de enfermedades. Esta característica ha servido para introducir rápidamente en el mercado nuevas variedades de plantas obtenidas mediante selección, mutación, programas de mejora o manipulación genética (Cañal et al., 2001).

2.2.3.9.1 Pasos necesarios para generar plantas a partir de ex plantas aislados.

“En los protocolos utilizados durante el cultivo *in vitro* se pueden distinguir las siguientes etapas”. (Segretín, 2006).

- a. **Elección de la planta** y/o tejido donante de ex plantas.
- b. **Establecimiento**, que consiste en la desinfección de los explantes (generalmente con hipoclorito de sodio) y su posterior adaptación al medio artificial de modo de inducir callo, brote, raíz o embrión somático según se desee (Montesinos et al., 2015).
- c. **Multipliación**, para generar una masa vegetal suficiente para la regeneración del número de plantas necesarias (Suárez R. , Caetano, Ramírez, y Morales, 2014).
- d. **Enraizamiento**, en la que se busca la formación de raíces con el fin de convertir los brotes o embriones somáticos en plántulas completas (Veliz, 2017).
- e. **Climatización**, que es el pase de las plántulas obtenidas *in vitro* a las condiciones ambientales *ex vitro* (suelo o algún sustrato inerte) (Gil et al., 2017).

2.2.3.9.2 Contaminación en la micro propagación.

La contaminación por microorganismos continúa siendo hoy día, uno de los principales problemas para los micro propagadores de plantas en el mundo. Por esta razón, las pérdidas en el cultivo de tejidos de numerosas especies son

cuantiosas, lo cual hace económicamente ineficientes muchos procesos (Montiel , 2017).

Entre los microorganismos frecuentemente aislados como contaminantes, se menciona a los hongos filamentosos, las bacterias y las levaduras (Alvarado Capó, 2008).

2.2.3.10. Medio de cultivo MS (Murashige & Skoog)

El medio MS (Murashige & Skoog, 1962) es el más utilizado para la micropropagación de muchas especies vegetales, obteniendo un 50% de adaptación ya que presenta una concentración iónica alta y las concentraciones de nitrógeno, potasio, zinc son más elevadas en comparación a otros medios de cultivo (Rodriguez et al., 2014).

Este medio está formado por macro elementos, micro elementos, agua, sales inorgánicas, fuente de carbono, fuente de energía, vitaminas, y sustancias reguladoras de crecimientos estos elementos son esenciales para la formación del medio, también hay elementos que son opcionales como aminoácidos, amidas y ácidos orgánicos (Chocaca, 2017).

2.2.3.11. Reguladores de crecimiento

2.2.3.11.1 ANA

El ANA (ácido naftalenacético) es una auxina sintética que es utilizada con frecuencia para estimular la formación de raíces adventicias, el ANA se utiliza por que no se degrada con facilidad ante las enzimas naturales propias de las plantas ni por los microorganismos (Basantes Mantilla, 2011).

2.2.3.11.2 BAP

El BAP (6- bencilaminopurina) es una citocinina que se utiliza con frecuencia en la propagación in vitro puede ser empleada con auxinas o cinetinas. Las citocininas son importantes para la propagación vegetal de organogénesis pero cada citocinina tiene una diferencia en su concentración para el desarrollo de los brotes (Quiala Mendoza, 2012).

2.2.3.11.3 CINETINA

Es una citocinina que se usa con frecuencia en la siembra in vitro para promover la división celular, en la formación de callo. La cinetina es producto de la degradación térmica de los ADN que no están presentes en las plantas (Albadalejo et al.).

2.2.3.11.3 Prueba de KOH

KOH “es la abreviatura de hidróxido de potasio, la solución que se utiliza en la prueba. Es una fórmula que ayuda al diagnóstico y detección de bacterias Gram negativas, micosis, entre otros” (Cores y Scarzella, 2016).

2.3 Marco legal

De acuerdo con el Título II Derechos en su Capítulo Segundo Derechos del buen vivir; Sección Primera Agua y Alimentación en su Art. 13 de la Constitución del Ecuador (2008) menciona que: Las personas y colectividades tienen derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales. El Estado ecuatoriano promoverá la soberanía alimentaria.

De acuerdo con el Título VI Régimen de Desarrollo en el Capítulo Tercero Soberanía Alimentaria del Art. 281 de la Constitución (2008) en el ítem N° 9 nos menciona que se debe regular bajo normas de bioseguridad el uso y desarrollo de biotecnología, así como su experimentación, uso y comercialización.

Conforme con la Constitución (2008) en el Título VII Régimen del Buen Vivir en el Capítulo Primero Inclusión y equidad en la Sección Octava Ciencia, tecnología, innovación y saberes ancestrales nos dice en su Art. 388 que El

Estado destinará los recursos necesarios para la investigación científica, el desarrollo tecnológico, la innovación, la formación científica, la recuperación y desarrollo de saberes ancestrales y la difusión del conocimiento. Un porcentaje de estos recursos se destinará a financiar proyectos mediante fondos concursables. Las organizaciones que reciban fondos públicos estarán sujetas a la rendición de cuentas y al control estatal respectivo.

Según la Constitución (2008) en el Título VII Régimen del Buen Vivir en el Capítulo Segundo de Biodiversidad y recursos naturales en su sección segunda de Biodiversidad nos dice en su Art. 400.- El Estado ejercerá la soberanía sobre la biodiversidad, cuya administración y gestión se realizará con responsabilidad intergeneracional. Se declara de interés público la conservación de la biodiversidad y todos sus componentes, en particular la biodiversidad agrícola y silvestre y el patrimonio genético del país.

Conforme con la Constitución (2008) en el Título VII Régimen del Buen Vivir en el Capítulo Segundo Biodiversidad y recursos naturales en la Sección Segunda Biodiversidad en su Art. 401 nos dice que: Se declara al Ecuador libre de cultivos y semillas transgénicas. Excepcionalmente, y sólo en caso de interés nacional debidamente fundamentado por la Presidencia de la República y aprobado por la Asamblea Nacional, se podrán introducir semillas y cultivos genéticamente modificados. El Estado regulará bajo estrictas normas de bioseguridad, el uso y el desarrollo de la biotecnología moderna y sus productos, así como su experimentación, uso y comercialización. Se prohíbe la aplicación de biotecnologías riesgosas o experimentales.

3. Materiales y métodos

3.1 Enfoque de la investigación

3.1.1 Tipo de investigación

Los datos utilizados en esta investigación tuvieron la modalidad experimental y el área donde se trabajó fue en el laboratorio de Biotecnología de la Universidad Agraria del Ecuador.

Esta investigación fue de tipo descriptiva, explicativa y las metodologías utilizadas en la fase experimental fueron de tipo hipotético, deductivo, analítico y observación científica.

3.1.2 Diseño de investigación

- **Investigación experimental:** En la presente investigación se utilizaron diferentes variables independientes, que determinaron qué efecto tuvieron sobre las variables dependientes.
- **Investigación descriptiva:** Esta investigación permitió obtener datos que se analizaron en el transcurso de la misma, con el fin de obtener resultados significativos y obtener una relación entre las variables.
- **Investigación explicativa:** Se explicó con detalle cualquier suceso determinado durante la investigación.

3.2 Metodología

3.2.1 Variables

3.2.1.1 Variable independiente

Medios de cultivos.

3.2.1.2 Variable dependiente

- **Fase de Iniciación:** Porcentaje de Brotación (PB)
- **Fase de Multiplicación:** Coeficiente de Multiplicación (CM)

- **Fase de enraizamiento:** Porcentaje de enraizamiento (PE)

3.2.2 Tratamientos

Las plantas madres de 1m aproximadamente luego de ser recolectadas en el campo se sembraron en fundas negras con 1 kilo de tierra por cuatro meses para la obtención de nuevos brotes, y se colocaron en condiciones de luz al aire libre en condiciones de campo.

Dentro de una cámara de flujo laminar estos brotes (1 a 5 cm), fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 3%, seguido de alcohol al 70% y luego con ADE tres veces por 5'.

Se disertaron un corte transversal, dejando a los explantes de 1cm. Luego, se los colocó en frascos de vidrio 4cm de altura con 4cm de diámetro, que contenían 25 ml de los diferentes medios de cultivo en estudio y se mantuvieron 45 días en condiciones de asepsia (12 horas luz y 12 horas de oscuridad).

Tabla 1. Descripción de los tratamientos a utilizar en la iniciación de tallos de Pitahaya amarilla.

No. Tratamiento	Descripción
1	MS + BAP (1 mg.L ⁻¹)
2	MS + BAP (3 mg.L ⁻¹) + ANA (0,1 mg.L ⁻¹)
3	MS + BAP (2 mg.L ⁻¹) + K (2 mg.L ⁻¹)

González, 2018.

En la fase de iniciación se determinó mediante el cálculo del porcentaje de brotación. Además, se evaluó el porcentaje de contaminación en las siembras iniciales.

Para determinar la presencia de *Pectobacterium carotovora* en los explantes iniciales, se utilizó la prueba del KOH (Hidróxido de potasio), para detectar estas

bacterias Gram negativas, la cuál es el agente casual de la pudrición blanda del tallo, la más importante en el control fitosanitario.

Los brotes que sobrevivieron en esta fase fueron utilizados para la fase de multiplicación. En esta fase también se experimentó con tres medios de cultivos y uno de ellos escogido de la fase de iniciación.

Para la fase de multiplicación de la misma manera se utilizó la cámara de flujo laminar. Se tomaron los explantes y se disertaron en secciones de 1 cm, que inducirá las yemas axilares para volverlos a sembrar en los nuevos medios a probar, dichos explantes se mantuvieron por 45 días a 12 horas luz.

Tabla 2 Descripción de los tratamientos utilizados para la fase de multiplicación.

No. Tratamiento	Descripción
1	MS + BAP (2 mg.L ⁻¹) + K (2 mg.L ⁻¹)
2	MS + BAP (4 mg.L ⁻¹) + K (4 mg.L ⁻¹)
3	MS + K (8 mg.L ⁻¹)

González, 2018

De la misma manera para la fase de enraizamiento se utilizaron explantes (tallos) *in vitro* de ± 0,5 cm y se implementaron tres medios diferentes para comprobar el medio más eficiente para dicha fase.

Tabla 3. Descripción de los tratamientos a utilizar en el enraizamiento de brotes de Pitahaya amarilla.

No. Tratamiento	Descripción
1	MS (100%)
2	½ MS (50%)
3	MS + ANA (0,5 mg.L ⁻¹)

González, (2018)

3.2.3 Diseño experimental

En la fase de iniciación al pasar los 45 días se aplicó el diseño experimental completamente al azar de tres tratamientos con 10 repeticiones cada uno y se evaluaron las variables con el método de Kruskall Wallis con el 5% de error, debido a las características de los datos los cuales son no paramétricos por eso utilice el método ya mencionado.

En la fase de multiplicación se utilizó la fórmula de coeficiente de multiplicación con tres tratamientos y 5 repeticiones cada uno y se evaluaron las variables con la fórmula de coeficiente de multiplicación.

$$CM = \frac{N^{\circ} \text{ de brotes totales}}{N^{\circ} \text{ de brotes iniciales}}$$

En la fase de enraizamiento se utilizó el diseño experimental completamente al azar de tres tratamientos con 5 repeticiones cada uno, por sus características no paramétricas las variables se evaluaron con el método de Kruskall Wallis con el 5% de error.

3.2.4 Recolección de datos

3.2.4.1 Recursos

- **Materiales y herramientas:** Se utilizaron vasos de precipitación, frascos de vidrio, bisturí, pinzas, papel aluminio, papel filtro, servilletas, alcohol, cloro, agua destilada.
- **Material experimental:** Tallos de pitahaya amarilla, medios de cultivos.
- **Recursos humanos:** Tesista, Tutor.
- **Recursos económicos:** El trabajo fue financiado por recursos propios del Tesista y la Universidad Agraria del Ecuador.

Tabla 4. Valoración económica del proyecto.

Materiales	Cantidad	Costo unitario	Costo total
Tallos de Pitahaya	10	\$2,25	\$22,50
Medios de cultivos	1	\$200,00	\$200,00
Caja de hojas de bisturí	1	\$7,00	\$7,00
Papel aluminio	1	\$5,00	\$5,00
Rollo de papel absorbente	1	\$2,60	\$2,60
Frascos de vidrio	30	\$1,65	\$49,50
Bolsas plásticas	10	\$0,05	\$0,50
Alcohol	1	\$2,30	\$2,30
Pinzas	2	\$1,20	\$2,40
Cloro	1	\$2,10	\$2,10
Total	58	-	\$293,90

González, 2020

3.2.4.2 Métodos y técnicas

- **Método inductivo:** Este método permitió observar los resultados obtenidos con la finalidad de cumplir los objetivos e hipótesis planteadas.
- **Método deductivo:** Permitted observar casos particulares de la investigación a través de principios, teorías y leyes.
- **Método sintético:** Permitted establecer y relacionar los resultados para construir la discusión, conclusiones relacionadas bajo la perspectiva de totalidad de la investigación.

3.2.5 Análisis estadístico

3.2.5.1. Análisis funcional

Para la comprobación experimental se realizó el análisis no paramétrico de Kruskal Wallis.

3.2.5.2. Esquema del análisis no paramétrico (Kruskal Wallis)

$$H = \frac{12}{N(N+1)} \sum_{i=1}^k \frac{R_i^2}{n_i} - 3(N+1)$$

3.2.5.3. Hipótesis estadísticas

Ho: Ninguno de los tratamientos será adecuado para la iniciación, multiplicación y enraizamiento de los tallos.

Ha: Por lo menos uno de los tratamientos será el más adecuado para la iniciación, multiplicación y enraizamiento de los tallos.

3.2.5.4. Delimitación experimental

Tabla 5. Ensayo para la iniciación *in vitro* de tallos de Pitahaya amarilla.

Variable	Descripción
Tipo de Siembra - <i>In vitro</i>	
Número de tratamientos	3
Número de Repeticiones	10
Número de unidades experimentales	30
Siembra después de almacenamiento	
González, 2018	

Tabla 6. Ensayo para la multiplicación *in vitro* de tallos de Pitahaya amarilla

Variable	Descripción
Tipo de Siembra - <i>In vitro</i>	
Número de tratamientos	3
Número de Repeticiones	5
Número de unidades experimentales	15
González, 2018	

Tabla 7. Ensayo para el enraizamiento *in vitro* de tallos de Pitahaya amarilla.

Variable	Descripción
Tipo de Siembra - <i>In vitro</i>	
Número de tratamientos	3
Número de Repeticiones	5
Número de unidades experimentales	15

González, 2018

3.2.5.5. Manejo de ensayo

- **Selección, recolección y propagación de las plantas madres**

Los tallos de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus Haw*), de 12 años de edad, fueron recolectados en la finca “Las garzas” ubicada en la comuna Limoncito (Figura 1). Estas plantas se encontraban en campo abierto; la producción de dicha finca es utilizada para la exportación al mercado de Estados Unidos de América, por lo cual recibían tratamientos fitosanitarios y fertilizaciones.

La recolección de material vegetal se llevó a cabo en horas de la mañana, del mes de septiembre del 2018. Se escogieron 10 tallos al azar tomando en cuenta los que ya hayan fructificado con un tamaño de 1m aproximadamente.

Una vez recolectados se trasladaron a la ciudad de Guayaquil, en donde se procedió a cortar 5 cm para dejar la nervadura central limpia en la parte basal y proceder a sembrarlas en fundas de polietileno en las cuales permanecieron por cuatro meses hasta que los tallos dieran nuevos brotes, los cuales fueron utilizados para el presente trabajo.

- **Material genético:** Pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus Haw*).

- **Riego:** Se realizó riego constante para que el tallo logaran enraizar y formar brotes; una vez que los tallos lograron enraizar comenzaron a salir los brotes que se utilizó para el presente estudio.
- **Medios de cultivo:** En la fase de iniciación se utilizaron tres tipos de medios de cultivo MS suplementado con BAP y Cinetina. Los medios utilizados en esta fase tenían un pH 5.8; fueron esterilizados en la autoclave durante 20 minutos. Los cultivos se mantuvieron por 45 días y con un fotoperiodo de 12 horas luz. La fase de multiplicación se realizó con medios de cultivo formado por MS complementados con BAP y Cinetina. Y en la fase de enraizamiento MS y ANA.
- **Toma de muestra:** Los brotes para el estudio fueron tomados de los tallos recolectados en Limoncito.

3.2.5.6. Variables a evaluarse

Fase de Iniciación

- **Porcentaje de Brotación (PB):** Se realizaron observaciones de los tallos introducidos al proceso de iniciación a los 30 – 45 días.

Fase de Multiplicación

- **Porcentaje de Multiplicación (PM):** Se realizó observaciones de los tallos introducidos al proceso de iniciación a los 30 – 45 días.

Fase de Enraizamiento

- **Porcentaje de Enraizamiento (PE):** Se obtuvo los datos de enraizamiento de los brotes *in vitro* a los 30 días después de la siembra.

4. Resultados

4.1 Selección de tallos idóneos que sirvan de material parental para la reproducción en laboratorio.

La selección de tallos se realizó junto con los trabajadores que estaban cosechando la fruta el día de la recolección. Se procedió a cortar desde la base del tallo dejando 5 cm expuesta la nervadura central por 5 días. Al pasar estos días se colocaron en fundas de polietileno de 1 kilo con tierra de siembra esterilizada y se las ubicaron en un lugar donde tenían 12 horas de luz para su desarrollo. Los tallos permanecieron por 4 meses, luego de ese tiempo los brotes nuevos fueron utilizados para el estudio teniendo un tamaño de 1cm a 5 cm.

4.2 Determinar los medios de cultivo idóneos para la fase de iniciación y multiplicación de tallos de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw).

4.2.1 Desinfección de explantes

A los 45 días hubo una gran pérdida de explantes en dos de los medios en estudio debido a los explantes iniciales.

Tabla 8. Contaminación de explantes en la fase de iniciación.

	Variables	Contaminación (%)	# de explantes contaminados	Promedio contaminación por bacterias	Promedio contaminación por hongos
T1	MS + BAP (1 mg.L -1)	93,33	28	21	7
T2	MS + BAP (3 mg.L -1) + ANA (0,1 mg. L -1)	80,00	24	4	20
T3	MS + BAP (2 mg.L -1) + K (2 mg. L -1))	40,00	12	5	7
	Promedio	71,11	21.33	10	11,33

González, 2020

Como se puede apreciar en la tabla 9, el promedio de contaminación de los explantes en la fase de iniciación fue 71,11. La contaminación de los explantes en

estudio se pudo dar de manera interna es decir viene directamente del mismo explante o externa como una deficiente desinfección de los brotes aun cuando se utilizó cloro al 3% del ingrediente activo. Podemos observar en la figura 2 la contaminación que afectó a los explantes en la fase de iniciación.



Figura 1. Contaminación de explantes (brotes) por hongos y bacterias

En la tabla 9, podemos observar los promedios de contaminación por bacterias y hongos fueron altos. Al realizar la prueba KOH, en las bacterias presentes no se observó el hilo correspondiente a la presencia de bacterias Gram negativas como la *Pectobacterium*; Esta bacteria tiene gran importancia en el cultivo de pitahaya. Por lo cual se descarta la presencia de dicha bacteria, pero se obtuvo otro tipo de bacteria y hongos que produjeron daños en los explantes.

4.2.2 Fase de iniciación

4.2.2.1. Porcentaje de brotación (PB)

Tabla 9. Porcentaje de brotación de los tres medios en estudio en la fase de iniciación.

Variables	N	Medias (%)	E.E.	H	P
T1 MS + BAP (1 mg.L -1)	10	6,60	13,91	9,65	0,0026
T2 MS + BAP (3 mg.L -1) + ANA (0,1 mg. L -1)	10	20,00	42,16		
T3 MS + BAP (2 mg.L -1) + K (2 mg. L -1))	10	60,00	34,54		

González, 2020

Según el resultado estadístico con la prueba de Kruskal Wallis de la tabla 7, en referencia al porcentaje de brotación de los tres medios en estudio, indica que existe una diferencia significativa entre los tratamientos, dando con un valor mayor al tratamiento T3 (MS + BAP (2 mg.L -1) + K (2 mg. L -1)), con 60% de brotación, seguido con el T2 (MS + BAP (3 mg.L -1) + ANA (0,1 mg. L -1) con un 20% de brotación y con un porcentaje menor el T1 (MS + BAP (1 mg.L -1)) con 6,60%.

Una vez definido el medio más eficiente en la fase de iniciación se realizó otra siembra en la cual se utilizó 2 brotes en cada frasco, dando un total de 20 explantes.

Luego de haber realizado la comparación de los tres tratamientos en la fase de iniciación, se escogió el T3 para realizar un reciclaje y se obtuvo el 80% de brotación, lo que permitió continuar con la fase de multiplicación en los brotes obtenidos. Todo lo mencionado también lo podemos observar en la figura 3.

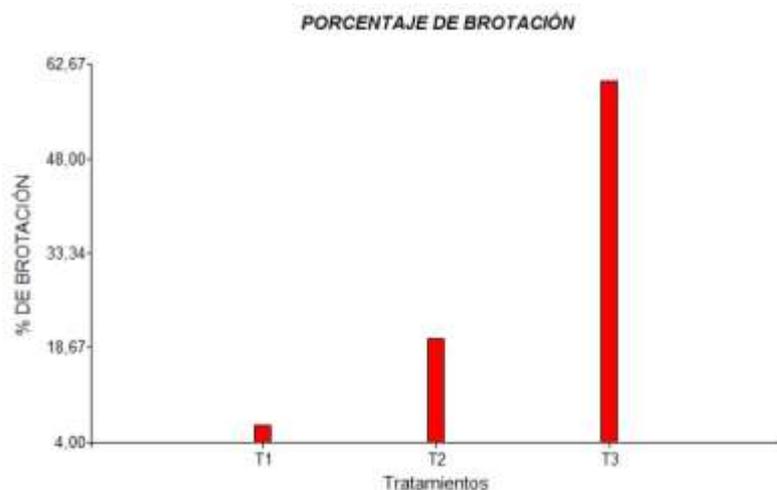


Figura 2. Porcentaje de brotación en la fase de iniciación. González, 2020

4.2.3 Fase de multiplicación

4.2.3.1. Coeficiente de multiplicación (CM)

Como refleja la tabla 11, el mejor tratamiento para la multiplicación de explantes de pitahaya amarilla es el T3, dando un CM de 1.8, seguido por el T2 con 1.6 y por último el T1 con 1.2 siendo el medio que menos brotes de multiplicación tuvo, lo que significa que se logró duplicar el número de brotes con este medio a los 45 días después de la siembra.

Tabla 10. Coeficiente de multiplicación de los tratamientos en estudio.

	Variables	N° de brotes iniciales	N° de brotes totales	Coeficiente de multiplicación
T1	MS + BAP (2 mg.L-1) + K (2 mg.L-1)	5	6	1.2
T2	MS + BAP (4 mg.L-1) + K (4 mg.L-1)	5	8	1.6
T3	MS + K (8 mg.L-1)	5	9	1.8
Total		15		

González, 2020

En la figura 3, se puede observar los nuevos brotes obtenidos en la fase de multiplicación, los mismos que fueron utilizados para la fase de enraizamiento.



Figura 3. Obtención de nuevos brotes en laboratorio.
González, 2020

El promedio de contaminación del presente estudio en esta fase fue de 26,67. Se puede observar en la tabla 11, que los tratamientos tuvieron una contaminación baja.

Tabla 11. Promedio de contaminación en la fase de multiplicación.

	Variables	Contaminación (%)
T1	MS + BAP (2 mg.L-1) + K (2 mg.L-1)	20,00
T2	MS + BAP (4 mg.L-1) + K (4 mg.L-1)	40,00
T3	MS + K (8 mg.L-1)	20,00
Promedio		26,67

González, 2020

4.3 Analizar el mejor medio de cultivo para el enraizamiento *in vitro* de los tallos de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw).

4.3.1. Porcentaje de enraizamiento

Según el análisis estadístico con la prueba de Kruskal Wallis de la tabla 13, en referencia al porcentaje de enraizamiento de los tres medios en estudio en esta fase de enraizamiento, indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, predominando el T1 con 60% de enraizamiento, seguido con el 40%

de los T2 y T3 que tuvieron el mismo porcentaje. Podemos observar los resultados gráficamente en la figura 4.

Tabla 12. Porcentaje de enraizamiento de los tres medios en la fase de enraizamiento.

	Variables	N	Medias (%)	E.E.	H	P
T1	MS (100%)	5	60,00	0,00	1,50	>0,9999
T2	MS (50%)	5	40,00	0,00		
T3	MS + ANA (0,5 mg.L ⁻¹)	5	40,00	0,00		

González, 2020.

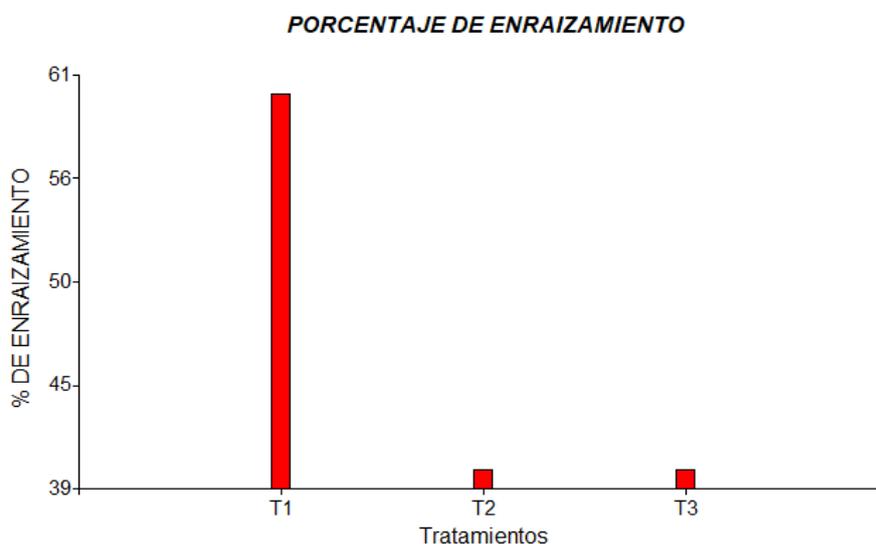


Figura 4. Porcentaje de enraizamiento.
González, 2020

4.3.2. Promedio de contaminación

Como se demuestra en la tabla 13; respecto a la contaminación en esta fase hubo un promedio de 53,33.

Tabla 13 Porcentaje de contaminación de la fase de enraizamiento.

	Variables	Contaminación (%)
T1	MS (100%)	40,00
T2	MS (50%)	60,00
T3	MS + ANA (0,5 mg.L ⁻¹)	60,00
Promedio		53,33

González, 2020

5. Discusión

Tomando en cuenta los resultados obtenidos en esta investigación sobre la micro propagación *in vitro* de pitahaya amarilla (***Selenicereus megalanthus* Haw**).

Para la iniciación se utilizaron brotes nuevos obtenidos de plantas sembradas en fundas y conservadas en condiciones *ex vitro* en un vivero casero, lo cual permitió el mayor acceso a los explantes, cosecharlos y procesarlos a la manera inmediata.

En la desinfección de los explantes realizada en la fase de iniciación con NaClO al 3% seguido por alcohol al 70% y agua destilada esterilizada, tuvo como promedio de contaminación el valor 71,11; lo cual es un promedio muy alto perdiéndose una gran cantidad de explantes de pitahaya amarilla sobretodo en la época lluviosa. Estos resultados concuerdan con los obtenidos con Vásquez et al., (2012), quienes mencionan que para obtener un promedio de contaminación bajo se debe aumentar el porcentaje de NaClO para obtener una mejor asepsia.

Después de haber realizado el análisis estadístico; en la fase de iniciación, el medio de cultivo que tuvo mayor porcentaje de brotación fue el T3 (MS + BAP (2 mg. L⁻¹) + K (2 mg. L⁻¹)) con un 60% seguido por el T2 con 20% y el T1 con 6,60%; es decir que gracias al medio de cultivo del T3 se obtuvo mejor brotación en dicha fase. Por lo tanto, no hay concordancia con lo descrito por Zambrano et al., (2015), quienes realizaron la micropropagación con la misma especie y consideraron el mejor medio de cultivo el que contenía BAP entre 0,5 mg/L y 1,0 mg/L⁻¹, dando como resultados una mejor elongación y producción de brotes. Sin embargo, en nuestro estudio con el medio T1 (MS + BAP (1 mg. L⁻¹)), el porcentaje de brotación obtenido fue bajo en comparación de los tratamientos T2 y T3 en nuestro estudio.

De igual manera investigación Ruíz (2015), menciona en su estudio de micropropagación de pitahaya (*Hylocereus undatus Britton et Rose*), que el uso de BAP en los medios de cultivo favoreció significativamente en el número de brotes emitidos.

Además, Moreira y Sánchez (2017) evaluaron combinaciones de reguladores de crecimiento como thidiazuron (TDZ) con una dosis entre 1 a 5 mg.L⁻¹ de la misma manera bencil amino purina (BAP), ácido naftalenacético (ANA) con 0,5 mg.L⁻¹, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) entre 9 mg.L⁻¹ y Kinetina (KIN) de 4,6 mg.L⁻¹ en diferentes tipos de explantes en *H. ocamponis* y *H. triangularis*. Obtuvieron el 80% de brotación de explantes y mostraron una eficaz la formación de cladodios, callos y brotes. Sus resultados concuerdan con nuestro estudio.

En la fase de multiplicación, al comparar este medio de cultivo con los otros dos en la fase de multiplicación, se obtienen mejorar coeficiente de multiplicación, observándose que el MS + BAP (2 mg. L⁻¹) + K (2 mg. L⁻¹) fue de 1,2; seguido por MS + BAP (4 mg. L⁻¹) + K (4 mg. L⁻¹) y MS + K (8 mg. L⁻¹) con 1,6 y 1,8. Por lo tanto se considera que el medio de cultivo MS + K (8 mg. L⁻¹) Supera a los otros dos medios.

Montiel et al., (2016), mencionan en su estudio de micropropagación de *Hylocerus monacanthus*, escogieron segmentos y se implantaron en medios de cultivos MS con BAP (1.0, 2.0 y 4.0 mg l⁻¹) y AIA (0.5 mg l⁻¹) por separado y combinados para la fase de multiplicación, obtuvieron como resultado el 97% de multiplicación de los explantes en el medio combinado. Por ello concuerda con nuestra investigación ya que se obtuvo una mayor multiplicación en medio combinados con MS.

En la fase de enraizamiento el T1 (MS 100%), fue el medio en el cual los explantes tuvieron 60% de enraizamiento en comparación al T2 y T3 que tuvieron el 40% de enraizamiento. Estos resultados se asemejan al estudio Suárez et al., (2014), quienes utilizaron el medio de Murashige & Skoog (MS) para la propagación de pitahaya amarilla y roja, a dicho medio le suplementaron con auxina (ANA) y citocinina (BA) con una dosis 2mg.L; lo cual ayudo a que los explantes obtuvieran el 100% de sobrevivencia y enraizamiento. En nuestro caso la presencia de la auxina ANA no mejoro el % de enraizamiento.

6. Conclusiones

De acuerdo con los datos obtenidos en este trabajo se puede concluir lo siguiente:

La utilización de los brotes nuevos obtenidos de segmentos de tallos de vivero dio la posibilidad de lograr la fase de iniciación, ya que facilitó la obtención de los explantes.

En la fase de iniciación el medio de cultivo del T3 (MS + BAP (2 mg. L⁻¹) + K (2 mg. L⁻¹), influyo de manera positiva para la micro propagación de pitahaya amarilla, es decir que puede ser utilizada para propagar dicha especie, ya que al someter a los explantes de pitahaya amarilla a dicho tratamiento el porcentaje de brotación es alto, y bajo el procedimiento de disección empleada tiene un porcentaje de contaminación bajo especialmente en la época seca. Lo que permitió a los brotes crecer sin dificultad. Mientras que los T1 y T2 tuvieron porcentajes menores brotación.

En la fase de multiplicación el mejor tratamiento fue el T3 (MS + K (8 mg. L⁻¹)), que tuvo 1,8 de valor en el coeficiente de multiplicación, lo cual nos da a entender que dicho medio de cultivo puede ser utilizado para la multiplicación de brotes de cultivo en estudio.

En la fase de enraizamiento, el mejor medio de cultivo T1 (MS 100%) el cual tuvo mayor cantidad de explantes enraizados, seguido por los tratamientos T2 y T3. En estas dos últimas fases el porcentaje de contaminación fue nulo.

7. Recomendaciones

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos se sugiere:

Para reducir los porcentajes contaminación de los explantes que se introducen al laboratorio directamente del vivero, se recomienda la siembra en época seca.

Utilizar diferentes combinaciones y dosis de citocininas para estimular las yemas adventicias y aumentar el coeficiente de multiplicación.

Las plantas *in vitro* podrían ser acondicionadas en fundas y posteriormente evaluadas en campo.

8. Bibliografía

- Aguilar , G. (2015). Evaluación de tres enraizantes y dos tamaños de cladodios en la propagación asexual de pitahaya amarilla *Cereus triangularis* (L.) Haw. Recuperado el Julio de 2018, de Tesis de grado EN YANTZAZA.: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/10031/1/TESIS%20GABY%20AGUILAR.pdf>
- Albadalejo, M., Galindo, M., Martínez, O., y Cerezo, J. (s.f.). *Universidad Politécnica de Cartagena*. Recuperado el 2019, de <https://georgiusm.files.wordpress.com/2017/12/prc3a1cticas-de-fisiologc3ada-vegetal-crecimiento.pdf>
- Alvarado, Y. (2008). Control y prevención de la contaminación microbiana en la micropropagación de plantas. Recuperado el 17 de Agosto de 2018, de *Revista CENIC Ciencias Biológicas*: <https://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulo>
- Alvarado, J. (14 de Julio de 2014). Caracterización poscosecha de la calidad del fruto de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) y roja (*Hylocereus undatus*). Recuperado el Enero de 2020, de Tesis de grado: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/4747/1/ALVARADOJos%c3%a9Apolonio.pdf>
- Andrade, M., y Ruano, C. (2016). *Universidad Central del Ecuador*. Recuperado el 5 de Septiembre de 2019, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/9087/1/T-UCE-0005-092-2016.pdf>

- Avalos, R. (2010). Cultivo y propagación in vitro de cactáceas de los Géneros *Hylocereus* y *Selenicereus*. Aguascalientes. Obtenido de Universidad Autónoma de Aguascalientes.
- Basantes, M. (Noviembre de 2011). Evaluación del efecto de ácido naftalenacético (ANA), 6- Bencilaminopurina (BAP) y ácido giberélico (GA3) en las fases de inducción, multiplicación y enraizamiento in vitro a partir de yemas apicales de *Valeriana scandens*. Recuperado el 11 de Septiembre de 2019, de <file:///C:/Users/gustavo%20%20gonzalez/Downloads/T-ESPE-033001.pdf>
- Caetano, D. (2012). Estandarización de un protocolo de regeneración en pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran). *Palmira*. Recuperado el 2019, de Tesis de grado Universidad Nacional De Colombia.
- Caetano, D. G., , Escobar, R, y Caetano, C. M. (2014). Estandarización de un protocolo de regeneración en pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran). Recuperado el 4 de Julio de 2018, de https://www.researchgate.net/publication/267244915_Estandarizacion_de_un_protocolo_de_regeneracion_en_pitahaya_amarilla_Selenicereus_megalanthus_K_Schum_ex_Vaupel_Moran
- Cañal, M., Rodríguez, R., Fernández, , B., Sánchez, R., y Majada, J. (2001). *Fisiología del cultivo in vitro*. Recuperado el agosto de 2018, de. Recuperado el Agosto de 2018, de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/viewFile/59/47>
- Castañeda , C. (2015). Cultivo y exportación de pitahaya (*hylocereus ocamponis*) en el ecuador periodo, 2010 - 2014. Recuperado el 2018, de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/9132/1/TRABAJO%20DE%20TITULACION%2003082015.pdf>

- Castañeda , X. (2015). Cultivo y exportación de pitahaya (*Hylocereus ocamponis*) en el Ecuador. Recuperado el Enero de 2020, de repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/9132/1/TRABAJO%20DE%20TITULACION%2003082015.pdf
- Castillo, I. (2010). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Recuperado el 2018, de <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Castillo, S. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Recuperado el 16 de Julio de 2019, de www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf INIA:
- Castro, A. (2014). Pitaya: Melhoramento E Produção De Mudas. Recuperado el 17 de Agosto de 2018, de <file:///C:/Users/HP/Desktop/000802273.pdf>
- Castro, D. (s.f.). El cultivo de Pitahaya. Obtenido de <https://www.ica.gov.co/getattachment/bff8ee09-c032-404b-8fcb-8c5f7d72d532/El-cultivo-de-Pitahaya-en-temporada-invernal.aspx>
- Chocaca, D. (2017). Interacción de tipos de sustrato con dos tamaños de cladodios en la propagación asexual de pitahaya amarilla (*Cereus triangularis*) en el distrito de churuja - Región Amazonas. Obtenido de Universidad Nacional "Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas" : <http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/1773/Chocaca%20ORamos%20Miliam%20Daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Constitución del Ecuador*. (2008). Recuperado el 23 de Febrero de 2018, de http://www.asambleanacional.gob.ec/sites/default/files/documents/old/constitucion_de_bolsillo.pdf
- Cores, S., y Scarzella, A. (2016). Identificación del agente causal del tallo hueco en tomate en Uruguay. Obtenido de https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/19662/1/TT_S_CoresRodr%C3%ADguezSantiago_ScarzellaAriel.pdf
- Delgado, A. (Abril de 2015). Estudio de factibilidad para la creación de una empresa productora de pitahaya en la parroquia sangay, canton Palora, provincia de morona santiago y su comercialización en el distrito metropolitano de Quito. Recuperado el Enero de 2020, de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9874/1/UPS-QT07809.pdf>
- Gil, A., López, S., y López, A. (2017). Aclimatación de plántulas in vitro de *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. (Gesneriaceae) “violeta africana” a condiciones de invernadero. Recuperado el Enero de 2020, de <http://www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v24n1/a16v24n1.pdf>
- Guerrero, M. (Diciembre de 2014). Estudio del manejo poscosecha de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) procedente del cantón Pedro Vicente Maldonado de la provincia de Pichincha. Recuperado el Enero de 2020, de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/9105/3/CD-6059.pdf>
- Hernández, Y. (2010). Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento in vitro de frutales perennes. . Recuperado el 17 de Agosto de 2018, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-5936

- Huachi, L., Yugsi, E., Paredes, M., Coronel, D., Verdugo, K., y Coba, P. (2015). Desarrollo de la Pitahaya (*Cereus* sp.) en Ecuador. Recuperado el 2019, de La Granja: Revista de Ciencias de la vida.
- ICA. (2012). Instituto Colombiano Agropecuario. Recuperado el 2018, de <https://www.ica.gov.co/getattachment/87a2482e-a36a-4380-80ae-11072d0c717c/nbsp;Manejo->
- Infoagro. (2015). El cultivo de la Pitahaya. Recuperado el Enero de 2020, de https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_pitahaya.asp
- INTA. (2014). Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria de Cultivo de la Pitahaya. Recuperado el Octubre de 2018, de <http://www.inta.gob.ni/biblioteca/images/pdf/guias/GUIA%20PITAHAYA%202014.pdf>
- Jamilh, B., Kharidah, M., Shu, C., y Dzulkifly, M. (2011). Physico-chemical characteristics of red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel. Obtenido de International Food Research Journal, Serdang: <https://mail.google.com/mail/u/0/#inbox/Qgrc>
- Jimenez, L., Gonzalez, M., Cruz, S., Santana, R., y Villacis, L. (Septiembre de 2017). Análisis poscosecha de frutos de pitahaya amarilla (*Cereus triangularis* Haw.), a distintos niveles de madurez y temperatura. Obtenido de Universidad Técnica de Ambato .
- Kondo, T, Martínez, M., Medina, J., Rebolledo, A., y Cardozo, C. (2013). Manual técnico: Tecnología para el manejo de pitahaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia. Recuperado el 25 de Febrero de 2018, de https://www.researchgate.net/publication/265843377_Manual_tecnico_Tec

nología_para_el_manejo_de_pitaya_amarilla_Selenicereus_megalanthus_
K_Schum_ex_Vaupel_Moran_en_Colombia

Medina, S., Rebolledo, A., Kondo, T., y Toro, M. (23 de Junio de 2013). Manual Técnico. Tecnología para el manejo de pitaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia., Chapter: 2. Recuperado el 23 de Febrero de 2018, de https://www.researchgate.net/profile/Takumasa_Kondo/publication/247152993_2_Generalidades_del_cultivo/links/53cf16380cf2f7e53cf7e8cf.pdf

Montesinos, J., Rodríguez, L., Ortiz, R., Fonseca, M., Ruíz, G., y Guevara, F. (2015). Pitahaya (*Hylocereus* spp.) un recurso fitogenético con historia y futuro para el trópico seco mexicano. Recuperado el Enero de 2020, de Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas: <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193243640007.pdf>

Montiel, L. (2017). Conservación in vitro de pitahaya (*Hylocereus* spp.) mediante el cultivo de mínimo crecimiento. Recuperado el Enero de 2020, de Tesis de grado: http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/LITER_CIIDIROAX/393/Montiel%20Frausto%2c%20L.%20B..pdf?sequence=1&isAllowed=y

Montiel, L., Enríquez, J., y Cisneros, A. (2016). Propagación in vitro de *Hylocereus monacanthus* (Lem.) Britton y Rose. Recuperado el Enero de 2020, de Instituto Politécnico Nacional: file:///C:/Users/HP/Downloads/Propagacion_in_vitro_de_Hylocereus_monacanthus.pdf

Morán, R. V. (2014). Taxonomía *Selenicereus megalanthus*. Tropicos.

- Moreira, M., y Sánchez, A. (2017). Estudio comparativo in vitro de estrategias adaptativas en especies de *Hylocereus*, Cactaceae, con distribución ecológica contrastada. Obtenido de <http://revistabionatura.com/2017.02.03.3.html>
- Paredes Bautista, K. (Mayo de 2014). Universidad Politécnica Nacional. Recuperado el 2019, de <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/7395/1/CD-5552.pdf>
- Perea, M. Tirado, A. y Micán, Y., (2014). Pitahaya *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel). Universidad Nacional de Colombia. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia .
- Peréz Pastrana, J. (Mayo de 2011).). Micropropagación de *Hylocereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer e *Hylocereus undatus* (Haworth) Britton y Rose, y caracterización molecular de brotes mediante rapds. Recuperado el 4 de Julio de 2018, de <http://ninive.uaslp.mx/jspui/bitstream/i/3473/1/IAF1MIC01101.pdf>
- Quijala, E. (2012). Efecto de la 6-bencilaminopurina en la morfoanatomía y la fisiología de brotes de *tectona grandis* l. cultivados en sistemas de inmersión temporal. Obtenido de Tesis de Grado : http://repositorio.geotech.cu/jspui/bitstream/1234/3479/1/Efecto%20de%20Ia%206-bencilaminopurina%20en%20morfoanatom%C3%ADa%20y%20la%20fisiolog%C3%ADa%20de%20Tectona%20grandis_p.1-46.pdf
- Rodriguez, M., Chacón , M., y Carillo, R. (2014). Efecto de la concentración y de los componentes del medio de cultivo MS sobre la germinación in vitro de

- Ugni molinae. Recuperado el Septiembre de 2019, de Universidad Católica de Temuco: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/bosque/v35n1/art12.pdf>
- Ruíz, L. (2015). Estudio de medios de cultivos, explantes, frascos y sustratos en cladodio de pitahaya (*Hylocereus undatus* Britton et Rose) cv. Chocoya de Nicaragua *en fase de micropropagación*. Obtenido de <http://repositorio.una.edu.ni/2155/1/tnf01r934e.pdf>
- Saltos, A. (2015). Cultivo de pitahaya. Obtenido de El diario : <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/376588-cultivo-de-pitahaya/>
- Sanchez, E., Villareal, J., y Torres, J. (2014). Estimación de la Huella Hídrica para un cultivo de Pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*). Obtenido de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle, Bogotá, DC., Colombia : https://www.researchgate.net/publication/317145867_Estimacion_de_la_huella_hidrica_para_un_cultivo_de_pitahaya_amarilla_Selenicereus_megalanthus
- Segretín, L. (2006). ArgenBio de Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales). Recuperado el 15 de Agosto de 2018, de <http://www.argenbio.org/adc/uploads/pdf/Cultivos%20celulares%20II%20Europe.pdf>
- Suárez, R. (09 de Junio de 2011). Evaluación de métodos de propagación en pitahaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (Haw.) Britt & Rose y pitahaya roja *Hylocereus polyrhizus* (Haw.) Britt & Rose. Recuperado el 25 de Febrero de 2018, de <http://www.bdigital.unal.edu.co/4471/1/7207004.2011.pdf>
- Suárez, R., Caetano, C., Ramírez, H., y Morales, J. (2014). Multiplicación de *Selenicereus megalanthus* (pitahaya amarilla) e *Hylocereus polyrhizus*

- (pitahaya roja) vía organogénesis somática. Recuperado el 10 de Enero de 2020, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-28122014000300010&script=sci_arttext&tlng=pt
- Vasquez, W., Aguilar, K., Vilaplana, R., Viteri, P., Viera, W., y Valencia, S. (2016). Calidad del fruto y pérdidas poscosecha de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw.) en Ecuador. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/4860/1/iniapscR2016v34n1p1081.pdf>
- Vazquez, R., Ojeda, C., Santos, J., Moreno, G., Aguirre, V., y Lopez, P. (2012). Micropropagación de pitahaya, *Hylocereus undatus* (HAWORTH). *Revista Salud Pública y Nutrición*. Obtenido de Universidad Autónoma de Nuevo León: [file:///C:/Users/HP/Downloads/12%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/HP/Downloads/12%20(3).pdf)
- Vegas, A., Sandrea, Y., Gonzalez, O., Díaz, A., Albarran, J., Schmidt, A., . . . Marín, C. (2015). Micropropagación de plantas de lechosa en recipientes de inmersión temporal a partir de brotes axilares. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/776/77639196010.pdf>
- Veliz, R. (2017). Hormonas ANA y AIB para la propagación asexual en esquejes de la pitahaya roja (*Hylocereus undatus*). Recuperado el Enero de 2020, de Tesis de grado: <http://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/2073/1/T-UTEQ-0060.pdf>
- Vite, A. (2 de Septiembre de 2014). *Posibilidades de introducir el cultivo de pitaya en el distrito de Frías (Ayabaca-Piura)*. Obtenido de Lima.
- Zambrano, C., Ríos, J., Beltrán, D., y Mesa, N. (Junio de 2015). Evaluación de reguladores de crecimiento en la propagación in vitro de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya amarilla). Recuperado el 5 de Enero de 2020, de

file:///C:/Users/HP/Downloads/Dialnet-
EvaluacionDeReguladoresDeCrecimientoEnLaPropagacio-
5644629%20(3).pdf

9. Anexos

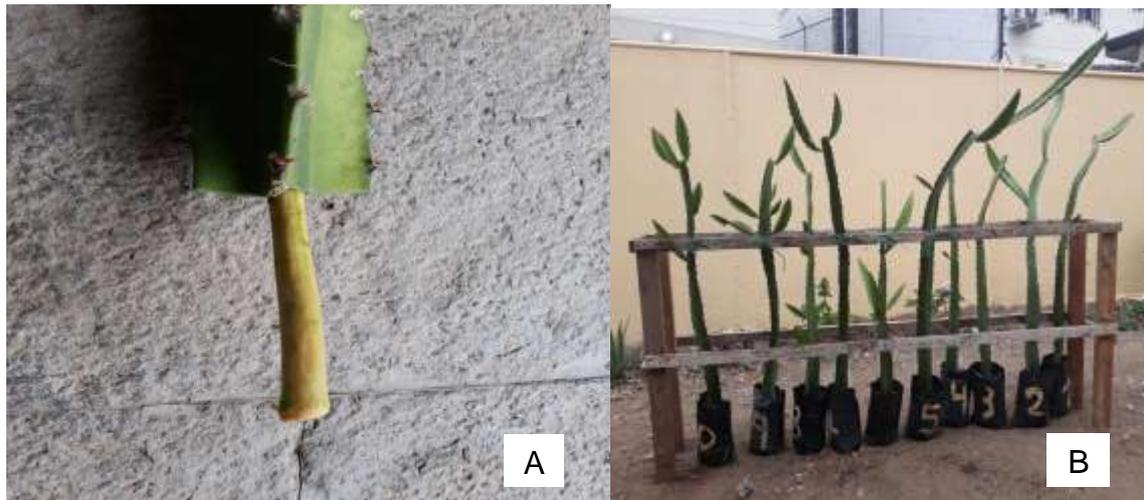


Figura 5. (A) Disección de nervadura central de los tallos de pitahaya amarilla de la comuna Limoncito para la inducción del enraizamiento en el suelo. (B) Tallos de pitahaya sembrados para el desarrollo de los brotes utilizados en el estudio, a los 4 meses después de la siembra.

González, 2020



Figura 6. Elaboración de los medios de cultivos en el laboratorio de Biotecnología. (A) Macro y micro nutrientes; (B) Pesaje de los micronutrientes; (C) Soluciones madres de macro nutrientes; (D) Medición de pH de los medios de cultivo.

González, 2020



Figura 7. Disección y siembra de explantes (brotes) en la cámara de flujo laminar, en condiciones asépticas.
González, 2020



Figura 8. Crecimiento de los explantes en las condiciones de luz en el laboratorio de Biotecnología.
González, 2020



Figura 9. Contaminación de explantes iniciales a) contaminación fúngica; b) contaminación bacteriana.
González, 2020



Figura 10. Fase de Multiplicación en el medio de cultivo MS + K (8mg.L⁻¹) en condiciones de luz, dentro del laboratorio.
González, 2020.



Figura 11. Fase de enraizamiento en el medio de cultivo MS en condiciones de luz, dentro del laboratorio.
González, 2020

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
% DE BROTAION	T1	10	6,60	13,91	0,00	9,65	0,0026
% DE BROTAION	T2	10	20,00	42,16	0,00		
% DE BROTAION	T3	10	60,00	34,54	67,00		

Figura 12. Porcentaje de brotación en la fase iniciación.
González, 2020

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
% DE ENRAIZAMIENTO	T1	1	60,00	0,00	60,00	1,50	>0,9999
% DE ENRAIZAMIENTO	T2	1	40,00	0,00	40,00		
% DE ENRAIZAMIENTO	T3	1	40,00	0,00	40,00		

Figura 13. Porcentaje de enraizamiento.
González, 2020