

Esta obra está bajo una Licencia
Creative Commons Atribución -
4.0 Internacional (CC BY 4.0)

Vea una copia de esta licencia en
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>





FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

Tesis

**Micropropagación de pitahaya naranja de Churuja
(*Hylocereus* sp.) a partir de fragmentos de
cladodios en condiciones *in vitro***

Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

Autor:

Jose Maximino Saavedra Garcia
<https://orcid.org/0000-0002-8425-1098>

Asesor:

Ing. M.Sc. Mike Anderson Corazon Guivin
<https://orcid.org/0000-0001-6027-4255>

Coasesor:

Blgo. Angel David Hernández Amasifuen
<https://orcid.org/0000-0001-8267-409X>

Tarapoto, Perú

2023



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

Tesis

**Micropropagación de pitahaya naranja de Churuja
(*Hylocereus* sp.) a partir de fragmentos de
cladodios en condiciones *in vitro***

Para optar el título profesional de Ingeniero Agrónomo

Autor:

Jose Maximino Saavedra Garcia

Sustentado y aprobado el 8 de noviembre de 2023, ante el honorable jurado

Presidente de Jurado
Dr. Geomar Vallejos Torres

Secretario de Jurado
Ing. M.Sc. María Emilia Ruíz
Sánchez

Vocal de Jurado
Blgo. Dra. Ana Noemí Sandoval
Vergara

Asesor
Ing. M.Sc. Mike Anderson
Corazon Guivin

Coasesor
Blgo. Angel David Hernández
Amasifuen

Tarapoto, Perú
2023



"Año de la Unidad, la paz y el desarrollo"

ACTA DE SUSTENTACIÓN

Para optar el Título de Ingeniero Agrónomo Modalidad Informe de Tesis

En la Universidad Nacional de San Martín, Auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias- Ciudad Universitaria, a las 16:10 horas, del día 08 del mes noviembre del año dos mil veintitrés, se reunió el Jurado de Tesis, integrado por:

- PRESIDENTE : Dr. Geomar Vallejos Torres
SECRETARIO : Ing. M. Sc. María Emilia Ruíz Sánchez
VOCAL : Dra. Ana Noemí Sandoval Vergara
ASESOR : Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin
CO-ASESOR : Blgo. Angel David Hernández Amasifuen

Para evaluar el Informe de tesis titulado: "Micropropagación de pitahaya naranja de Churuja (Hylocereus sp.) a partir de fragmentos de cladodios en condiciones in vitro", Presentado por el Bachiller en Ciencias Agrarias: JOSE MAXIMINO SAAVEDRA GARCIA.

Los Miembros de Jurado del Informe de tesis, después de haber observado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica, luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran Aprobado con el calificativo de Muy Bueno, en fe de lo cual se firmó la presente acta, siendo las 17:15 horas del mismo día, dándose por terminado el acto de sustentación.

Dr. Geomar Vallejos Torres PRESIDENTE

Ing. M. Sc. María Emilia Ruíz Sánchez SECRETARIO

Dra. Ana Noemí Sandoval Vergara VOCAL

Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin ASESOR

Blgo. Angel David Hernández Amasifuen CO-ASESOR

Jose Maximino Saavedra Garcia SUSTENTANTE

RECIBIDO POR: Jose Maximino Saavedra Garcia DNI N.º 60605957 FECHA: 08/11/23

Declaratoria de autenticidad

Jose Maximino Saavedra Garcia, con DNI N° 60605957 egresado de la Escuela Profesional de Agronomía, Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín, autor de la tesis titulada: Micropropagación de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de fragmentos de cladodios en condiciones *in vitro*.

Declaro bajo juramento:

1. La tesis es de mi autoría.
2. La redacción presentada fue realizada respetando las citas y referencias de las fuentes bibliográficas consultadas.
3. Toda información que contiene la tesis no ha sido plagiada.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido alterados ni copiados, por tanto, la información de esta investigación debe considerarse como aporte a la realidad investigada.

Por lo antes mencionado, asumo bajo responsabilidad las consecuencias que deriven de mi accionar, sometiéndome a las leyes de nuestro país y normas vigentes de la Universidad Nacional de San Martín.

Tarapoto, 8 de noviembre de 2023

.....
Jose Maximino Saavedra Garcia

DNI N° 60605957



Ficha de identificación

Título del proyecto Micropropagación de pitahaya naranja de Churuja (<i>Hylocereus</i> sp.) a partir de fragmentos de cladodios en condiciones <i>in vitro</i>.	Área de investigación: Ciencias Agrarias Línea de investigación: Conservación de recursos genéticos y biotecnología Sublínea de investigación: Manejo y conservación de la biodiversidad. Grupo de investigación (indicar resolución): Tipo de investigación: Básica <input checked="" type="checkbox"/> , Aplicada <input type="checkbox"/> , Desarrollo experimental <input type="checkbox"/>
Autor: Jose Maximino Saavedra Garcia	Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía https://orcid.org/0000-0002-8425-1098
Asesor: Ing. M.Sc. Mike Anderson Corazon Guivin	Dependencia local de soporte: Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía Unidad o Laboratorio Agronomía https://orcid.org/0000-0001-6027-4255
Co-Asesor: Blgo. Angel David Hernández Amasifuen	Dependencia local de soporte: Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía Unidad o Laboratorio Agronomía https://orcid.org/0000-0001-8267-409X

Dedicatoria

A Dios por darme la inteligencia, la vida, la salud y a mi padre Delmiro por su apoyo incondicional en el día a día durante el transcurso de mi carrera.

A mi madre María Úrsula por su amor infinito, paciencia y motivación en los momentos difíciles.

A mis hermanos Wilder y Yoel, por brindarme su aporte económico e impulsarme a lograr mis metas.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional de San Martín (UNSM), a través del Instituto de Investigación y Desarrollo por el aporte financiero para el desarrollo de la presente investigación con Resolución N° 623-2022-UNSM/CU- R.

A todos los docentes de la facultad de Ciencias Agrarias – Agronomía, por inculcarme nuevos conocimientos en el transcurrir de mi carrera universitaria.

Al Biólogo Angel David Hernández Amasifuen, por su enseñanza, motivación y apoyo imprescindible para realizar esta investigación.

A los Bachilleres Elvin Delgado Mera y Huber Castillo García, por su tiempo y apoyo incondicional.

Al Dr. Geomar Vallejos Torres, Ing. M.Sc. María Emilia Ruíz Sánchez, Blgo. Dra. Ana Noemí Sandoval Vergara e Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazon Guivin, por las sugerencias, y correcciones sobre el informe de tesis.

Al proyecto de investigación “Caracterización molecular y conservación *ex situ* de pitahayas nativas colectadas en las regiones de San Martín y Amazonas”, financiado por el Instituto de Investigación y Desarrollo (IlyD) – UNSM, con Resolución N° 483-2022-UNSM/CU-R.

Índice general

RESUMEN	15
ABSTRACT	16
CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN	17
CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO	19
2.1. Antecedentes de la investigación.....	19
2.2. Fundamentos teóricos	21
2.3. Definición de términos	27
CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS	29
3.1. Ámbito y condiciones de la investigación.....	29
3.1.1 Contexto de la investigación.....	29
3.1.2 Periodo de ejecución.....	29
3.1.3 Autorizaciones y permisos.....	29
3.1.4 Control ambiental y protocolos de bioseguridad	30
3.1.5 Aplicación de principios éticos internacionales	30
3.2. Sistema de variables	30
3.2.1 Variables principales	30
3.2.2 Variables secundarias	30
3.3 Procedimientos de la investigación.....	32
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN	37
CONCLUSIONES.....	65
RECOMENDACIONES.....	66
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67
ANEXOS	75

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Fase Fenológica de duración del cultivo de pitahaya (Hylocereus sp.).</i>	20
Tabla 2. <i>Composición química de Hylocereus undatus.</i>	24
Tabla 3. <i>Descripción de variables por objetivos específicos</i>	31
Tabla 4. <i>Tratamientos para desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja.</i> ..	29
Tabla 5. <i>Tratamientos para la multiplicación de pitahaya naranja de Churuja.</i>	31
Tabla 6. <i>Tratamientos para el enraizamiento in vitro de pitahaya naranja de Churuja.</i> ...	34
Tabla 7. <i>Tratamientos para la aclimatación de pitahaya naranja de Churuja.</i>	36
Tabla 8. <i>Análisis de varianza de la contaminación de semillas de pitahaya naranja de Churuja en condiciones in vitro.</i>	37
Tabla 9. <i>Análisis de varianza de la germinación de semillas de pitahaya naranja de Churuja en condiciones in vitro.</i>	38
Tabla 10. <i>Análisis de varianza de la formación de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 30 días en condiciones in vitro.</i>	39
Tabla 11. <i>Análisis de varianza de la formación de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	40
Tabla 12. <i>Análisis de varianza del número de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 30 días en condiciones in vitro.</i>	41
Tabla 13. <i>Análisis de varianza del número de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	40
Tabla 14. <i>Análisis de varianza de la longitud de los brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	41
Tabla 15. <i>Análisis de varianza de la formación de callos en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	44
Tabla 16. <i>Análisis de varianza del porcentaje de enraizamiento en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	45
Tabla 17. <i>Análisis de varianza del número de raíces en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	46
Tabla 18. <i>Análisis de varianza de la longitud de raíces en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	47
Tabla 19. <i>Análisis de varianza de la longitud de los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	48
Tabla 20. <i>Análisis de varianza del porcentaje de enraizamiento en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.</i>	50
Tabla 21. <i>Análisis de varianza del diámetro de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.</i>	51

Tabla 22. <i>Análisis de varianza del volumen de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.</i>	50
Tabla 23. <i>Análisis de varianza del área de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.</i>	51
Tabla 24. <i>Análisis de varianza del número de raíces de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.</i>	54
Tabla 25. <i>Análisis de varianza de la longitud de raíces de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.</i>	55
Tabla 26. <i>Análisis de fisicoquímico de los sustratos empleados en la aclimatación de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja.</i>	56
Tabla 27. <i>Composición del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS).</i>	75

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación geográfica donde se desarrollo la investigación google hearth pro.	29
Figura 2. Porcentaje de contaminación de semillas de pitahaya naranja de Churuja establecidas en condiciones <i>in vitro</i> .	37
Figura 3. Porcentaje de germinación de semillas de pitahaya naranja de Churuja establecidas en condiciones <i>in vitro</i> .	38
Figura 4. Porcentaje de formación de brotes por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 30 días en condiciones <i>in vitro</i> .	39
Figura 5. Porcentaje de formación de brotes por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones <i>in vitro</i> .	40
Figura 6. Número de brotes formados por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 30 días en condiciones <i>in vitro</i> .	41
Figura 7. Número de brotes formados por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones <i>in vitro</i> . Medias con letras diferente difieren significativamente utilizando la prueba de Tukey ($p > 0.05$).	40
Figura 8. Longitud de los brotes formados en los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones <i>in vitro</i> .	41
Figura 9. Porcentaje de formación de callos por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones <i>in vitro</i> .	44
Figura 10. Porcentaje de enraizamiento en los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones <i>in vitro</i> .	45
Figura 11. Número de raíces formadas en los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones <i>in vitro</i> .	46
Figura 12. Longitud de raíces formadas en los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones <i>in vitro</i> .	47
Figura 13. Longitud de los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones <i>in vitro</i> .	48
Figura 14. Desarrollo de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en diferentes sustratos en un periodo de 60 días en condiciones de vivero.	49
Figura 15. Longitud de plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero.	50
Figura 16. Diámetro de plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero.	51
Figura 17. Volumen de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero.	50

Figura 18. Área de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero.....	51
Figura 19. Número de raíces en plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero.	54
Figura 20. Longitud de las raíces en plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero.	55
Figura 21. Fruto, pulpa y semillas de pitahaya naranja de Churuja.	76
Figura 22. Desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja en cabina de flujo laminar.....	76
Figura 23. Introducción de semillas de pitahaya naranja de Churuja en medios de cultivo para su germinación en condiciones <i>in vitro</i>	77
Figura 24. Pitahaya naranja de Churuja germinada en condiciones <i>in vitro</i>	77
Figura 25. Transferencia de pitahayas naranja de Churuja germinadas en condiciones <i>in vitro</i> a frascos para continuar con su desarrollo.	78
Figura 26. Segmentaciones de cladodios de pitahayas naranja de Churuja previa a la introducción a los medios de cultivo para la fase de multiplicación.	78
Figura 27. Cladodio de pitahaya naranja de Churuja segmentado (izquierda) y plántula sin segmentación (derecha).	79
Figura 28. Formación de brotes en segmentos de cladodios de pitahaya naranjas de Churuja en fase de multiplicación en condiciones <i>in vitro</i>	79
Figura 29. Explantes de pitahayas naranjas de Churuja en fase de multiplicación en condiciones <i>in vitro</i>	80
Figura 30. Formación de brotes de pitahaya naranjas de Churuja en el tratamiento T8 en fase de multiplicación en condiciones <i>in vitro</i>	80
Figura 31. Evaluación de la longitud y número brotes de pitahaya naranjas de Churuja en el tratamiento control en fase de multiplicación en condiciones <i>in vitro</i>	81
Figura 32. Evaluación del número brotes de pitahaya naranjas de Churuja en el tratamiento T2 en fase de multiplicación en condiciones <i>in vitro</i>	81
Figura 33. Evaluación del número brotes de pitahaya naranjas de Churuja en el tratamiento T8 en fase de multiplicación en condiciones <i>in vitro</i>	80
Figura 34. Explantes de pitahaya naranja de Churuja en medios de cultivo de diferentes tratamientos en la fase de enraizamiento en condiciones <i>in vitro</i>	80
Figura 35. Explante de pitahaya naranja de Churuja enraizada en condiciones <i>in vitro</i>	81
Figura 36. Explantes de pitahaya naranja de Churuja condiciones <i>ex vitro</i> en estado de pre-aclimatación.	81
Figura 37. Preparación de sustratos para los diferentes tratamientos en la fase de aclimatación.....	82

Figura 38. Cultivo de plántulas de pitahaya naranja de Churuja en sustratos.....	82
Figura 39. Establecimiento de todos los tratamientos para la aclimatación de plántulas de pitahaya naranja de Churuja multiplicadas y enraizadas <i>in vitro</i>	85
Figura 40. Plántula de pitahaya naranja de Churuja en sustrato en condiciones controladas previa a ser transferidas a condiciones de vivero.....	85
Figura 41. Plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en condiciones de vivero.	86
Figura 42. Evaluación de sobrevivencia y longitud de plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en condiciones de vivero.	86
Figura 43. Plántulas de pitahaya naranja de Churuja en aclimatadas en condiciones de vivero, tratamientos T1 a T5 desde la izquierda a derecha.	87
Figura 44. Comparación de longitud entre plántulas de pitahaya naranja de Churuja de los tratamientos T4 (izquierda) y T5 (derecha) aclimatadas en condiciones de vivero.....	87
Figura 45. Comparación morfológica entre plántulas de pitahaya naranja de Churuja aclimatadas en condiciones de vivero, tratamientos T1 a T5 de izquierda a derecha.	88

RESUMEN

La presente tesis se planteó como objetivo principal micropropagar pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de fragmentos de cladodios en condiciones *in vitro*. Se introdujeron semillas de pitahaya en condiciones *in vitro*, mediante el uso de soluciones desinfectantes y medio de cultivo MS. Las plántulas germinadas fueron utilizadas para la fase de multiplicación mediante la segmentación del cladodio y posterior introducción en diferentes medios de cultivos con combinación de Bencilaminopurina (BAP) y ácido indol-3-butírico (AIB). Los brotes formados fueron separados e inducidos a enraizar con diferentes concentraciones de AIB. Posteriormente, las plántulas completas regeneradas fueron llevadas a vivero para su respectiva aclimatación. Obteniéndose como resultado 0% de contaminación y 100% de germinación en la fase de desinfección de semillas. Se obtuvo 100% de explantes con formación de brotes y 9.67 brotes en promedio por explante con el medio de cultivo MS adicionado con 2 mg/L de BAP y 0.1 mg/L de AIB en la fase de multiplicación. Para la fase de enraizamiento se obtuvo la respuesta del 100% de explantes con formación de raíces, 3.26 raíces por explante y 4.12 cm de longitud de raíces por explante empleando el medio de cultivo MS adicionado con 1 mg/L de AIB. Y finalmente, para el caso de la aclimatación de las plántulas se obtuvo el 100% de sobrevivencia, plántulas con 16.18 cm de longitud, 9.06 cm de diámetro, 4.37 cm³ de volumen, 13.85 cm² de área, 5.2 raíces y 7.91 cm de longitud de raíces empleando el sustrato de musgo y arena en una relación 2:1. En conclusión, el estudio ha demostrado la importancia de determinar los medios de cultivo óptimos para el establecimiento de un protocolo de micropropagación en condiciones *in vitro* de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de fragmentos de cladodios, permitiendo obtener gran número de plántulas vigorosas.

Palabras clave: Micropropagación, germinación, multiplicación, enraizamiento, aclimatación, propagación *in vitro*.

ABSTRACT

The main objective of this thesis was to micropropagate Churuja orange pitahaya (*Hylocereus* sp.) from cladode fragments under in vitro conditions. Pitahaya seeds were introduced under in vitro conditions, using disinfectant solutions and MS culture medium. The germinated seedlings were used for the multiplication phase by segmentation of the cladode and subsequent introduction into different culture media with a combination of Benzylaminopurine (BAP) and indole-3-butyric acid (IBA). The shoots formed were separated and induced to root with different concentrations of AIB. Subsequently, the complete regenerated seedlings were taken to the nursery for acclimatization. As a result, 0% contamination and 100% germination were obtained in the seed disinfection phase. 100% of explants with shoot formation and 9.67 shoots on average per explant were obtained with MS culture medium added with 2 mg/L of BAP and 0.1 mg/L of AIB in the multiplication phase. For the rooting phase, a response of 100% of explants with root formation, 3.26 roots per explant and 4.12 cm of root length per explant was obtained using MS culture medium added with 1 mg/L of AIB. Finally, in the case of seedling acclimatization, 100% survival was obtained, seedlings with 16.18 cm length, 9.06 cm diameter, 4.37 cm³ volume, 13.85 cm² area, 5.2 roots and 7.91 cm root length using the moss and sand substrate in a 2:1 ratio. In conclusion, the study has demonstrated the importance of determining the optimal culture media for the establishment of a micropropagation protocol under in vitro conditions of Churuja orange pitahaya (*Hylocereus* sp.) from cladode fragments, allowing to obtain a large number of vigorous seedlings.

Keywords: Micropropagation, germination, multiplication, rooting, acclimatization, in vitro propagation.



CAPÍTULO I INTRODUCCIÓN A LA INVESTIGACIÓN

La pitahaya (*Hylocereus* sp.), generalmente llamada fruta escamosa o del dragón, es un fruto exótico, que se encuentra expandiéndose de una forma acelerada en el mundo, debido a sus distintas propiedades organolépticas, nutricionales, fisicoquímicas y bioactivas (Verona-Ruiz et al., 2020), adaptándose muy bien en climas con baja cantidad de agua, creciendo sobre piedras, muros, arena, troncos secos y árboles (Ruiz, 2009).

Actualmente diversos países cultivan pitahaya, siendo los principales productores Vietnam, Colombia, México, Costa Rica y Nicaragua, comercializando las variedades roja, amarilla, rosada, de pulpa blanca, pulpa roja; teniendo como socios comerciales a la Unión Europea y Asia, principalmente China como el mayor importador (Viñas et al., 2012). En nuestro país la producción está aumentando rápidamente gracias a sus condiciones edafoclimáticas favorables para su desarrollo y a las excelentes propiedades nutritivas que poseen sus frutos. En Perú se encuentra distribuido principalmente en Amazonas donde crece naturalmente, San Martín, Ancash, Lambayeque, Lima y Piura (Vargas-Gutiérrez y López-Montañez, 2020).

Ahora, la productividad está sumamente destinada al mercado interno, pero, cuenta con mercados en Europa como Holanda y Francia, asimismo Asia y Estados Unidos (Vargas, 2020). En la región San Martín, se está impulsando y promoviendo este cultivo a través de asociaciones, cooperativas y empresas privadas. Sin embargo, el problema radica en la propagación de esta especie, la cual se multiplica en forma sexual y asexual. Siendo la más utilizada la asexual a través de esquejes por ser el método más fácil y eficiente, el cual requiere de grandes espacios, resultando “poco eficaz para proporcionar plántulas a gran escala” debido al gran tamaño de estos tejidos (Estrada-Luna et al., 2008).

Además, la pitahaya presenta problemas fitosanitarios, que son provocados por diversas especies de los géneros *Pseudomonas*, *Fusarium*, *Erwinia* y *Colletotrichum*, llegando a ocasionar pérdidas de hasta un 80% e incrementando los costos de producción en el manejo de hasta un 50% (Zambrano-Forero et al., 2015).

El método convencional de propagación de la pitahaya es mediante enraizamiento de cladodios, el cual facilita mucho a los agricultores a mantener sus cultivos homogéneos y a bajo costo. Sin embargo, este proceso es susceptible a infecciones patógenas debido a las heridas mecánicas (Lee et al., 2022).

La reproducción sexual a partir de semilla botánica no es muy recomendable por presentar periodo de producción muy lento, implicando bastante cuidado y tarde entre 4-6 años para alcanzar su fase de reproducción (Montesinos et al., 2015).

Ante ello se presenta la micropropagación como una alternativa importante garantizando la calidad y eficiencia para la propagación de pitahaya, obteniendo una producción máxima y uniforme de “plántulas a partir de una pequeña cantidad de material vegetal”, en un espacio mínimo, brindando condiciones asépticas como plántulas sanas y libres de enfermedades en un periodo breve (Qingzhu et al., 2014). Posterior a su multiplicación en condiciones asépticas, las plantas pasan por una fase de aclimatación, proceso por el cual una planta se adapta a las condiciones climáticas o ambientales de un nuevo hábitat. Es la última etapa crucial y clave en la micropropagación exitosa de las plantas, y para ello es crucial el desarrollo de un sistema de raíces saludable para que las plántulas micropropagas *in vitro* sobrevivan después del trasplante (Mohammed et al., 2023).

En comparación, la micropropagación puede ser económicamente más rentable que la propagación convencional por cladodios enraizados en vivero. Esto debido sobre todo de la escala de producción, es decir a la obtención de cientos de plantas a partir de uno o pocos explantes iniciales (Lee et al., 2022).

El éxito en la micropropagación podría potenciar su productividad y desarrollar estrategias comerciales para ser un agroexportador potencial, es por ello por lo que una gran alternativa es la micropropagación *in vitro*, siendo un método viable que asegura eficiencia y calidad.

Por lo tanto, la presente tesis se planteó como objetivo principal micropropagar pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de fragmentos de cladodios en condiciones *in vitro*.

Así mismo, los objetivos específicos fueron:

- a) Determinar un protocolo óptimo de desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) para el establecimiento en condiciones *in vitro*.
- b) Determinar el medio de cultivo más eficiente en la multiplicación de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de segmentos de cladodios.
- c) Determinar el medio de cultivo más eficiente en el enraizamiento de cladodios de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones *in vitro*.
- d) Evaluar el sustrato más adecuado en la aclimatación de plántulas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones de vivero.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Zambrano-Forero et al. (2015), en Tolima, Colombia, evaluaron el efecto del crecimiento *in vitro* por organogénesis directa de *Hylocereus megalanthus*. En su metodología las plantas madre fueron obtenidas de un banco de germoplasma de Tolima, donde los cladodios se seccionaron en segmentos de 1 cm, los cuales fueron sembrados en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) complementado con diferentes concentraciones y combinaciones de Bencilaminopurina (BAP), Kinetina (Kin) y Ácido indol acético (AIA). Obtuvieron mayor elongación y producción de brotes al aplicar (BAP) 0.5 mg/L y 1.0 mg/L y un mayor número de raíces al combinar 1.0 mg/L (Kin) + 0.3 mg/L (AIA). Concluyeron que hubo diferencia significativa entre el tratamiento (BAP) 0.5 mg/L y (Kin) 0.5 mg/L en elongación de brotes, con respecto al número de raíces no hubo significancia entre los tratamientos a los 45 días.

Mállap (2020), en Amazonas, Perú, evaluó cuatro medios de cultivo en la multiplicación *in vitro* de la pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*). Realizó los siguientes tratamientos: T1= MS, sacarosa 30 g/L y agar 7g/L; T2= MS, sacarosa 30 g/L, agar 7g/L y Agua de Coco (AC) 10%; T3= MS, sacarosa 30 g/L, agar 7g/L, AC 20% y Carbón Activado (CA) 2 gr/L,; T4= MS, sacarosa 30 g/L, agar 7g/L, BAP 0.1 mg/L y Ácido naftalenacético (ANA) 3 mg/L. Obtuvieron en el T4 los mayores porcentajes en formación de callos 88%, y en el T3 los mejores porcentajes de número de raíces 82.5%, número de brotes 1.18 y longitud de brotes 1.66 mm. Concluyeron que existe diferencia significativa en los cuatro tratamientos a los 60 días.

Malqui (2021), en Amazonas, Perú, evaluó seis sustratos orgánicos en la aclimatación de plántulas pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*), las cuales fueron previamente obtenidas mediante cultivo *in vitro*. En su metodología el material genético empleado fue evaluado en seis tratamientos: T1= Compost 50% + arena 50%; T2= Compost 50% + tierra de bosque 50%; T3= Arena 50% + tierra de bosque 50%; T4= Compost 100%; T5= Arena 100% y T6= Tierra de bosque 100%. Obteniendo los mejores resultados en el T2 y T6 con una supervivencia 100%, mayor altura y mejor desarrollo radicular. Concluyo que ambas mezclas eran ricas en materia orgánica, además poseen buena aireación y alta retención de humedad, permitiendo que la aclimatación de plantas obtenidas *in vitro* sea más eficiente.

Vargas (2020), en Ancash, Perú, evaluó el efecto de las concentraciones de BAP en el cultivo *in vitro* de Pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) en la fase de multiplicación. En su

metodología aplicó 0.5 ppm de (AIA) en las cinco diferentes concentraciones de (BAP). Obteniendo el mayor promedio de altura 5.23 cm, mayor promedio de brotes 4.6 brotes por explante y mayor promedio de longitud radicular 6.63 cm. al combinar (2 ppm BAP + 0.5ppm AIA). Concluyo que la óptima en la fase de multiplicación es utilizando 2 ppm (BAP).

Mállap-Detquizán et al. (2022), en Amazonas, Perú, Evaluaron la viabilidad del establecimiento *in vitro* de pitahaya amarilla. En su metodología utilizaron semillas botánicas que fueron desinfectadas con alcohol (70 %) por 30 s y hipoclorito de sodio (2 % + Tween 20 (0,1 %), por 10 min y tres enjuagues con agua estéril, incubaron las semillas en un ambiente controlado para su desarrollo, temperatura de $24\pm 1^{\circ}\text{C}$, iluminación de 3000 lux y fotoperíodo de 16 h luz, los medios de cultivo que emplearon para la germinación fueron: T0= agua estéril (3 ml); T1= MS (50 %), sacarosa (30 g/L), agar (6 g/L); T2= ácido giberelico AG (250 mg/L); T3= MS (100 %), sacarosa (30 g/L), agar (6 g/L), (AG) (250 mg/L). en los resultados identificaron que el mejor medio para el establecimiento en pitahaya es MS a media potencia adicionado con 30 g/L de sucrosa y 6 g/L de agar, logrando la mejor germinación del 100%, mejor altura, mayor número y longitud de raíces. Concluyeron que los reguladores de crecimiento evitan la germinación de las plantulas.

Martínez y Martínez (2019), en Managua, Nicaragua, evaluaron la Técnica Biotecnológica para la propagación *in vitro* en (*Hylocerus undatus*). Determinaron el protocolo de desinfección del tejido vegetal y luego los introdujeron en (MS) adicionado (AIA) y (BAP) en diferentes concentraciones en la fase de multiplicación, posteriormente utilizaron cinco concentraciones de (AIA) en la fase de enraizamiento. Mencionaron que el mejor resultado obtenidos en la fase de multiplicación fue la combinación de AIA (1.00ml/L + BAP 2.00ml/L), obteniendo una media de longitud 1.60 cm. y número de brotes 8.27, para la fase de enraizamiento fue a 0.75 mg/l de AI suplementado con el medio de cultivo, lográndose una media de 8.13 raíces por explante, buena longitud y una excelente brotación. Concluyeron que la hormona (AIA) permite incrementar el número de raíces.

Yu-Chi y Jer-Chia (2022), en Taiwán, China, establecieron un protocolo mejorado de micropropagación en (*Hylocerus undatus*). Desinfectaron las semillas con alcohol al 75% por 30 s, posteriormente (sodio al 1% + Tween 20 por 15 min.), Luego enjuagaron cinco veces con agua destilada y las establecieron en botellas de vidrio con medio (MS) adicionando sacarosa 3% y agar 0.8% en un ambiente de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con un fotoperíodo de 16/8 h luz. En la fase de regeneración de brotes e inducción de raíces emplearon (MS) complementado con ANA (0.05, 0.10 o 0.20 mg/L) y 200 mg/L (CA) combinado con ANA y BAP (1.00, 2,00 y 4,00 mg/L), luego utilizaron turba como sustrato para la aclimatación de las plántulas. Obtuvieron mayor regeneración de brotes/planta, mayor inducción de raíces, mayor longitud de brotes y raíces en el medio que aplicaron (200 mg/L CA + 0,20 mg/L de

ANA), asimismo lograron el 100% de supervivencia de las plántulas y 0 % de infección patógena en invernadero. Concluyeron que la agregación del carbón activado (CA) incremento la longitud de los brotes, además previno la regeneración de brotes anormales, secos y agrupados.

2.2. Fundamentos teóricos

2.2.1. Pitahaya (*Hylocereus* sp.)

La palabra pitahaya significa fruta escamosa, es una planta perenne epífita, que puede alcanzar los dos metros de altura, trepadora que necesita soporte para su desarrollo como, árboles vivos o muertos, piedras, entre otros, debido a que no puede sostenerse por sí misma, perteneciendo a un gran número de la familia de cactáceas de unas 2 000 especies, de las cuales la gran mayoría son originarias de México. Asimismo, el género *Hylocereus* comprende varias especies caracterizándose por su gran potencial productivo y económico (Montiel, 2017). Además, se considera una especie frutal nueva con excelentes beneficios nutricionales para la salud del consumidor (Moreira y Murillo, 2022).

2.2.2. Origen

El género *Hylocereus* es oriundo de América del Norte, el cual agrupa 16 especies que se encuentran distribuidas en regiones boscosas, tropicales y subtropicales de Colombia, Costa Rica, Guatemala, México, Canadá, Nicaragua y Perú encontrándose en la actualidad a nivel mundial, debido a su adaptación y sobrevivencia a diferentes niveles de altitud y a distintas precipitaciones anuales, siendo el más adecuado los climas cálidos subhúmedos y un suelo con excelente drenaje (Montesinos et al., 2015).

2.2.3. Taxonomía

Esquivel y Araya (2012) mencionan la clasificación taxonómica.

Reino: Plantae

División: Trachophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Género: *Hylocereus*

2.2.4. Morfología

- **Raíz:** poseen dos tipos de raíces, principales presentes en la rizosfera, teniendo una longitud de 5 a 25 cm y las secundarias o adventicias que se desarrollan de los cladodios el cual les permitirá treparse, fijarse, manteniéndola a la planta firme a su tutor, además ayuda a la absorción de sustancias nutritivas y agua del ambiente (Gunasena et al., 2007).
- **Tallos o cladodios:** “son suculentos, verdes y fotosintéticos” que sustituyen a las hojas, se identifican por poseer tres aristas que rodean el tallo leñoso, estos presentan areolas que son medianas yemas homólogas con la capacidad de producir brotes, espinas y formación de botones florales (Suárez, 2011).
- **Flores:** son andróginos, con brácteas verdes y pétalos blancos que pueden medir de largo 30 cm y de ancho 23 cm, localizándose en las axilas de las espinas, son vistosas el cual las convierte más atractivas para los polinizadores como, murciélago o polillas, se abren una sola vez en el transcurso de la noche y se marchitan en la madrugada (Zee et al., 2004).
- **Fruto:** es una baya oblonga, redonda ovoidal, de 10-12 cm de longitud y 6 cm de anchura, con pesos de 200 a 800 gramos, presentando “un exocarpo de color amarillo, rojo, magenta, naranja o fuchsia” que está cubierta por bractéolas rojas y verdes en las puntas y un endocarpo de color blanco, amarillo, magenta, rosado o fuchsia, el cual contiene muchas semillas pequeñas de color negro (García-Rubio et al., 2015), además presenta una pulpa de sabor muy agradable, suave, aromática y una fragancia delicada, resultando muy nutritiva y atractiva por su forma y color, siendo utilizada en la industria alimenticia y farmacéutica (Ojeda-Zacarías et al., 2012).
- **Semilla:** se hallan distribuidas en la pulpa del fruto alrededor de 650 semillas, con una longitud de 4 a 6 mm de color negro, que está recubierta por una sustancia mucilaginosa (Andrade et al., 2007).

2.2.5. Fenología

Santarrosa (2013) menciona que la pitahaya es un cultivo perenne fácil de producir, que no necesita tecnología avanzada, donde a sus inicios lo podemos asociar con otros cultivos semiperennes, obteniendo beneficios de ellos como: piña, tomate, frejol, maíz, entre otros, resultando beneficioso para los agricultores (Tabla 1).

Tabla 1.

Fase Fenológica de duración del cultivo de pitahaya (Hylocereus sp.).

Etapas	Periodo
Crecimiento de la plantación.	Dieciocho meses.
Primera cosecha.	Dieciocho meses de plantas obtenidas de vivero de medio año de edad.
Producción estable.	A los cuatro años.
Duración.	De quince a veinticinco años el cual dependerá mucho del manejo.

2.2.6. Requerimientos edafoclimáticos

- **Suelos:** deben poseer un excelente drenaje ya que no tolera terrenos inundados, ricos en materia orgánica para su adecuada nutrición en el proceso del desarrollo fenológico para su producción con un pH ideal de 5.5-6.5 (Suárez, 2011).
- **Temperatura:** se adapta muy bien a diferentes temperaturas, pero la óptima para su desarrollo vegetativo y reproductivo oscila de 28-30 °C con climas cálidos subhúmedos no soporta bajas temperaturas (Morales, 2017).
- **Precipitación:** tolera altas precipitaciones sin embargo se verá afectado por problemas fitosanitarios reflejándose en una baja producción porque causará la caída de las flores siendo la óptima de 650 a 1500 mm anuales (Vargas, 2020).
- **Altura:** se adapta muy bien a diferentes altitudes llegando a sobrevivir hasta los 2500 msnm (Montesinos et al., 2015).
- **Luz:** necesita de una buena luminosidad para el desarrollo adecuado de los procesos fisiológicos principalmente en la floración, ya que una baja luminosidad causa pérdidas en la floración (Vargas, 2020).

2.2.7. Importancia

La importancia de las pitahayas radica en la gran capacidad de adaptación a diferentes ambientes. Actualmente se describen gran número de genotipos, representando una alta variabilidad genética. Posee múltiples usos en la industria, productividad, rentabilidad y gran demanda de sus frutos localmente e internacional (Magaña et al., 2004). Además, viene siendo utilizada como planta ornamental (Ortiz-Hernández y Carrillo-Salazar, 2012).

Posee un enorme “potencial industrial debido a su alto contenido de betalaínas, pigmentos que poseen propiedades antioxidantes”, resultando un sustituyente adecuado en los

alimentos que contienen colorantes artificiales, despertando de esa forma el interés de las grandes industrias internacionales por este cultivo (Esquivel y Araya, 2012).

2.2.8. Composición

“La pitahaya es un tesoro desde el punto de vista nutricional, contiene antioxidantes, mucílago, ácido ascórbico, fenoles”. Es rica en Vitamina B, C y minerales como Fe, P, Ca, además poseen un alto contenido de humedad, proteína y fibra. Las semillas están compuestas también por ácidos grasos que son beneficiosos para el organismo de los seres humanos porque actúan como antiinflamatoria y antioxidante (González y Gonzáles, 2014).

El fruto posee bajo valor calórico, debido a las bajas cantidades de hidratos de carbono de 9,20 g por cada 100 g de pulpa comestible, destacándose la vitamina C, que ayuda a la formación de glóbulos rojos, dientes, huesos y colágeno, creando de esta manera una resistencia a las infecciones (Verona-Ruiz et al., 2020). Además, la concentración de fructosa y glucosa de los principales sólidos solubles totales dependerá del grado de madurez durante la cosecha y variedad (Ochoa-Velazco et al., 2012), el sabor se relacionará de acuerdo al valor del pH, en las variedades agridulces (2.4-3) y dulces (0.5-0.6) % de malato (Mercado-Silva, 2018).

Además, los tallos son utilizados en la gastronomía por sus altos contenidos de proteína (Tabla 2) cruda (0.4g), humedad (84.4g), fibra cruda (0.5g), calorías (50cal), que son vitales para las personas como zinc, fósforo (16mg), cobre, magnesio, sodio y potasio (Juárez-Cruz et al., 2012).

Tabla 2.

*Composición química de *Hylocereus undatus*.*

Compuesto	Cantidad (mg)
Carbohidratos	13200
Vitamina C	25
Calcio	10
Hierro	0.3
Tiamina	00.3
Vitamina B2	0.04
Vitamina B3	0.2

2.2.9. Capacidad antioxidante

Aquellas plantas y frutas que poseen la capacidad antioxidante son fundamentales consumirlas porque ayudaran a “prevenir el daño oxidativo en el cuerpo humano”, la mayor capacidad antioxidante se presenta en pitahayas de frutos rojos con 160.84 mg de Trolox en 100 ml de jugo, superando a todas las cactáceas (Ochoa-Velasco et al., 2012). Son esenciales para la salud el cual evitará el desarrollo del estrés oxidativo en el organismo previniendo enfermedades crónicas como: anemia, arteriosclerosis, diabetes, cáncer, artritis, reumatoidea, etc. (Tapia et al., 2004). Además, previene la ancianidad y favorece la regeneración de colágeno, también el extracto posee excelentes compuestos bioactivos que ayudarán a la curación de heridas, como: antibacterianas y antiinflamatorias (Montadher et al., 2018).

2.2.10. Micropropagación

La micropropagación nos “permite mejorar la calidad genética, fisiológica y fitosanitaria” de diversas especies vegetales, incrementando la productividad y crecimiento en las plantas (Pérez, 1998). Obteniendo grandes cantidades en un corto tiempo y espacios (Pérez, 2011). Además, posee una excelente multiplicación a partir de la manipulación eficaz de la temperatura, luz y nutrición, asimismo se eliminan diversos microorganismos de patógenos presentes en los tejidos (Velázquez, 2020).

La manipulación de tejidos vegetales en condiciones *in vitro* para la micropropagación se obtiene de diferentes partes vegetativas como tejidos, células, cloroplastos, órganos, basándose en el aislamiento a través de fragmentos o explantes de la planta madre, donde se reproducirá por división celular mitótica obteniéndose un genotipo idéntico al patrón, denominados clones (Martínez y Martínez, 2019).

La micropropagación de las cactáceas consiste en activar las yemas axilares que se encuentran en las areolas, encargadas de generar nuevos brotes (Villavicencio et al., 2012). Está “activación se logra mediante la adición de citocininas al medio de cultivo”, siendo la más utilizada la (BAP) (Hubstenberger et al., 1992).

2.2.10.1. Obtención del material vegetal

Se selecciona la planta madre con las mejores características deseables como: vigorosidad, producción y libres de enfermedades para darle un cuidado más higiénico y así disminuir el porcentaje de contaminación en el cultivo *in vitro*, de donde se extraerán los fragmentos para obtener los explantes como: trozos de hojas, yemas, semillas, raíces, entre otros. (Martínez y Martínez, 2019).

2.2.10.2. Establecimiento *in vitro*

Se desinfecta los fragmentos de donde se obtendrán los explantes con hipoclorito de sodio de 5 a 15 minutos, luego se enjuaga con agua esterilizada 3 veces durante 5 minutos cada una, para eliminar agentes externos como, bacterias y hongos que están naturalmente en el ambiente, los explantes se deben extraer en condiciones estériles que nos brinda la cámara de flujo laminar, colocándose en un medio artificial con los nutrientes requeridos libre de contaminantes microbianos para su procesos de germinación de nuevos tejidos vegetales (Martínez y Martínez, 2019). En las cactáceas se recomienda a las semillas para la fuente principal de producción de explantes a partir de la germinación en condiciones *in vitro*, debido a que posee menor grado de contaminación en el medio natural que se encuentra (Morales, 2000).

2.2.10.3. Multiplicación *in vitro*

En esta etapa los explantes generan nuevos brotes produciendo nuevas plantas, para su desarrollo adecuado es importante la combinación de los reguladores de crecimiento en el medio de cultivo como las auxinas: ácido indol butírico (AIB), ácido indolacético (AIA), y ácido naftaleneacético (ANA) y citocininas: 6-benzylaminopurine (BAP), tidiazuron (TDZ), zeatina (ZEA), entre otras. Que son fundamentales para incrementar el número de brotes (Montiel, 2017). En el caso de las cactáceas para tener una adecuada brotación de yemas axilares es necesario menor cantidad de auxina y más citoquinina (Viñas et al., 2012).

2.2.10.4. Enraizamiento

Para el desarrollo adecuado del enraizamiento de los explantes se utilizan brotes o plántulas de 2 a 5 centímetros aproximadamente, obtenidas de la multiplicación, las cuales se colocarán en un nuevo medio de cultivo que contenga: auxinas, bajas concentraciones de gelificante, bajas concentraciones de sales inorgánicas, carbón activado y presencia de luz roja para estimular el enraizamiento (Velázquez, 2020).

2.2.10.5. Aclimatación en vivero

Consiste en llevar las plántulas del *in vitro* a condiciones naturales de vivero, esta fase se le considera la más complicada en la micropropagación, donde podemos perder grandes cantidades de plántulas por estrés, debido al cambio brusco de las condiciones del ambiente (Malqui, 2021). Las plántulas cultivadas en *in vitro* deben lavarse bien con bastante agua hasta retirar por completo el medio de cultivo de la raíz para evitar el desarrollo de microorganismos que pueden perjudicar el crecimiento adecuado de la planta, estas presentan diversos cambios como: “menos cera cuticular, las estomas pueden ser etípicos e incapaces del cierre completo y debido a que se les suministra una

fuentes de carbono no son completamente autótrofos. Por ello se les tiene que aclimatar gradualmente hasta que sean autótrofos” (Velázquez, 2020).

Para lograr un éxito adecuado en la aclimatación debemos tener un control fitosanitario eficiente, mantener la humedad relativa, el tipo de sustrato a utilizar y mantener una temperatura óptima (Gil et al., 2017). De esta manera se tendrá mayor crecimiento de sus raíces, un adecuado desarrollo de la plántula, floración y una buena propagación, para tener un crecimiento rápido en el sistema radicular es necesario que el sustrato sea fértil y bien drenado (Olivera et al., 2000).

2.3. Definición de términos

In vitro: es una técnica que nos permite cultivar plantas dentro de frascos de vidrio, garantizándonos asepsia, y el control de los factores ambientales (Castillo, 2000).

Areolas: es la parte de la planta donde emergen las espinas, flores, brotes o ramificaciones que forman estructuras vegetativas y reproductivas (Caetano et al., 2014).

Exótica: quiere decir una fruta sumamente llamativa, por sus colores en la cascara, pulpa y por su sabor particular (Ariffin et al., 2009).

Brácteas: son aquellas que se encuentran sobre la superficie de la cáscara brindando protección al fruto (Ariffin et al., 2009).

Mucílago: es una sustancia de origen vegetal, producida por células secretoras, rico en azúcares, que cubre el endospermo de la semilla (Villa-Uvidia et al., 2020).

Betalainas: son pigmentos naturales nitrogenados hidrosolubles, encargados de dar las diferentes tonalidades de coloración en los frutos (Arevalo, 2013).

Explante: fragmento vivo retirado de su propio órgano para ser colocado en un medio para su desarrollo (Sharry et al., 2015).

Cera cuticular: compleja homogenización de hidrocarburos alifáticos de cadenas largas con veinte a cuarenta carbonos (Reina-Pinto y Yephremov, 2009).

Auxinas: son hormonas vegetales que regulan el crecimiento de las plantas a nivel vegetal, promoviendo la división celular (Alcantara et al., 2019), además participa en varios procesos del desarrollo vegetal como: dominancia apical, crecimiento, tropismo, enraizamiento, entre otros (Sánchez, 2017).

Citoquininas: son hormonas vegetales que promueven la división celular, regulando el desarrollo, crecimiento en las plántulas e incrementando el desarrollo de brotes como el aumento de las yemas axilares y crecimiento de cloroplastos (Azcón-Bieto y Talón, 2008).

CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ámbito y condiciones de la investigación

3.1.1 Contexto de la investigación

La investigación se desarrolló en los ambientes del Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM), en el área de crecimiento vegetales y en el vivero de la escuela profesional de Agronomía de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín (UNSM). Ubicado en el Jr. Amorarca 3ra cuadra – distrito de Morales, provincia de San Martín, región San Martín (Figura 1).



Figura 1.

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación google hearth pro.

3.1.2 Periodo de ejecución

La investigación se desarrolló de febrero del 2022 hasta diciembre del 2022.

3.1.3 Autorizaciones y permisos

Esta investigación no cuenta con restricciones en los trabajos de Laboratorio, pero atendió las exigencias de consentimiento previo, en caso de los investigadores.

Se tuvo en cuenta los protocolos de seguridad con el uso de reactivos utilizados durante la preparación del medio de cultivo, con el respectivo permiso del Laboratorio de Biología y Genética Molecular.

3.1.4 Control ambiental y protocolos de bioseguridad

El presente proyecto de investigación se rigió por los protocolos de bioseguridad establecidos para laboratorios en sedes y filiales de la Universidad Nacional de San Martín y aprobados con resolución N° 298-2018-UNSM/CU-R/NLU. Al mismo tiempo los responsables y colaboradores de este proyecto se rigieron bajo las normas para afrontar el COVID-19 y protocolos de bioseguridad establecidos con código SL02LA28 en el Laboratorio de Biología y Genética Molecular.

3.1.5 Aplicación de principios éticos internacionales

El presente estudio consideró el respeto a los principios éticos generales, entre los que cabe destacar: totalidad/integridad, respeto a las personas, respeto al ecosistema, beneficencia y justicia.

3.2. Sistema de variables

3.2.1 Variables principales

Variable independiente

- Concentración de hormonas de crecimiento BAP y AIB en la micropropagación de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.).

Variable dependiente

- Porcentaje de contaminación y germinación.
- Número y longitud de brotes.
- Número y longitud de raíces.
- Porcentaje de supervivencia.

3.2.2 Variables secundarias

- Establecimiento *in vitro* de semillas de pitahaya.
- Multiplicación *in vitro* de pitahaya a partir de segmentos de cladodios.
- Enraizamiento *in vitro* de cladodios de pitahaya.
- Aclimatación de plántulas de pitahaya en vivero.

Tabla 3.*Descripción de variables por objetivos específicos*

Variable abstracta	Variable concreta	Medio de registro	Unidad de medida
Establecimiento <i>in vitro</i> de semillas de pitahaya.	Contaminación	Observación	Descriptiva
	Porcentaje de contaminación	Observación	%
	Germinación	Observación	Descriptiva
	Porcentaje de germinación	Observación	%
Multiplicación <i>in vitro</i> de pitahaya a partir de segmentos de cladodios.	Formación de brotes.	Observación	%
	Número de brotes.	Observación	N°
	Porcentaje de formación de callos.	Observación	%
	Porcentaje de contaminación	Observación	%
	Longitud de brote por explante.	Regla graduada.	cm
Enraizamiento <i>in vitro</i> de cladodios de pitahaya.	Porcentaje de enraizamiento.	Observación	%
	Longitud de raíz.	Regla graduada	cm
	Número de raíces.	Observación	N°
	Porcentaje de contaminación	Observación	%
Aclimatación de plántulas de pitahaya en vivero.	Porcentaje de supervivencia.	Observación	%
	Longitud de plántula.	Regla graduada	cm

3.3 Procedimientos de la investigación

3.3.1 Determinación de un protocolo óptimo de desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) para el establecimiento en condiciones *in vitro*

a) Material vegetal

Se obtuvieron frutos maduros de pitahaya naranja de Churuja con las mejores características del distrito de Churuja, provincia de Bongará, departamento de Amazonas. Se extrajo la pulpa del fruto para separar las semillas, y posteriormente se empleo arena para separar el mucílago de las semillas. Finalmente, las semillas fueron lavadas con jabon líquido y luego enjuadas con agua destilada para su uso.

b) Establecimiento *in vitro*

Las semillas de pitahaya naranja de Churuja fueron transferidas a cabina de flujo laminar donde se trabajo en condiciones asépticas. Las semillas fueron sumergidas en soluciones de: etanol al 70%, hipoclorito de sodio y lavadas con agua destilada estéril. Los tiempos de inmersión en cada solución y concentración del hipoclorito de sodio varió según los tratamientos empleados (Tabla 4).

Tabla 4.

Tratamientos para desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja.

Tratamiento	Etanol	Solución de hipoclorito de sodio	Lavados con agua estéril	Fuente
T1	-	0.6% x 10 min	3	Montiel-Frausto et al. (2016)
T2	70% x 20 s	1.5% x 20 min	4	Bozkurt et al. (2020)
T3	70% x 1 min	1% x 10 min	3	Este estudio
T4	70% x 1 min	1.5% x 10 min	3	Este estudio
T5	70% x 1 min	2% x 10 min	3	Este estudio

Posterior a la realización de la desinfección de semillas por cada tratamiento, se colocaron las semillas en papel estéril para eliminar el exceso de agua. Las semillas fueron introducidas en placas petri con medio de cultivo. El medio de cultivo estuvo compuesto por sales MS a la mitad de su concentración (2.22 g/L), sacarosa 20 g/L, agar 6.5 g/L y pH 5.8. Se colocaron un total de 15 semillas por placa. Las placas fueron selladas con parafilm y se roturalon las fechas y tratamientos respectivos. Todos los tratamientos se mantuvieron en un ambiente de incubación con condiciones controladas: 25 °C temperatura, fotoperiodo

16 horas luz con lux 2000 para su germinación durante 30 días. Transcurrido el tiempo establecido se realizó la evaluación de porcentaje de contaminación y porcentaje de germinación.

3.3.2 Determinación del medio de cultivo más eficiente en la multiplicación de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de segmentos de cladodios

a) Crecimiento de plantas germinadas *in vitro*

Las plantas de pitahaya naranja de Churuja de 30 días germinadas en condiciones *in vitro* fueron transferidas a frascos con medio de cultivo. El medio de cultivo estuvo compuesto por sales MS a la mitad de su concentración (2.22 g/L), sacarosa 20 g/L, agar 6.5 g/L y pH 5.8. Y se mantuvieron en un ambiente de incubación con condiciones controladas: 25 °C temperatura, fotoperiodo 16 horas luz con lux 2000 para su desarrollo durante 30 días.

b) Multiplicación *in vitro*

Se seleccionaron las plantas de pitahaya naranja de Churuja más desarrolladas para la fase de multiplicación. Se seccionaron los cladodios y posteriormente fueron segmentados en cuatro fragmentos o explantes de 0.5 cm aproximadamente (descartando el apice), luego fueron colocados en frascos de vidrio de 250 ml, con un volumen de 50 ml de medio de cultivo con diferentes concentraciones de Bencilaminopurina (BAP) y ácido indol-3-butírico (AIB) según cada tratamiento (Tabla 5). Los medios de cultivo estuvieron compuestos por sales MS 4.43 g/L, sacarosa 30 g/L, agar 6 g/L, carbón activado 2 g/L y pH 5.8. Los frascos fueron rotulados y sellados por papel aluminio y dos capas de parafilm.

Tabla 5.

Tratamientos para la multiplicación de pitahaya naranja de Churuja.

Tratamiento	Reguladores de crecimiento	
	BAP (mg/L)	AIB (mg/L)
T0	0.0	0.0
T1	0.5	0.0
T2	1.0	0.0
T3	1.5	0.0
T4	2.0	0.0
T5	0.5	0.1
T6	1.0	0.1
T7	1.5	0.1
T8	2.0	0.1

Todos los tratamientos se mantuvieron en un ambiente de incubación con condiciones controladas: 25 °C temperatura, fotoperiodo 16 horas luz con 2000 lux durante 60 días. Transcurrido los primeros 30 días se realizó la evaluación de formación de brotes y número de brotes por explante y posteriormente a los 60 días se evaluaron la formación de brotes, número de brotes, porcentaje de formación de callos y longitud de brotes por explante.

3.3.3 Determinación del medio de cultivo más eficiente en el enraizamiento de cladodios de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones *in vitro*

a) Selección de explantes multiplicados *in vitro*

Se seleccionaron los brotes obtenidos de la fase de multiplicación *in vitro* de pitahaya naranja de Churuja, seleccionando los brotes que no presentarán malformaciones y se seccionaron del explante inicial, obteniendo explantes de aproximadamente 1.5 cm de longitud.

b) Enraizamiento *in vitro*

Los brotes seleccionados fueron colocados en frascos de vidrio de 250 ml, con un volumen de 50 ml de medio de cultivo con diferentes concentraciones de ácido indol-3-butírico (AIB) según cada tratamiento (Tabla 6). Los medios de cultivo estuvieron compuestos por sales MS 4.43 g/L, sacarosa 30 g/L, agar 6 g/L, carbón activado 2 g/L y pH 5.8. Los frascos fueron rotulados y sellados por papel aluminio y dos capas de parafilm.

Tabla 6.

Tratamientos para el enraizamiento in vitro de pitahaya naranja de Churuja.

Tratamiento	Reguladores de crecimiento
	AIB (mg/L)
T0	0.00
T1	0.05
T2	0.10
T3	0.20
T4	0.50
T5	0.75
T6	1.00
T7	1.50
T8	2.00

Todos los tratamientos se mantuvieron en un ambiente de incubación con condiciones controladas: 25 °C temperatura, fotoperiodo 16 horas luz con 2000 lux durante 30 días. Transcurrido los días establecidos se realizó la evaluación de porcentaje de explantes enraizados, número de raíces, longitud radicular y longitud de brotes.

3.3.4 Evaluación del sustrato más adecuado en la aclimatación de plántulas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones de vivero

a) Selección de explantes enraizadas *in vitro*

Se seleccionaron los explantes que presenten 3 cm de longitud y dos raíces formadas. Los explantes fueron retirados de las condiciones *in vitro* para continuar con el proceso de pre-aclimatación, lavando primeramente las raíces con abundante agua esteril para retirar por completo el medio de cultivo de la raíz y de esa manera evitar la contaminación por hongos oportunistas. Las plantas *ex vitro* se mantuvieron en una envase plástico con agua destilada esteril en un ambiente de incubación con condiciones controladas: 25 °C temperatura, fotoperiodo 16 horas luz con 2000 lux durante 7 días.

b) Selección de explantes enraizadas *in vitro*

Las plantas *ex vitro* pre-aclimatadas fueron sembradas en macetas con diferentes sustratos (Tabla 7) para continuar con su proceso de aclimatación. Todos los tratamientos con diferentes sustratos se mantuvieron en el ambiente de incubación con condiciones controladas: 25 °C temperatura, fotoperiodo 16 horas luz con 2000 lux durante 12 días. Transcurrido los días establecidos todas las macetas fueron transferidas al vivero de la Facultad de Ciencias Agrarias para continuar con el proceso de aclimatación con temperatura y fotoperiodo natural. Las macetas fueron regadas intercalando dos días, y se realizaron evaluaciones de sobrevivencia y altura cada 12 días hasta un total de 60 días que se mantuvieron en condiciones de vivero. Transcurrido los 60 días se realizó las siguientes evaluaciones: diámetro de cladodio, número de raíces, longitud de raíz, volumen, área y se realizó análisis fisicoquímicos de los sustratos empleados.

Tabla 7.*Tratamientos para la aclimatación de pitahaya naranja de Churuja.*

Tratamiento	Sustratos orgánicos (proporción 2:1)
T1	Tierra de montaña + arena
T2	Tierra agrícola + arena
T3	Humus + arena
T4	Muzgo + arena
T5	Compost + arena

3.3.5 Diseño estadístico y análisis de datos

Para el establecimiento *in vitro* de semillas de pitahaya naranja de Churuja se establecieron cinco tratamientos, con 10 repeticiones por tratamiento, siendo la unidad experimental una placa con 15 semillas de pitahaya naranja de Churuja. En la fase de multiplicación se establecieron nueve tratamientos con nueve repeticiones por tratamiento, siendo la unidad experimental un frasco con 4 explantes. En la fase de enraizamiento se establecieron nueve tratamientos con nueve repeticiones por tratamiento, siendo la unidad experimental un frasco con 3 explantes. En la fase de aclimatación se establecieron cinco tratamientos con 15 repeticiones por tratamiento, siendo la unidad experimental una maceta con 1 planta de pitahaya naranja de Churuja. Para todos los experimentos desarrollados se empleo un diseño complementa al azar (DCA) y una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Los datos fueron analizados con los paquetes estadísticos agricolae y car del programa estadístico libre R (versión 3.2.0).

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) para el establecimiento en condiciones *in vitro*

Se realizó la desinfección de las semillas de pitahaya naranja de Churuja para el establecimiento en condiciones *in vitro*, empleando cinco tratamientos. La Tabla 8 muestra diferencias significativas entre los tratamientos en la desinfección de las semillas de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 30 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. El mayor porcentaje de contaminación se observó en el tratamiento T1 con 5.33%, mientras que los tratamientos T2 y T5 presentan 0% de contaminación (Figura 2).

Tabla 8.

Análisis de varianza para la contaminación de semillas de pitahaya naranja de Churuja en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	213.3	53.33	3.942	0.0079 **
Error	45	608.9	13.53		
Total	49	822.2			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 93.92\%$

C.V. = 10.59%

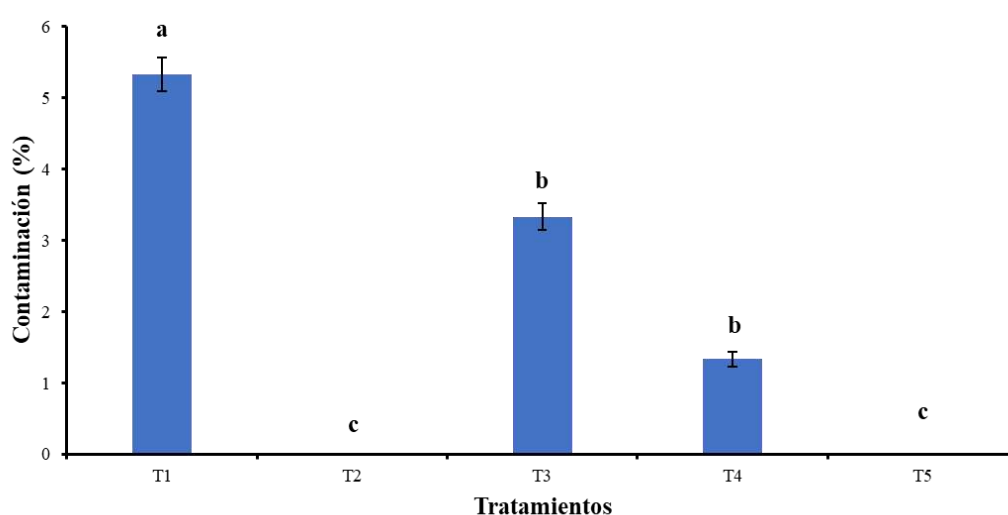


Figura 2.

Porcentaje de contaminación de semillas de pitahaya naranja de Churuja a los 30 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se evaluó la germinación de las semillas de pitahaya naranja de Churuja para el establecimiento en condiciones *in vitro*, la evaluación se realizó en los mismos cinco tratamientos empleados en la desinfección. La Tabla 9 muestra que no se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en la germinación de las semillas de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 30 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. Los tratamientos T2 y T5 lograron 100% de germinación seguidos del tratamiento T3 con 99% y finalmente los tratamientos T1 y T4 con 98% (Figura 3).

Tabla 9.

Análisis de varianza de la germinación de semillas de pitahaya naranja de Churuja en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	30.22	7.56	1.663	0.1750 NS
Error	45	204.44	4.54		
Total	49	234.66			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 91.71\%$

C.V. = 12.15%

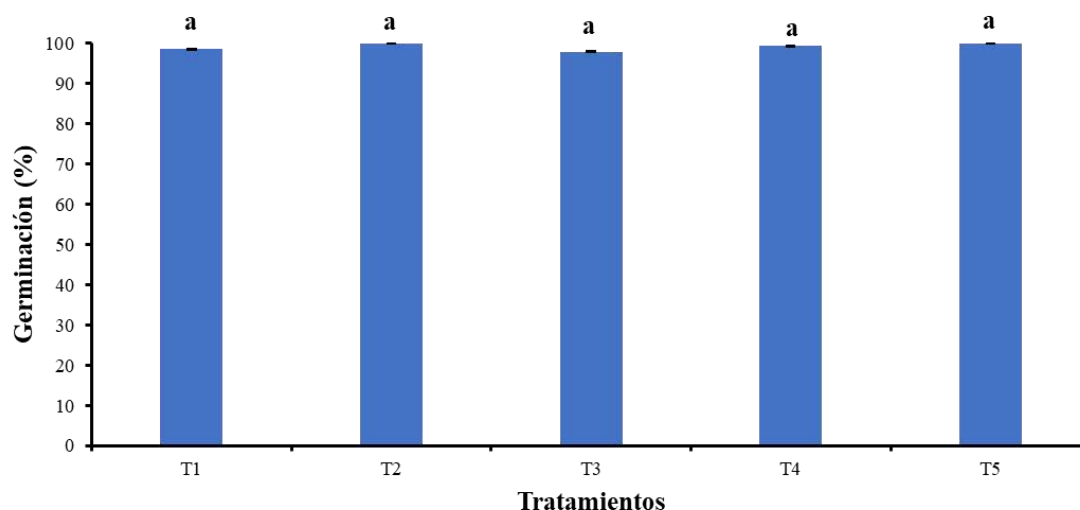


Figura 3.

Porcentaje de germinación de semillas de pitahaya naranja de Churuja establecidas los 30 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

4.2 Multiplicación *in vitro* de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de segmentos de cladodios

Se evaluó la respuesta en la formación de brotes en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación en los primeros 30 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. En la Tabla 9 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en la formación de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 30 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. Los tratamientos T0 (control) y T1 presentaron los mayores porcentajes con 88% de formación de brotes por explante (Figura 4).

Tabla 10.

Análisis de varianza de la formación de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 30 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	S.C.	C.M.	F cal.	p-valor
Tratamiento	8	81.7	10.2	19.55	< 0.0001 **
Error	72	37.6	0.52		
Total	80	119.3			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

R² = 95%

C.V. = 15.15%

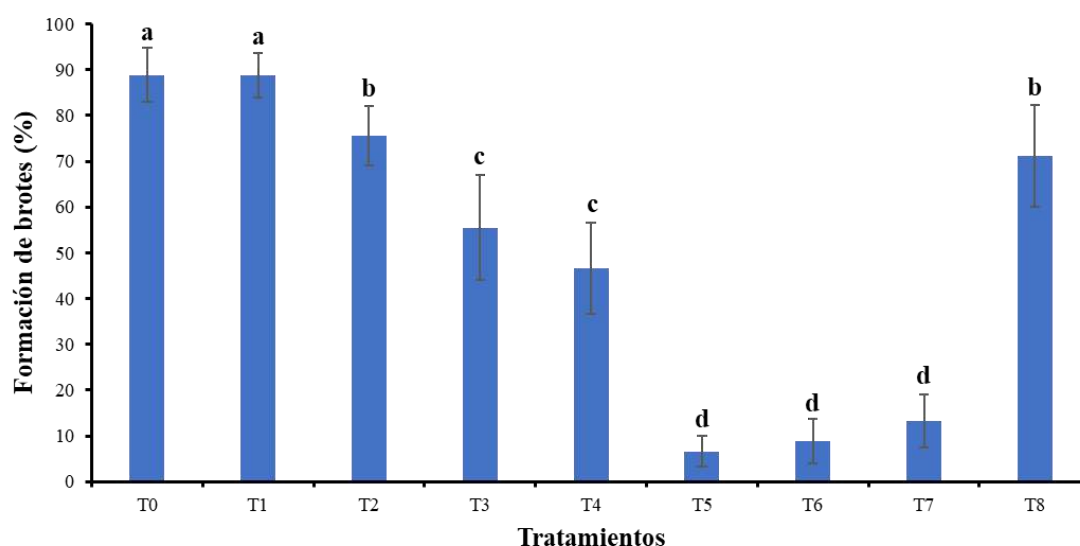


Figura 4.

Porcentaje de formación de brotes por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 30 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

La segunda evaluación de la respuesta en la formación de brotes en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación. En la Tabla 11 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en la formación de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. Los tratamientos T0 (control), T1, T2 y T8 presentaron los mayores porcentajes con 100% de formación de brotes por explante, mientras que el tratamiento T6 presento el menor porcentaje de formación de brotes por explante con 75% (Figura 5).

Tabla 11.

Análisis de varianza de la formación de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	43.95	5.49	4.837	< 0.0001 **
Error	72	81.78	1.14		
Total	80	125.73			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

R² = 94%

C.V. = 11.12%

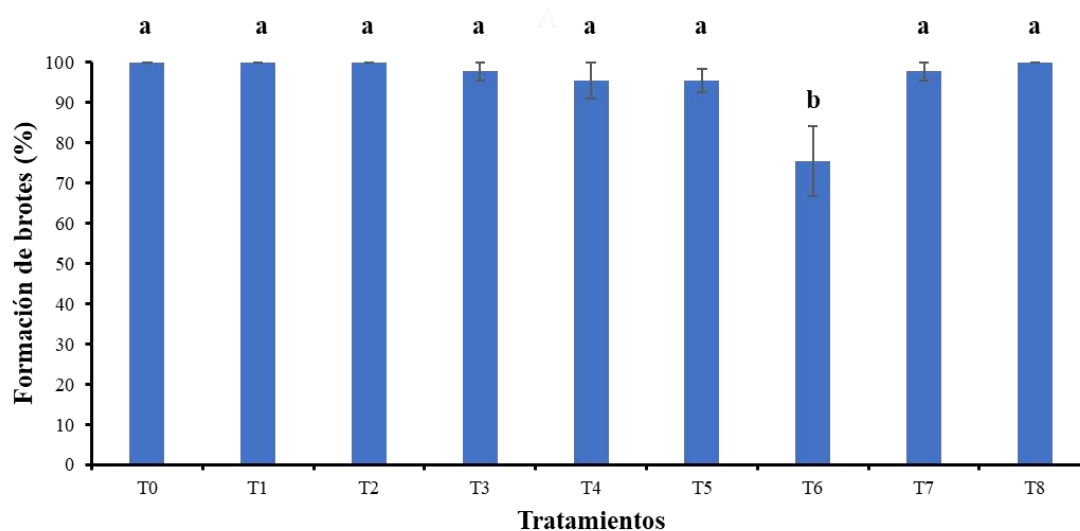


Figura 5.

Porcentaje de formación de brotes por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se evaluó el número de brotes formados en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación. En la Tabla 12 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en el número de brotes formados en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 30 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. El tratamiento que presentó mayor número de brotes fue el tratamiento T8, presentando 2.4 brotes en promedio por explante, mientras que los demás tratamientos presentaron un rango de 0.92 a 1.23 brotes en promedio por explante, sin presentar diferencias significativas entre todas (Figura 6).

Tabla 12.

Análisis de varianza del número de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 30 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	16.41	2.05	35.33	< 0.0001 **
Error	72	4.18	0.06		
Total	80	20.59			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

R² = 90%

C.V. = 10.17%

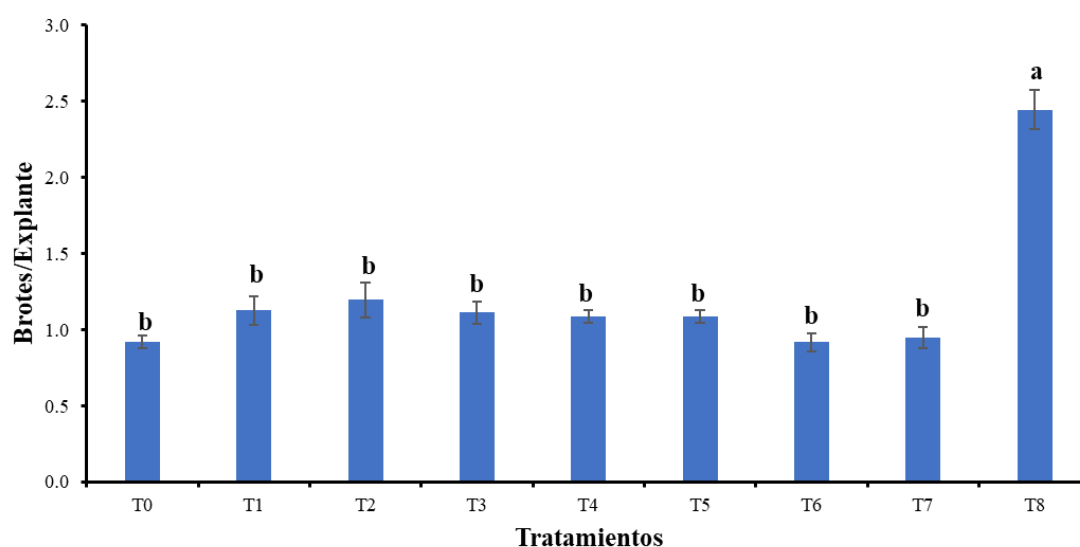


Figura 6.

Número de brotes formados por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 30 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

La segunda evaluación del número de brotes formados en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación. En la Tabla 13 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en el número de brotes formados en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. El tratamiento T8 presento mayor número de brotes con 9.67 brotes en promedio por explante, mientras que los tratamientos de menor número de brotes fueron los tratamientos T5 y T6 con 1.97 y 1.92 brotes en promedio por explante, respectivamente (Figura 7).

Tabla 13.

Análisis de varianza del número de brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	434.8	54.35	100.3	< 0.0001 **
Error	72	39.0	0.54		
Total	80	473.8			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

R² = 92%

C.V. = 13.45%

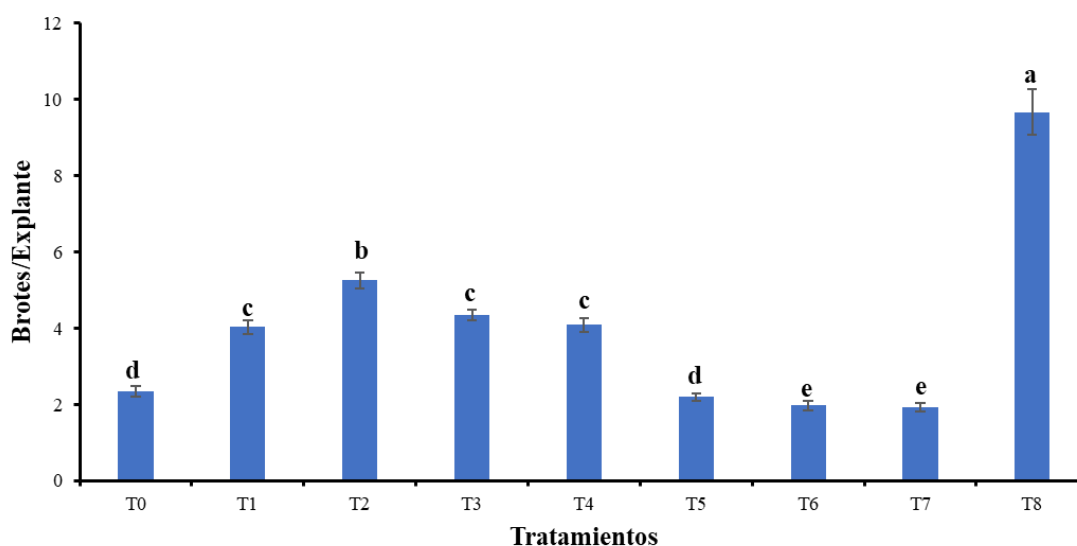


Figura 7.

Número de brotes formados por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación de la longitud de los brotes formados en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación a los 60 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. En la Tabla 14 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en la longitud de los brotes formados en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. El tratamiento T2 presenta la mayor longitud de brotes por explante de pitahaya naranja de Churuja con 2.34 cm, mientras que el tratamiento T6 presenta la menor longitud de brotes con 0.59 cm (Figura 8).

Tabla 14.

Análisis de varianza de la longitud de los brotes en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	26.48	3.31	83.40	< 0.0001 **
Error	72	2.86	0.04		
Total	80	29.34			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

R² = 90%

C.V. = 15.02%

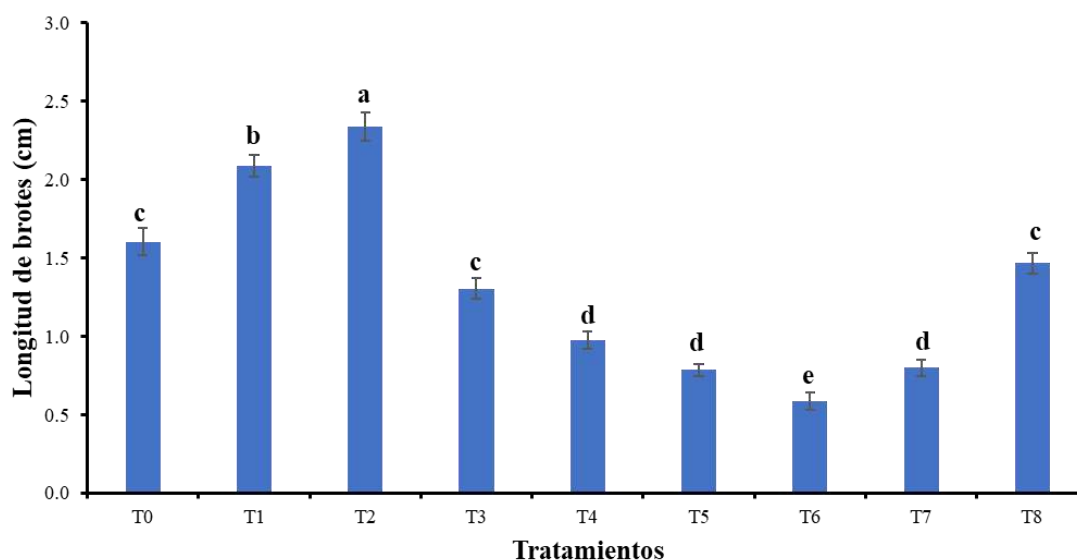


Figura 8.

Longitud de los brotes formados en los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación en la formación de callos en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación a los 60 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. En la Tabla 15 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en la formación de callos en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*. El tratamiento T5 presenta el mayor porcentaje de formación de callos por explante de pitahaya naranja de Churuja con 86%, mientras que el tratamiento T7 presenta el menor porcentaje con 6% de formación de callos por explante (Figura 9).

Tabla 15.

Análisis de varianza de la formación de callos en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	41.22	5.15	9.775	< 0.0001 **
Error	72	37.96	0.53		
Total	80	125.73			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 97\%$

C.V. = 18.12%

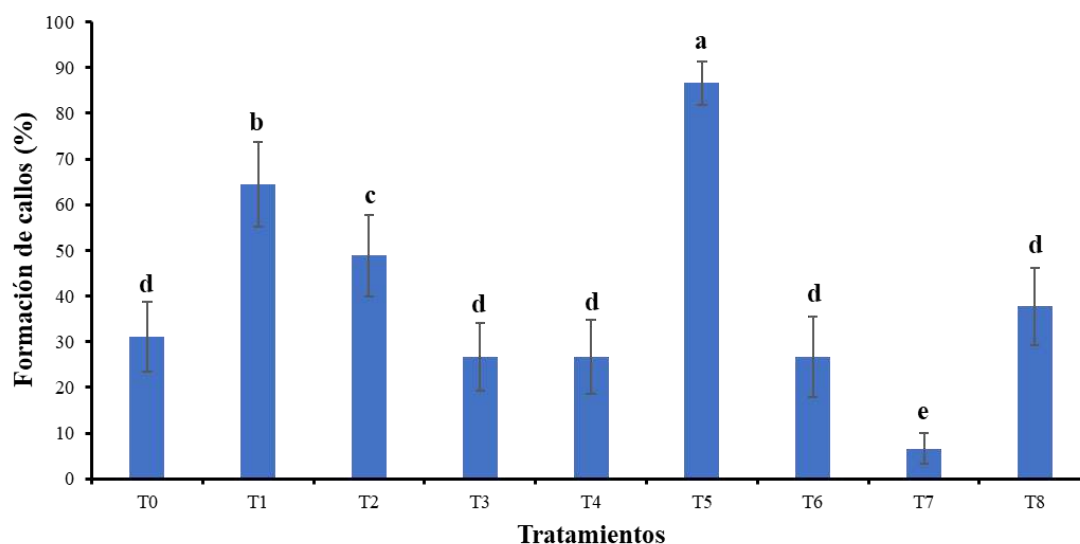


Figura 9.

Porcentaje de formación de callos por explante de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

4.3 Enraizamiento *in vitro* de cladodios pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones *in vitro*

Se realizó la evaluación en la respuesta de formación de raíces en los cladodios (explantes) de pitahaya naranja de Churuja obtenidos de la fase de multiplicación, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores a la introducción en los medios de cultivo de enraizamiento. En la Tabla 16 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en el porcentaje de enraizamiento en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. Los tratamientos T0, T1, T2, T4, T5, T6 y T8 no presentaron diferencias significativas entre ellos, pero obteniéndose los mayores porcentajes de enraizamiento en los tratamientos T0, T1, T4, T5 y T6 con 100% de formación de raíces en los explantes, mientras que los tratamientos T3 y T7 presentaron los menores porcentajes de enraizamiento con 91.67 (Figura 10).

Tabla 16.

Análisis de varianza del porcentaje de enraizamiento en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	895	111.88	2.23	0.0347 *
Error	72	3611	50.15		
Total	80	4506			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

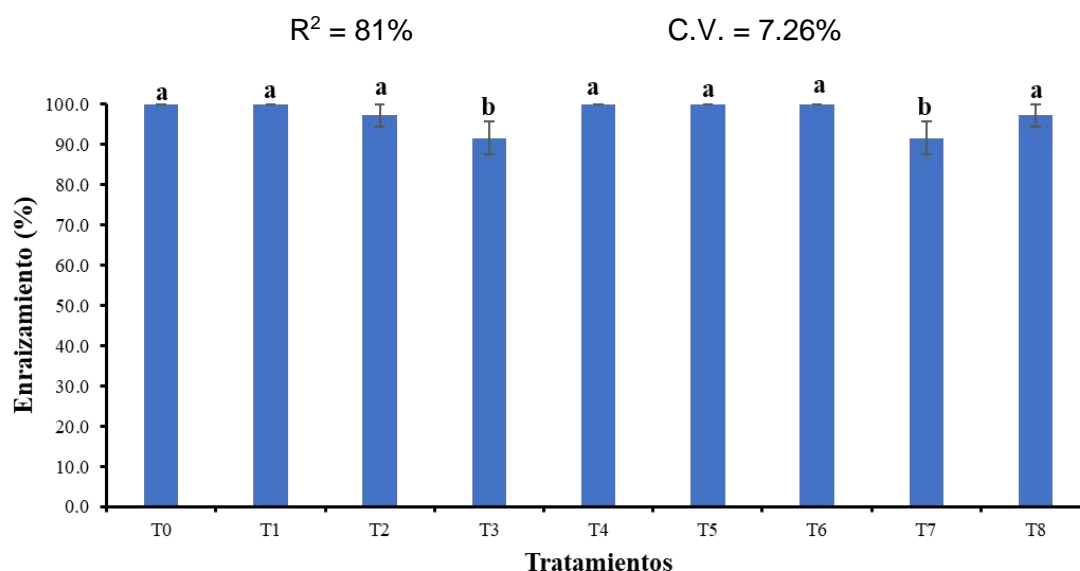


Figura 10.

Porcentaje de enraizamiento en los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación del número de raíces formadas por explante de pitahaya naranja de Churuja en la fase de enraizamiento, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores a la introducción en los medios de cultivo de enraizamiento. En la Tabla 17 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en el número de raíces en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. Los tratamientos T6 y T7 presentaron los mayores números de raíces formadas por explante con 3.26 y 3.41 raíces respectivamente, mientras que el tratamiento T0 (control) fue el de menor número de raíces con 1.78 raíces por explante (Figura 11).

Tabla 17.

Análisis de varianza del número de raíces en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	16.86	2.11	13.6	< 0.0001 **
Error	72	11.16	0.16		
Total	80	28.02			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 91\%$

C.V. = 13.85%

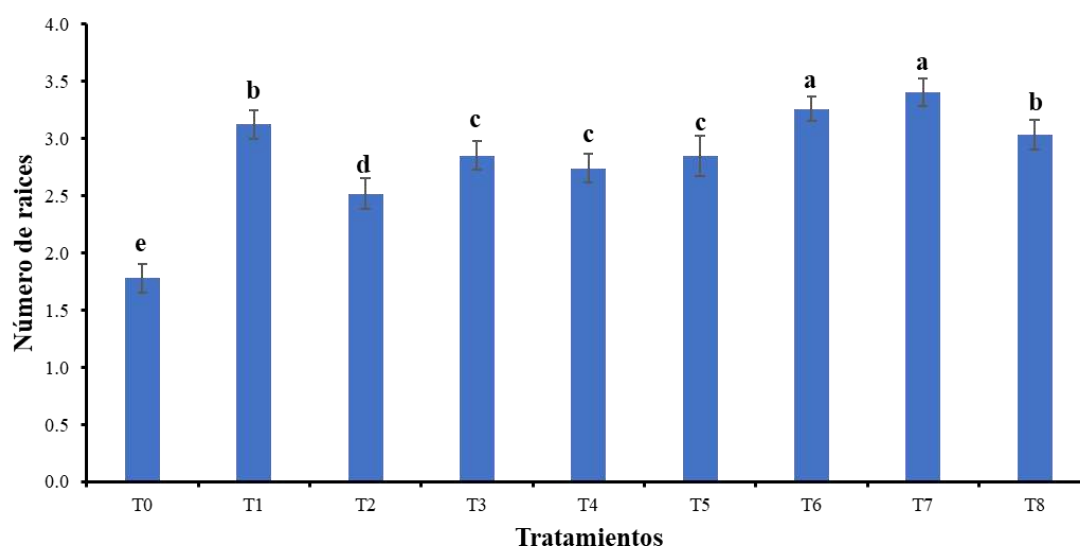


Figura 11.

Número de raíces formadas en los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación de la longitud de las raíces formadas en los explantes de pitahaya naranja de Churuja en la fase de enraizamiento, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores a la introducción en los medios de cultivo de enraizamiento. En la Tabla 18 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en la longitud de las raíces en los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. El tratamiento T6 presento la mayor longitud de raíces con 4.12 cm, mientras que el tratamiento T8 presento la menor longitud de raíces con 2.06 cm (Figura 12).

Tabla 18.

Análisis de varianza de la longitud de raíces en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	26.49	3.31	48.14	< 0.0001 **
Error	72	4.95	0.07		
Total	80	31.44			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 84\%$

C.V. = 7.91%

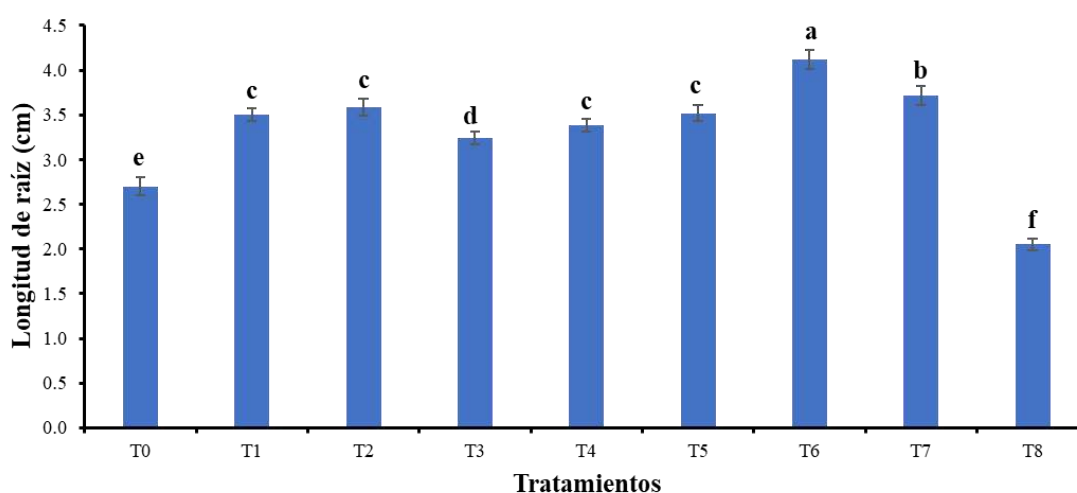


Figura 12.

Longitud de raíces formadas en los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación de la longitud de los explantes de pitahaya naranja de Churuja en la fase de enraizamiento, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores a la introducción en los medios de cultivo de enraizamiento. En la Tabla 19 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en la longitud de los explantes de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. El tratamiento T0 (control) presentó la mayor longitud de explante con 4.71 cm, mientras que los tratamientos T5 y T6 presentaron las menores longitudes de explantes con 2.91 y 2.93 cm, respectivamente (Figura 13).

Tabla 19.

Análisis de varianza de la longitud de los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	8	33.48	4.19	11.98	< 0.0001 **
Error	72	25.15	0.35		
Total	80	58.63			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 87\%$

C.V. = 15.94%

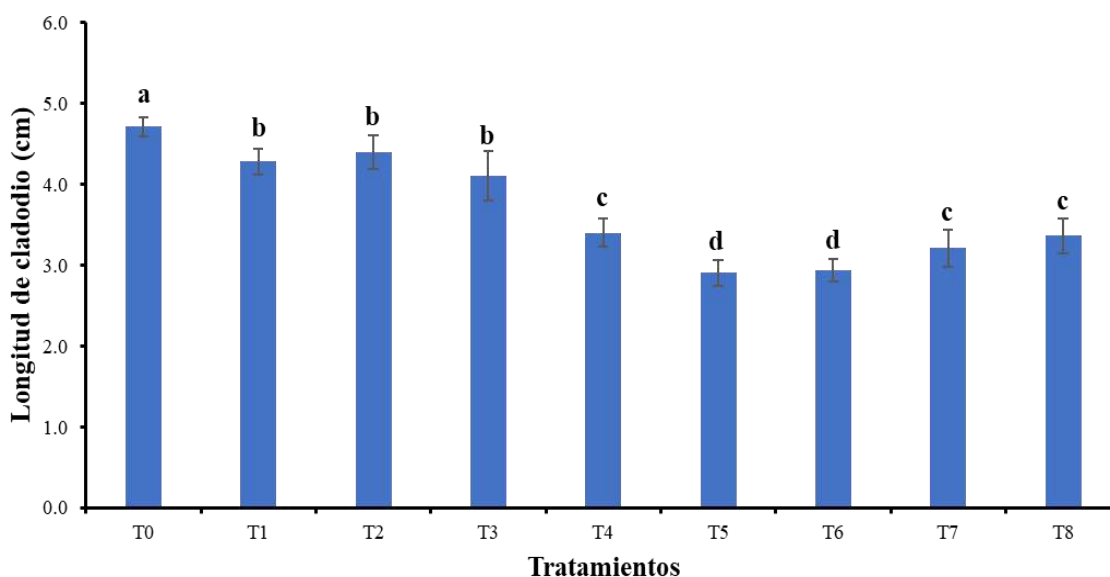


Figura 13.

Longitud de los explantes de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones *in vitro*. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

4.4 Aclimatación de plántulas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones vivero

Se realizó la evaluación de la respuesta en la aclimatación en condiciones de vivero de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) multiplicadas y enraizadas en condiciones *in vitro*. Para ello se realizó la evaluación del porcentaje de sobrevivencia y altura de los explantes cada 12 días, durante un total de 60 días. En la evaluación de sobrevivencia de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en condiciones *ex vitro* se observó un 100% en todos los tratamientos hasta el último día de evaluación (día 60).

Se obtuvieron los resultados de las evaluaciones de altura de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en condiciones de vivero, realizándose una curva de crecimiento para determinar los mejores tratamientos en el desarrollo de la plántula. La Figura 14 muestra un crecimiento mayor de las plántulas en el tratamiento T4 (musgo + arena) desde el día 12, y manteniendo esa tendencia en cada evaluación. Pero en el caso del tratamiento T5 (compost + arena) se observó el menor desarrollo de las plántulas en cada evaluación realizada.

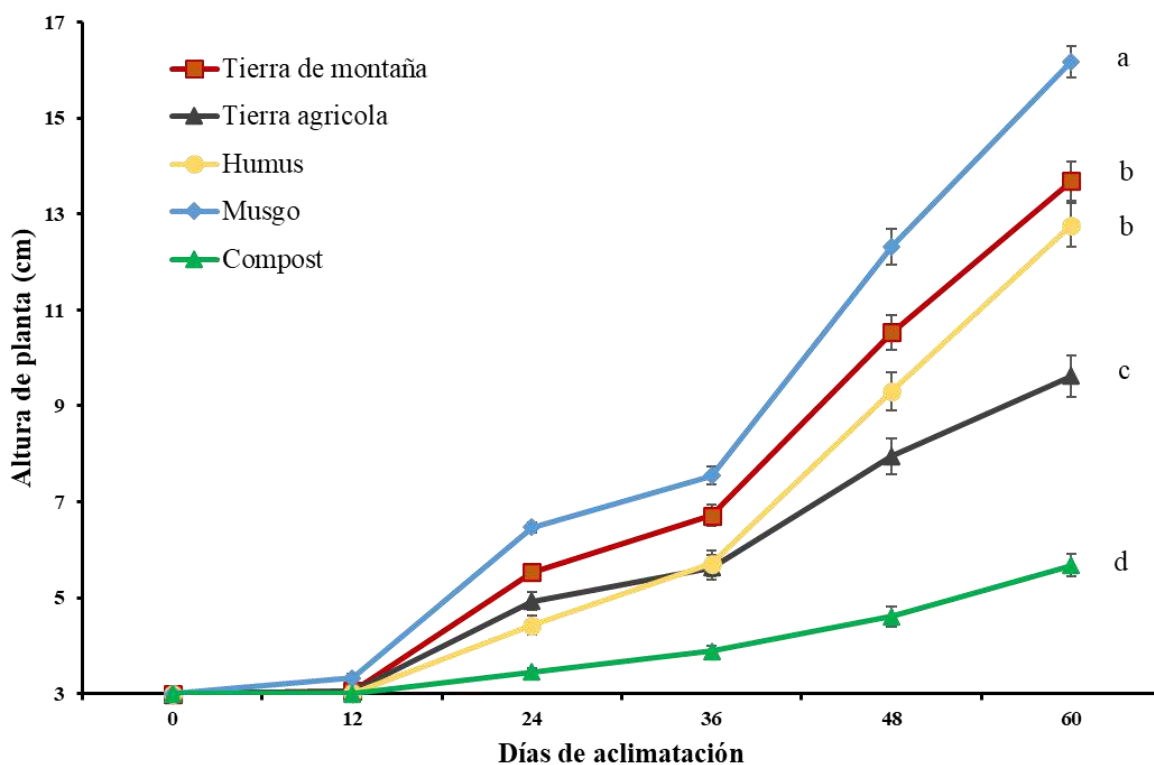


Figura 14.

Desarrollo de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en diferentes sustratos en un periodo de 60 días en condiciones de vivero. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

En la última evaluación realizada (a los 60 días posteriores a ser plántulas *ex vitro*) de la longitud de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en los diferentes sustratos, se evidenció diferencia significativa entre los tratamientos (Tabla 20). El tratamiento de mayor longitud de plántula fue el tratamiento T4 (musgo + arena) con 16.18 cm, mientras que el tratamiento T5 (compost + arena) fue el que presentó menor longitud de plántula con 5.67 cm (Figura 15).

Tabla 20.

Análisis de varianza del porcentaje de enraizamiento en los explantes de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones in vitro.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	986.7	246.68	111.1	< 0.0001 **
Error	70	155.4	2.22		
Total	74	1142.1			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 86\%$

C.V. = 12.86%

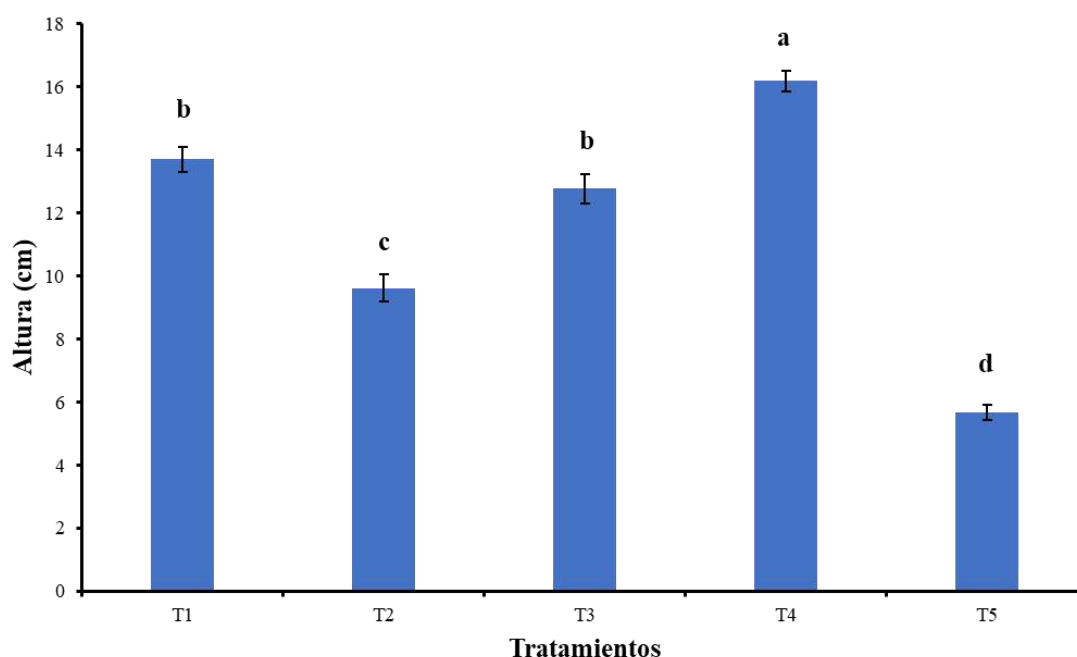


Figura 15.

Longitud de plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación del diámetro de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en diferentes sustratos, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores al establecimiento en condiciones de vivero. En la Tabla 21 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en el diámetro de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. El tratamiento T4 (musgo + arena) presento el mayor diámetro de plántula con 9.06 cm, mientras que el tratamiento T5 (compost + arena) fue el que presento menor diámetro de plántula con 4.81 cm (Figura 16).

Tabla 21.

Análisis de varianza del diámetro de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	140.66	35.17	63	< 0.0001 **
Error	70	39.07	0.56		
Total	74	179.73			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 88\%$

C.V. = 10.40%

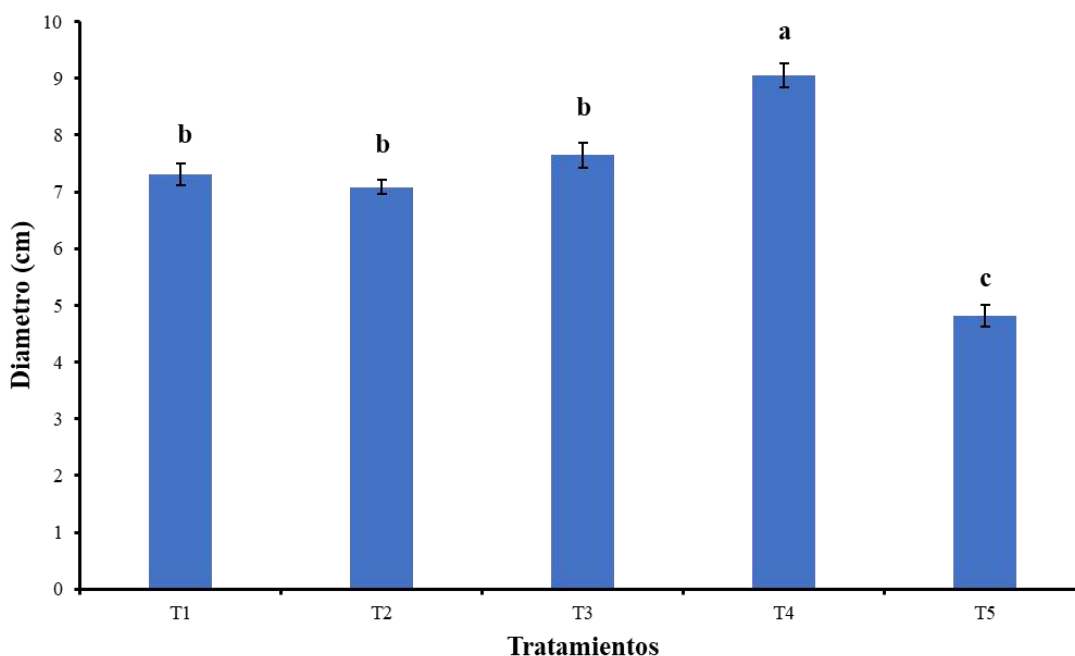


Figura 16.

Diámetro de plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación del volumen de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en diferentes sustratos, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores al establecimiento en condiciones de vivero. En la Tabla 22 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en el volumen de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. El tratamiento T4 (musgo + arena) presento el mayor volumen de plántulas con 4.37 cm^3 , mientras que el tratamiento T5 (compost + arena) fue el que presento menor volumen de plántulas con 0.75 cm^3 (Figura 17).

Tabla 22.

Análisis de varianza del volumen de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	109.81	27.45	56.59	< 0.0001 **
Error	70	33.96	0.49		
Total	74	143.77			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 89\%$

C.V. = 14.89%

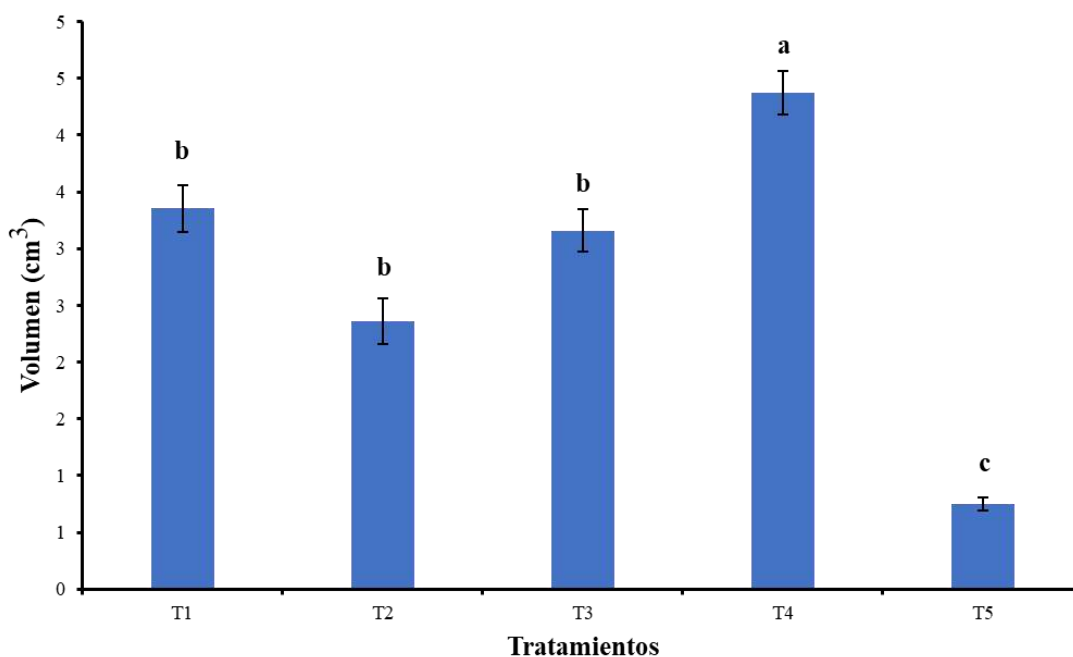


Figura 17.

Volumen de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación del área de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en diferentes sustratos, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores al establecimiento en condiciones de vivero. En la Tabla 23 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en el área de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. El tratamiento T4 (musgo + arena) presento la mayor área de plántulas con 13.85 cm², mientras que el tratamiento T5 (compost + arena) fue el que presento menor área de plántulas con 4.53 cm² (Figura 18).

Tabla 23.

Análisis de varianza del área de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	780.4	195.09	46.65	< 0.0001 **
Error	70	292.8	4.18		
Total	74	1073.2			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

R² = 92%

C.V. = 10.96%

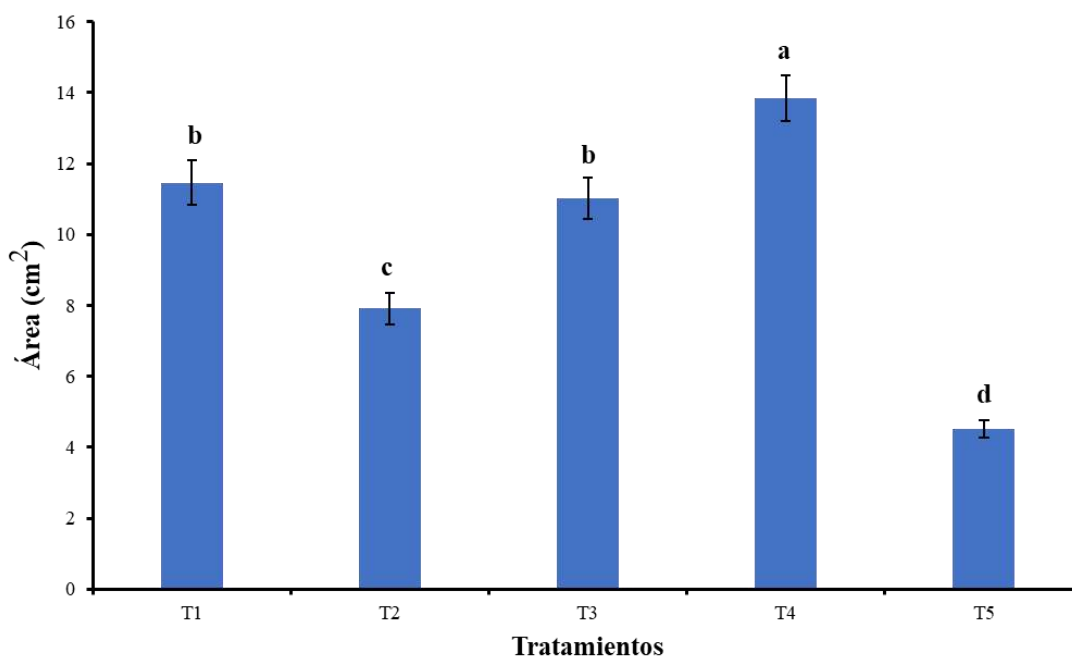


Figura 18.

Área de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación del número de raíces en las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en diferentes sustratos, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores al establecimiento en condiciones de vivero. En la Tabla 24 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en el número de raíces de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. El tratamiento T4 (musgo + arena) presentó el mayor número de raíces por plántula con 5.2 raíces, mientras que el tratamiento T5 (compost + arena) fue el que presentó menor número de raíces por plántula con 3.8 raíces (Figura 19).

Tabla 24.

Análisis de varianza del número de raíces de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	24.45	6.11	7.89	< 0.0001 **
Error	70	54.27	0.78		
Total	74	78.72			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 81\%$

C.V. = 14.47%

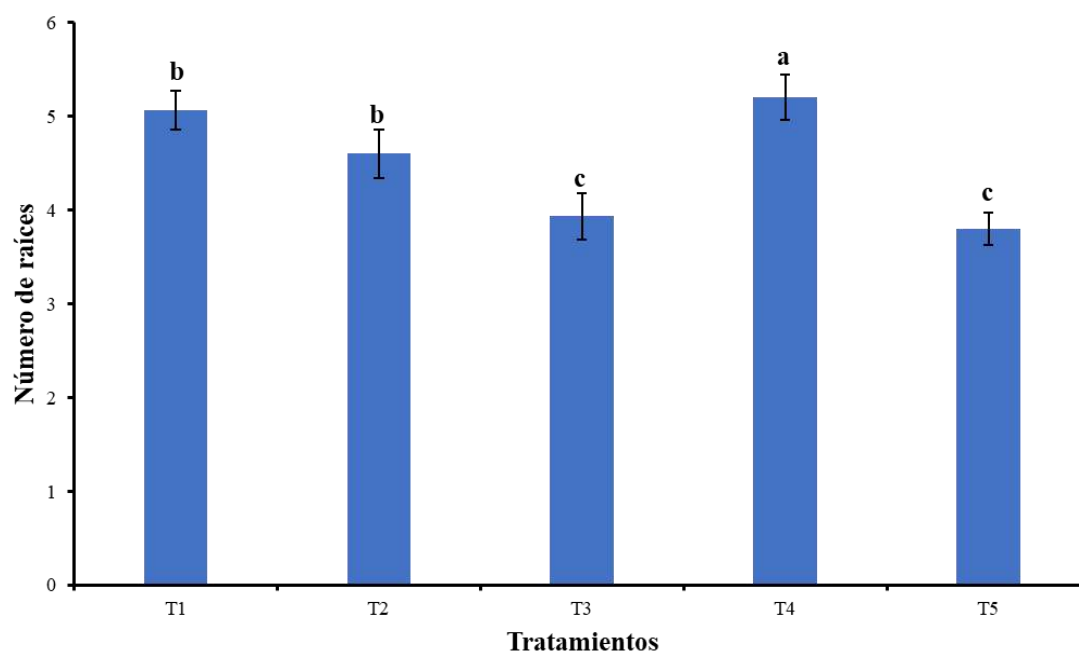


Figura 19.

Número de raíces en plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Se realizó la evaluación de la longitud de raíces en las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en diferentes sustratos, la evaluación se realizó a los 60 días posteriores al establecimiento en condiciones de vivero. En la Tabla 25 se evidencia diferencia significativa entre los tratamientos en la longitud de raíces de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja evaluados a los 60 días. El tratamiento T4 (musgo + arena) presento la mayor longitud de raíces por plántula con 7.91 cm, mientras que el tratamiento T5 (compost + arena) fue el que presento menor longitud de raíces por plántula con 4.23 cm (Figura 20).

Tabla 25.

Análisis de varianza de la longitud de raíces de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja a los 60 días en condiciones de vivero.

Fuente de variación	GL	SC	CM	F	p-valor
Tratamiento	4	117.47	29.37	22.96	< 0.0001 **
Error	70	89.53	1.28		
Total	74	207			

* = significativo, ** = altamente significativo, NS = no significativo.

$R^2 = 86\%$

C.V. = 16.01%

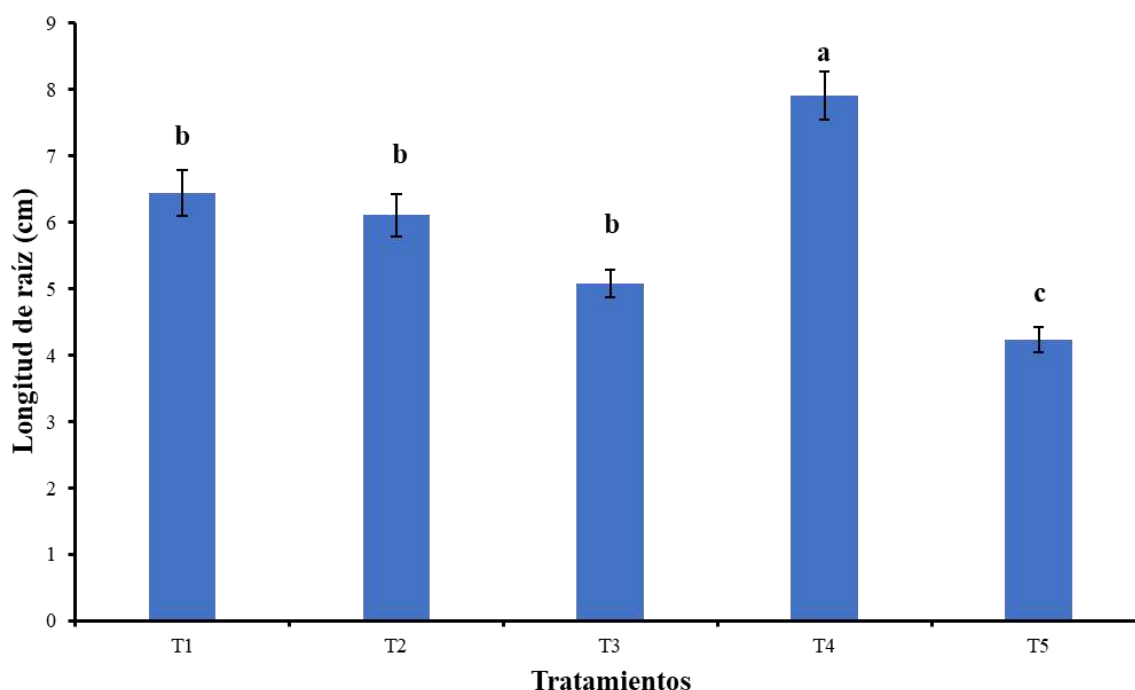


Figura 20.

Longitud de las raíces en plántulas de pitahaya naranja de Churuja establecidas a los 60 días en condiciones de vivero. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$).

Los análisis fisicoquímicos de los sustratos empleados en la fase de aclimatación de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja fueron realizados en el Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de San Martín (UNSM). En la clase textural todos los tratamientos fueron arenosos a excepción del T4 que fue turba. En cuanto al pH no se presentó diferencia significativa entre los cinco tratamientos. En la conductividad eléctrica (C.E.) fueron los tratamientos T3 y T5 los que presentaron mayores niveles con 4562.67 y 5320.82 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectivamente. En el análisis de materia orgánica (M.O.) el tratamiento T2 presentó mayor porcentaje con 3.27%. En el caso del porcentaje de nitrógeno (N) presente en los sustratos no se observaron diferencias significativas entre todos los tratamientos. En el análisis de fósforo (P) se obtuvieron mayores valores en los tratamientos T1, T2 y T3 con 10.76, 11.52 y 12.98 ppm, respectivamente. En el análisis de potasio (K) se obtuvo el mayor nivel en el tratamiento T3 con 206.07 ppm. En el análisis de capacidad de intercambio catiónico (CIC) se obtuvo el mayor nivel en el tratamiento T3 con 21.33 meq/100g. En los iones de calcio (Ca^{+2}) y magnesio (Mg^{+2}) el tratamiento T3 presentó los mayores niveles con 17.27 y 1.39 meq/100g, respectivamente. En el análisis de iones de potasio (K^{+}) los niveles más altos fueron obtenidos en los tratamientos T1, T2 y T3 con 0.43, 0.43 y 0.50 meq/100g, respectivamente. En el análisis de iones de sodio (Na^{+}) el nivel más alto mostrado fue por el tratamiento T5 con 2.33 meq/100g. Todos estos datos se presentan en la Tabla 26 con sus respectivos análisis estadísticos.

Tabla 26.

Análisis de fisicoquímico de los sustratos empleados en la aclimatación de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja.

Tratamiento	Clase Textural	pH	C.E. $\mu\text{S}/\text{cm}$	M.O. %	N %	P ppm	K ppm	CIC meq/100g	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^{+}	Na^{+}
T1	ARENOSO	6.98 ^a	468.79 ^b	2.79 ^b	0.10 ^a	10.76 ^a	158.97 ^b	13.33 ^b	11.31 ^b	0.76 ^c	0.43 ^a	1.07 ^c
T2	ARENOSO	7.07 ^a	298.26 ^b	3.27 ^a	0.10 ^a	11.52 ^a	166.23 ^b	14.33 ^b	11.66 ^b	1.17 ^b	0.43 ^a	0.83 ^c
T3	ARENOSO	6.86 ^a	4562.67 ^a	2.19 ^c	0.10 ^a	12.98 ^a	206.07 ^a	21.33 ^a	17.27 ^a	1.39 ^a	0.50 ^a	2.07 ^b
T4	TURBA	6.71 ^a	541.45 ^b	2.57 ^b	0.10 ^a	7.90 ^b	99.01 ^c	11.20 ^b	9.06 ^b	0.87 ^c	0.23 ^b	0.87 ^c
T5	ARENOSO	6.53 ^a	5320.82 ^a	2.05 ^c	0.10 ^a	8.41 ^b	94.30 ^c	11.33 ^b	7.92 ^b	0.80 ^c	0.23 ^b	2.33 ^a
R ²	-	88	97	84	71	92	93	87	83	90	88	92
C.V.	-	7.31	12.98	12.42	24.16	13.75	10.18	17.42	18.02	14.13	14.08	11.41
ANVA	-	0.2530	0.0001 **	0.0059 **	0.452	0.0323 *	0.0001 **	0.0032 **	0.0022 **	0.0379 *	0.0002 **	0.0001 **

*Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$). * = significativo, ** = altamente significativo.*

4.5 Discusión de desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) para el establecimiento en condiciones *in vitro*

La desinfección de las semillas se logró empleando etanol 70% e hipoclorito de sodio en un rango de 0.6 a 2%, con tres enjuagues respectivos en agua destilada estéril. Estos reactivos forman parte de los compuestos para establecer un cultivo axénico, como por ejemplo también están presentes el cloruro de mercurio, nitrato de plata, nanopartículas de plata, hipoclorito de calcio, antibióticos, etc. Sin embargo, el hipoclorito de sodio representa la opción más considerada para la desinfección química con un amplio espectro antimicrobiano, acción bactericida rápida, solubilidad en agua y estabilidad relativa (Fukuzaki, 2006). Pero es necesario determinar cantidades máximas y mínimas de la aplicación de estos reactivos, porque los procesos fisiológicos pueden verse alterados en ciertas cantidades, como sucede en el proceso de germinación de las semillas, el crecimiento de las plántulas y la regeneración de los brotes son afectados negativamente por el aumento de la concentración de la solución desinfectante (Gammoudi et al., 2022)

Es importante resaltar que no existe un protocolo estándar de descontaminación en cultivo de tejidos, es necesario el establecimiento para cada genotipo y explante que se seleccione para la investigación. Es por ello que se reporta que la eficiencia de la desinfección depende del tipo de contaminación (epífita o endofítica y expresada o latente), el explante (tipo, edad, tamaño, elección del explante, tiempo de muestreo, estado fisiológico de la planta donante y condición de cultivo), así como del procedimiento de desinfección y la manipulación del investigador (Da Silva et al., 2015).

En los resultados de la desinfección de pitahaya naranja de Churuja empleando solamente la solución de hipoclorito de sodio al 0.6% durante 10 minutos se obtuvo 5.33% de contaminación (la contaminación más alta obtenida), aunque la contaminación no fue tan elevada la posible razón es por la falta de la solución de etanol como principal desinfectante bacteriano. Estos resultados son similares a los obtenidos por Montiel-Frausto et al. (2016), autores que emplearon la misma metodología descrita y obtuvieron hasta 6% de contaminación en su establecimiento *in vitro* de *Hylocereus monacanthus*. Mientras que mediante el uso una solución de etanol 70% durante 20 segundos y posteriormente una solución de hipoclorito de sodio al 1.5% durante 10 minutos se obtuvo 0% de contaminación. Estos resultados son similares a los obtenidos por Bozkurt et al. (2020), autores que emplean la misma metodología descrita y obtuvieron hasta 0% de contaminación en el establecimiento *in vitro* de pitahaya (*Hylocereus* spp.) variedades American Beauty, Bloody Mary, Halley's Comet y Vietnam White.

Los tratamientos propuestos en esta investigación fueron los tratamientos T3, T4 y T5, empleando etanol al 70% durante un periodo más extenso (1 min) que los tratamientos anteriores, y con una solución de hipoclorito de sodio en diferentes porcentajes 1% (T3), 1.5% (T4) y 2% (T5). Los resultados de contaminación obtenidos fueron de 3.3, 1.3 y 0% respectivamente. Estos resultados de contaminación son considerados bajos y por lo tanto efectivos para investigaciones de cultivo de tejidos vegetales. Empleando 2% de la solución de hipoclorito de sodio por 10 minutos permitió obtener resultados similares a los reportados por Bozkurt et al. (2020), quienes obtienen 0% de contaminación empleando 1.5% de hipoclorito de sodio durante 20 minutos. De esta manera se demuestra que el tratamiento T5 propuesto permite una óptima desinfección del material vegetal en menor tiempo de inmersión en la solución.

En la evaluación de la germinación de semillas de pitahaya naranja de Churuja en condiciones *in vitro* se logró obtener 100% de germinación con los tratamientos T2 y T5 a los 30 días de evaluación (posteriores a la introducción en condiciones *in vitro*), pero estadísticamente no se evidencia diferencia significativa entre todos los tratamientos. Estos resultados son similares a los obtenidos por Mállap-Detquizán et al. (2022), quienes realizaron la desinfección de sus semillas de pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*) con soluciones de etanol 70% durante 30 segundos, solución de hipoclorito de sodio 2% adicionado con Tween 20 0.1% durante 10 minutos, obteniendo un 100% de germinación en el medio de cultivo con media concentración de sales MS y sin la adición de reguladores de crecimiento. Así mismo, estos resultados son similares a los obtenidos por Montiel-Frausto et al. (2016) y Timoteo et al. (2018), quienes obtuvieron 70% y 48% de germinación en el establecimiento en condiciones *in vitro* de semillas de *Hylocereus monacanthus* e *Hylocereus undatus*, respectivamente.

4.6 Discusión de multiplicación *in vitro* de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de segmentos de cladodios

En la respuesta de formación de brotes en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación se logró obtener una respuesta de hasta el 88% con los tratamientos T0 (control) y T1 (0.5 mg/L BAP). Estos resultados son superiores a los obtenidos por Thinesh y Seran (2015), quienes obtuvieron hasta 62% de respuesta en formación de brotes en *Hylocereus undatus* empleando medio de cultivo MS suplementado con 3 mg/L de Thidiazuron (TDZ) y 0.5 mg/L de ácido 1-naftalenacético (ANA). Mientras que en la misma investigación obtuvieron 48% de respuesta empleando 3 mg/L de BAP y 0.5 mg/L de ANA.

En la respuesta de formación de brotes a los 60 días en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación se logró obtener una respuesta de hasta el 100% en los tratamientos T0 (control), T1, T2 y T8. Estos resultados son similares a los obtenidos por Qin et al. (2017), quienes indujeron la formación de brotes en *Hylocereus polyrhizu*, obteniendo un 100% de respuesta en sus tratamientos con diferentes concentraciones de BAP y ANA.

El uso de la citoquinina BAP representa un incremento en la formación de brotes pitahaya naranja de Churuja en comparación con el tratamiento control (medio sin adición de la citoquinina). Esto en relación con que la citoquinina BAP representa beneficios en la brotación y el desarrollo de brotes *in vitro* en diversos cultivos establecidos, los cuales también han sido reportados para ciertas especies de Cactaceae (Angulo-Bejarano y Paredes-Lopez, 2011; Ghaffari et al., 2013) e *Hylocereus* (Viñas et al., 2012; Montiel-Frausto et al., 2016; Mállap-Detquizán et al. 2022). Sin embargo, la suplementación con concentraciones elevadas de BAP podría causar un desequilibrio hormonal en las plantas reduciendo la formación de brotes o crecimiento de estas, produciendo brotes secos y compactos que terminan siendo considerados plantas inviables e incluso pueden ejercer el efecto inhibitor en el crecimiento de los brotes, por lo que se considera que la respuesta variará en cada especie y genotipo a la aplicación exógena de la citoquinina BAP (Lee y Chang, 2022).

La formación de los números de brotes presento una variación entre los tratamientos, en la presente investigación se logró obtener un promedio de 9.67 brotes por explante con el tratamiento T8, tratamiento que estuvo suplementado con 2 mg/L de BAP y 0.1 mg/L de AIB. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Mállap-Detquizán et al. (2022), quienes obtuvieron 0.78 brotes de promedio por explante en pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*), empleando medio de cultivo MS al 100% de su concentración adicionado con 0.1 mg/L de BAP y 3 mg/L de ANA. De igual manera los resultados fueron superiores a los obtenidos por Hua et al. (2014), quienes obtuvieron como máxima formación de número de brotes 7.1 en promedio en explantes de diferentes variedades de *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polyrhizus* e híbridos entre ambas especies, estos resultados fueron obtenidos empleando medio de cultivo con sales basales MS suplementado con 13.68 μM de Zeatina y 2.46 μM de AIB. Pero adicionalmente, los resultados obtenidos son inferiores a los presentados por Montiel-Frausto et al. (2016), quienes obtuvieron 20 y 16 brotes en promedio por explante adicionando 1 mg/L de BAP y 1 mg/L de BAP con 0.5 de ácido indol-3-acético (AIA), respectivamente a los medios de cultivo MS para la propagación *in vitro* de *Hylocereus monacanthus*, pero aunque el tratamiento suplementado con BAP y AIA

genero gran número de brotes, estos en su mayoría fueron brotes hiperhídricos (mayor al 40%), problema que no se evidencio en el desarrollo de la presente tesis.

La longitud de los brotes presento diferencias entre los tratamientos, obteniéndose los mejores resultados con el tratamiento T2 (1 mg/L de BAP) con 2.34 cm en promedio de longitud de brotes en los explante de pitahaya naranja de Churuja. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Montiel-Frausto et al. (2016), quienes obtuvieron brotes de 2.2 cm de longitud en explantes de *Hylocereus monacanthus*, empleando medios de cultivo MS con 1 mg/L de BAP. De igual manera, los resultados fueron superiores a los reportados por Mállap-Detquizán et al. (2022), quienes obtuvieron brotes de 1.66 cm en promedio de brote por explante en pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*), empleando medio de cultivo MS al 100% de su concentración adicionado con 20 ml/L de agua de coco. Así mismo, los resultados obtenidos en la presente tesis son similares a los reportados por Hua et al. (2014), quienes obtuvieron brotes con 2.3 cm de longitud en promedio en la multiplicación de diferentes variedades de *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polyrhizus* e híbridos entre ambas especies, estos resultados fueron obtenidos empleando medio de cultivo con sales basales MS suplementado con 13.68 μM de Zeatina y 1.33 μM de AIB. Pero a la vez, los resultados de la presente tesis son inferiores a los reportados Fan et al. (2013), quienes reportan la formación de brotes con 4.8 cm longitud con el uso del medio MS adicionado con 2 μM de BAP en la multiplicación *in vitro* de *Hylocereus undatus* variedad Zihonglong.

En la evaluación de formación de callos en los segmentos de cladodios de pitahaya naranja de Churuja en la fase de multiplicación, se obtuvieron porcentajes en un rango del 6-86%, siendo el tratamiento T5 el que presento el mayor porcentaje (86%), siendo uno de los tratamientos con menor número de formación de brotes (2.19). La formación de los callos se observó únicamente en las regiones de corte de los segmentos de cladodios, no generándose en otra estructura del explante. Esto podría deberse a que el tratamiento estaba compuesto por medio de cultivo MS adicionado con 0.5 mg/L de BAP y 0.1 mg/L de AIB, como se presenta las concentraciones empleadas son muy cercanas, es decir niveles prácticamente similares. Esto es validado según reportes que han determinado que un porcentaje intermedio de auxina y citoquinina aumenta la inducción de callos, mediante la influencia de las citoquininas y auxinas en la formación de callos al reducir la pared celular, generando lignificaciones e incrementando la respuesta en la iniciación y desarrollo de callos *in vitro* (Dar et al., 2021). Así mismo, se presentan investigaciones que establecen que niveles de auxina y citoquinina, tanto endógenos como exógenos, juegan un papel en la formación de callos en genotipos de especies de plantas, es decir cada especie y genotipo responderá de manera diferente a ciertas condiciones *in vitro* y a su vez, se

reporta que el crecimiento del callo generalmente comienza en la superficie de corte del explante y progresa hasta cubrir todo el explante (Hoque et al., 2006).

En la multiplicación de pitahaya naranja de Churuja en gran medida se buscó evitar la regeneración de brotes a partir de callos para minimizar la variación somaclonal. La variación somaclonal es la variación genética que ocurre en las plantas regeneradas a partir de cualquier tipo de cultivo celular, estas variaciones que ocurren en plantas propagadas clonalmente de un solo donante representan una combinación de cambios morfológicos, citológicos, bioquímicos y genéticos/epigenéticos (Haque et al., 2017). Cuando se habla del establecimiento de un procedimiento estandarizado de micropropagación y/o el establecimiento de plantaciones comerciales para especies de importancia económica, la variabilidad somaclonal representa un gran problema, ya que, en estos casos, es necesario mantener estrictamente las características de los individuos seleccionados para la iniciación de cultivos *in vitro* (Duta-Cornescu et al., 2023).

4.7 Discusión de enraizamiento *in vitro* de cladodios pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones *in vitro*

En la respuesta de formación de raíces en los cladodios (explantes) de pitahaya naranja de Churuja obtenidos de la fase de multiplicación, se obtuvieron tratamientos que alcanzaron el 100% de formación de raíces. Estos resultados son similares a los obtenidos por Fan et al. (2013), quienes obtuvieron hasta 100% de formación de raíces *Hylocereus undatus* variedad Zihonglong en condiciones *in vitro*, estos resultados fueron obtenidos en diferentes tratamientos con variaciones concentraciones de AIB (0.4 μM – 1.6 μM) y ANA (0.4 μM – 1.6 μM). Así mismo, se reportan resultados inferiores en la investigación realizada por Quin et al. (2017), quienes lograron obtener 92% de respuesta en la formación de raíces en los explantes de *Hylocereus polyrhizu*, con el uso de medio MS adicionado con 0.5 mg/L de ANA y 0.3 mg/L de AIB.

La formación de raíces también fue variante entre tratamientos en el número de raíces en promedio por explante de pitahaya naranja de Churuja en la fase de enraizamiento en condiciones *in vitro*, obteniendo los mayores valores con los T6 y T7 con 3.26 y 3.41 raíces respectivamente. Estos resultados son inferiores en comparación con los reportados por Fan et al. (2013), quienes reportan la formación de 8.6 raíces en promedio por explante de *Hylocereus undatus* variedad Zihonglong, resultados que fueron obtenidos suplementado el medio de cultivo MS con 0.8 μM de ANA. De igual manera los resultados por Quin et al. (2017) fueron superiores a los obtenidos en la presente tesis, con la formación de 7.2 raíces

en promedio por explante de *Hylocereus polyrhizu*, con el uso de medio MS adicionado con 0.5 mg/L de ANA y 0.3 mg/L de AIB.

La longitud de las raíces formadas en los explantes de pitahaya naranja de Churuja en la fase de enraizamiento en condiciones *in vitro* evidencio diferentes valores en todos los tratamientos en comparación con el tratamiento control, obteniéndose las mayores longitudes en el tratamiento T6 con 4.12 cm en promedio. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Quin et al. (2017), quienes lograron obtener medias de 2.73 cm de longitud en raíces en los explantes de *Hylocereus polyrhizu*, con el uso de medio MS adicionado con 0.4 mg/L de ANA y 0.3 mg/L de AIB. Pero los resultados obtenidos en la presente tesis son inferiores a los reportados por Fan et al. (2013), quienes obtuvieron 6.8 cm de longitud en raíces de *Hylocereus undatus* variedad Zihonglong en condiciones *in vitro*, estos resultados fueron obtenidos 0.8 μ M de ANA en el medio basal MS.

En la fase de enraizamiento también se evaluó la longitud de los explantes de pitahaya naranja de Churuja, y se evidencio que la presencia de la auxina AIB en el medio de cultivo estimula la formación y desarrollo de las raíces, pero reduce significativamente la longitud del explante en comparación con el tratamiento control, de esta manera el mejor resultado de longitud de brote se obtuvo con el tratamiento T0 con 4.71 cm de longitud. En consideración general los explantes en los tratamientos con la auxina AIB en el medio de cultivo no afectaron la vigorosidad ni forma de la planta, es decir no origino malformaciones. Esto es validado por los autores Fan et al. (2013) y Quin et al. (2017), quienes en su fase de enraizamiento *in vitro* de *Hylocereus polyrhizu* e *Hylocereus undatus* variedad Zihonglong, respectivamente, obtuvieron explantes vigorosos en comparación con otras auxinas como ANA y AIA, los cuales afectan el desarrollo del explante en algunos genotipos, reduciendo la vigorosidad y también el desarrollo de las plantas (longitud).

4.8 Discusión de aclimatación de plántulas de pitahaya naranja de churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones vivero

La evaluación de la sobrevivencia de las plántulas de pitahaya naranja de Churuja obtenidas de la etapa multiplicación y enraizamiento en condiciones *in vitro*, permitió obtener de resultados la sobrevivencia de todas las plántulas en todos los tratamientos evaluados, está evaluación se realizó cada 12 días hasta un total de 60 días y hasta la última evaluación la sobrevivencia se mantuvo en 100%. Estos resultados son similares a los obtenidos por Hua et al. (2014), Quin et al. (2017), Timoteo et al. (2018), Lee y Chang (2022) y Mállap-Detquizán et al. (2022), quienes obtuvieron 100% de sobrevivencia en la

fase de aclimatación de plántulas de *Hylocereus polyrhizus* x *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polyrhizus*, *Hylocereus undatus*, *Hylocereus polyrhizus* variedad Da Hong e *Hylocereus megalanthus*, respectivamente. Pero así mismo, los resultados fueron superiores a los reportados por Viñas et al. (2012), Fan et al. (2013) y Montiel–Frausto et al. (2016), quienes reportaron en sus investigaciones 96.4%, 93% y 97.2% de sobrevivencia en la aclimatación de las plántulas propagadas en condiciones *in vitro* de las especies *Hylocereus costaricensis*, *Hylocereus undatus* e *Hylocereus monacanthus*, respectivamente.

La altura de las plántulas aclimatadas en condiciones de vivero mostró diferencias significativas entre los sustratos empleados, obteniéndose la mayor longitud con el tratamiento T4(musgo 2:1 arena) con 16.18 cm. Estos resultados son superiores a los obtenidos por Viñas et al. (2012), quienes obtuvieron plántulas con 1.9 cm de longitud en la aclimatación de *Hylocereus costaricensis* posterior a los 60 días a ser retirados de sus condiciones *in vitro*, empleando como sustrato vermiculita y musgo en una relación 1:1. De igual manera, resultados inferiores son reportados por Montiel–Frausto et al. (2016), quienes obtuvieron 8.51 cm de longitud promedio en plántulas de *Hylocereus monacanthus* en la fase de aclimatación en perlita y musgo en una relación 1:1 como sustrato. También Mállap-Detquizán et al. (2022) obtuvo resultados inferiores en longitud de sus plántulas de *Hylocereus megalanthus* en la fase de aclimatación, obteniendo plántulas de 9.90 cm de longitud promedio a los 60 días empleando como sustrato compost y tierra de bosque en una relación 1:1. Por último, Timoteo et al. (2018) también reporto resultados inferiores con 8.01 cm de longitud en las plántulas *Hylocereus polyrhizus*, estos resultados fueron obtenidos en la fase de aclimatación empleando como sustrato Topstrato.

En los resultados obtenidos en el número de raíces y longitud de raíces el mejor tratamiento fue el tratamiento T4, este tratamiento estuvo compuesto por el sustrato musgo y arena en una relación 2:1. Las plántulas con el tratamiento T4 permitió obtener 5.2 raíces en promedio por plántula con 7.91 cm de longitud en promedio en las raíces por plántula de pitahaya naranja de churuja. Estos resultados son superiores a los obtenidos Timoteo et al. (2018), quienes obtuvieron promedios de 4.08 cm de longitud de raíces en las plántulas aclimatadas de *Hylocereus polyrhizus* empleando como sustrato Topstrato. De igual manera, se reportaron resultados inferiores por Mállap-Detquizán et al. (2022), quienes obtuvieron raíces con 2.50 cm de longitud de promedio en plántulas de *Hylocereus megalanthus* en la fase de aclimatación, empleando como sustrato compost y tierra de bosque en una relación 1:1.

Los resultados obtenidos en cada variable de estudio realizada en la fase de aclimatación plántulas de pitahaya naranja de Churuja demostraron que el mejor tratamiento fue el T4, tratamiento que estuvo compuesto por el sustrato musgo y arena en una relación 2:1. Mientras que el tratamiento T5 fue el que presentó el resultado más bajo en todas las variables evaluadas, este tratamiento estuvo compuesto por compost y arena en una relación 2:1. Para poder determinar específicamente que componente en cada sustrato ha permitido los mejores y peores valores se realizó el análisis físicoquímicos de los sustratos empleados en la fase de aclimatación. Dentro de estos análisis se evidencia una diferencia marcada en los iones de sodio, presentando los valores más altos T5 con 2.33 meq/100g y los valores más bajos se obtuvieron con el T4 con 0.87 meq/100g. Estos resultados pueden deberse a que efectivamente el nivel alto de iones de sodio afectó negativamente a las plántulas de pitahaya naranja de Churuja en su fase de aclimatación. Existen investigaciones que establecen que los iones de sodio en concentraciones altas pueden tener un efecto perjudicial en relación con ocasionar estrés por salinidad, afectando a los tejidos de las plantas tanto en su nutrición mineral, la morfogénesis y la diferenciación (Ketehouli et al., 2019). Así mismo, los resultados obtenidos en la presente tesis son validados por Maathuis (2014), Ferreira et al. (2020) y Doungou et al. (2022), quienes establecen que bajo condiciones de suelo bajos niveles de iones de sodio pueden estimular el crecimiento de las plantas u otras funciones especialmente bajo deficiencia de iones de potasio. Específicamente como sucede en los resultados obtenidos el T4 y T5 presentan déficit de iones de potasio, pero el tratamiento T4 presenta también déficit de iones de sodio, mientras que el T5 presenta una elevada concentración de iones de sodio.

CONCLUSIONES

Se estableció un protocolo de micropropagación en condiciones *in vitro* de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de segmentos de cladodios, mediante la realización del establecimiento de semillas pitahaya naranja de Churuja, multiplicación a partir de segmentos de cladodios, enraizamiento de los cladodios y la aclimatación condiciones de vivero de las plántulas regeneradas *in vitro*.

Se estableció un protocolo de desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) para el establecimiento en condiciones *in vitro*. Mediante el uso de una solución de etanol 70% durante 1 minuto, solución de hipoclorito de sodio 2% durante 10 minutos y tres lavados en agua destilada estéril (T5), logrando 0% de contaminación y 100% de germinación.

Se determinó que tratamiento T8 fue el medio de cultivo más eficiente en la multiplicación de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de segmentos de cladodios. El tratamiento estuvo constituido por sales basales MS adicionado con 2 mg/L de BAP y 0.1 mg/L de AIB, permitiendo la respuesta del 100% de los explantes en la formación de brotes y la formación de 9.67 brotes en promedio por explante.

Se determinó que el tratamiento T6 fue el medio de cultivo más eficiente en el enraizamiento de cladodios de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones *in vitro*. El tratamiento estuvo constituido por sales basales MS adicionado con 1 mg/L de AIB, permitiendo la respuesta del 100% de los explantes en la formación de raíces, la formación de 3.26 raíces en promedio por explante y 4.12 cm de longitud de raíces en promedio por explante.

Se estableció que el tratamiento T4 fue el sustrato más adecuado en la aclimatación de plántulas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) en condiciones de vivero. El tratamiento estuvo constituido por musgo y arena en una relación 2:1, permitiendo el 100% de sobrevivencia de las plántulas, plántulas con 16.18 cm de longitud, 9.06 cm de diámetro, 4.37 cm³ de volumen, 13.85 cm² de área, 5.2 raíces y 7.91 cm de longitud de raíces.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar la optimización de un protocolo de desinfección de cladodios para la introducción *in vitro* a partir de genotipos élites, permitiendo tener plantas clonadas con las mismas características.

Investigar el efecto de otras citoquininas solas o en combinación de otras auxinas en la respuesta de formación de brotes por explante de pitahaya, así como determinar la orientación del explante en el medio de cultivo que permita la máxima inducción de formación de los brotes.

En la fase de enraizamiento realizar más estudios del efecto de otras auxinas en la formación de raíces y así como también en el desarrollo del cladodio.

Realizar la estandarizar un protocolo de micropropagación en condiciones *in vitro* de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) mediante organogénesis indirecta con potencial para procesos de transformación genética.

Continuar con investigaciones del comportamiento vegetativo y productivo de las plantas propagadas *in vitro* en condiciones de campo, así como estudios de su respuesta a los diferentes estreses presentes en condiciones naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcantara, J.S., Acero, G., Alcántara, C., Sánchez, M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA*, 17 (32), 109-129. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
- Andrade, A.R., Geraldo, M., Habib, S. (2007). Influência da fonte material e do tempo de cura na propagação vegetativa da pitaya vermelha (*Hylocereus undatus* Haw). *Bras. Frutic*, 29 (1). <https://doi.org/10.1590/S0100-29452007000100039>
- Angulo-Bejarano, P.I., Paredes-Lopez, O. (2011). Development of a regeneration protocol through indirect organogenesis in prickly pear cactus (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill). *Scientia Horticulturae*, 128(3), 283-288. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.01.030>
- Arevalo, M. (2013). *Betalainas y su aplicación en la industria alimentaria*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agroindustrial). Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ingeniería Agroindustrial; Tarapoto, Perú. <https://es.scribd.com/doc/171969509/BETALAINAS>
- Ariffin, A., Bakar, J., Ping, T., Abdul, R.R. (2009). Essential fatty acids of pitaya (dragon fruit) seed oil. *Food chemistry*, 114 (2), 561-564. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.108>
- Azcón-Bieto, J., Talón, M. (2008). Fundamentos de fisiología vegetal. *McGraw-Hill*, 2.
- Bozkurt, T., İnan, S., Dündar, İ. (2020). Micropropagation of different pitaya varieties. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 13(1): 39-46.
- Caetano, N., Escobar, R., Caetano C., Vaca, V. (2014). Estandarización de un protocolo de regeneración en pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran). *Acta Agronómica*, 63 (1), 1-15. <https://www.redalyc.org/pdf/1699/169930903005.pdf>
- Castillo, A. (2000). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *Biotecnología*, INIA.
- Da Silva, T.J., Winarto, B., Dobranszki, J., Zeng, S. (2015). Disinfection procedures for in vitro propagation of Anthurium. *Folia Hort.*, 27, 3-14.
- Dar, S.A., Nawchoo, I.A., Tyub, S., Kamili, A.N. (2021). Effect of plant growth regulators on in vitro induction and maintenance of callus from leaf and root explants of *Atropa acuminata* Royle ex Lindl. *Biotechnology Reports*, 32, e00688. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00688>.

- Doungous, O., Al-Khayri, J.M., Kouassi, M.K. (2022). Sodium Toxicity: Should NaOH Be Substituted by KOH in Plant Tissue Culture? *Front. Plant Sci.*, 13, 829768. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.829768>
- Duta-Cornescu, G., Constantin, N., Pojoga, D.M., Nicuta, D., Simon-Gruita, A. (2023). Somaclonal Variation—Advantage or Disadvantage in Micropropagation of the Medicinal Plants. *Int. J. Mol. Sci.*, 24, 838. <https://doi.org/10.3390/ijms24010838>
- Esquivel, P., Araya, Q.Y. (2012). Características del fruto de la pitahaya (*Hylocereus* sp.) y su potencial de uso en la industria alimentaria. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3 (1), 113-129.
- Estrada-Luna, A., Martínez-Hernández, J., Torres-Torres, M., Chablé-Moreno, F. (2008). In vitro micropropagation of the ornamental prickly pear 174 cactus *Opuntia lanigera* Salm-Dyck and effects of sprayed GA3 after transplantation to ex vitro conditions. En: *Scientia Horticulturae*, 117(4), 378-385. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.05.042>
- Fan, Q.J., Zheng, S.C., Yan, F.X., Zhang, B.X., Qiao, G., Wen, X.P. (2013). Efficient regeneration of dragon fruit (*Hylocereus undatus*) and an assessment of the genetic fidelity of in vitro-derived plants using ISSR markers. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88(5), 631–637. <https://doi.org/10.1080/14620316.2013.11513017>
- Ferreira, J.F., da Silva, J.B., Liu, X., Sandhu, D. (2020). Spinach plants favor the absorption of K⁺ over Na⁺ regardless of salinity, and may benefit from Na⁺ when K⁺ is deficient in the soil. *Plants*, 9, 507. <https://doi.org/10.3390/plants9040507>
- Fukuzaki, S. (2006). Mechanisms of actions of sodium hypochlorite in cleaning and disinfection processes. *Biocontrol Sci.*, 11, 147–57.
- Gammoudi, N., Nagaz, K., Ferchichi, A. (2022). Establishment of optimized in vitro disinfection protocol of *Pistacia vera* L. explants mediated a computational approach: multilayer perceptron–multi-objective genetic algorithm. *BMC Plant Biol*, 22, 324. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03674-x>
- García-Rubio, L.A., Vargas-Ponce, O., Ramírez-Mireles, F.J., Munguía-Lino, G., Corona-Oceguera, C.A., Cruz-Hernández, T. (2015). Distribución geográfica de *Hylocereus* (cactaceae) en México. *Botanical Sciences*, 93(4), 921-939.
- Ghaffari, A., Hasanloo, T., Nekouei, M. (2013). Micropropagation of tuna (*Opuntia ficus – indica*) and effect of medium composition on proliferation and rooting. *International Journal of Biosciences*, 3, 129-139. <https://doi.org/10.12692/ijb/3.11.129-139>

- Gil, R., López, M., López, Z. (2017). Acimatación de plántulas in vitro de *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. (Gesneriaceae) violeta africana a condiciones de invernadero. *Arnaldoa*, 24 (1), 343-350. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.241.24116>
- González, B., González, A. (2014). *Comparar los Métodos Químicos de Cloro y Salmuera para la Conservación de la Pitahaya Roja, cultivada en el Municipio de la Concepción Departamento de Masaya en el Segundo Semestre del año 2013.* (Tesis para optar al título de Licenciatura en Química Pura). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua, Facultad de Ciencias e Ingenierías; Managua, Nicaragua. <https://repositorio.unan.edu.ni/7059/1/70236.pdf>
- Gunasena, M., Pushpakumara, G., Kariyawasam, M. (2007). Dragon fruit (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton and Rose. *Science, Faculty of Agriculture*, 4 (1).
- Haque, M.S., Biswas, T., Islam, M.S., Hossain, M.S. (2017). In vitro regeneration and PCR-RAPD based detection of somaclonal variation in kenaf (*Hibiscus cannabinus*). *Progress Agric.*, 28, 100-108.
- Hoque, A., Nahar, A., Razvy, M.A., Biswas, M.K., Kabir, A.H. (2006). Micropropagation of water chestnut (*Trapa* sp.) through local varieties of Rajshahi division. *Asian J. Plant Sci*, 5 (3), 409-413.
- Hua, Q., Chen, P., Liu, W., Ma, Y., Liang, R., Wang, L; ... Qin, Y. (2014). A protocol for rapid in vitro propagation of genetically diverse pitaya. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120(2), 741–745. <http://doi.org/10.1007/s11240-014-0643-9>
- Hubstenberger, F.J. (1992). Micropropagation of cacti (Cactaceae). En Bajaj YPS. *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, 4 (20), 49–68.
- Juárez-Cruz, A., Livera-Muñoz, M., Sosa-Montes, E., Goytia-Jiménez, M.A., González-Hernández, V.A., Bárcena-Gama, R. (2012). Composición química de tallos inmaduros de (*Acanthocereus* spp.) e *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose. *Fitotecnía mexicana*, 35(2).
- Ketehouli, T., Idrice, K.F., Noman, M., Wang, F.W., Li, X.W., Li, H.Y. (2019). Adaptation of Plants to Salt Stress: Characterization of Na⁺ and K⁺ Transporters and Role of CBL Gene Family in Regulating Salt Stress Response. *Agronomy*, 9(11), 687. <https://doi.org/10.3390/agronomy9110687>
- Lee, Y.C., Chang, J.C. (2022). Development of an Improved Micropropagation Protocol for Red-Fleshed Pitaya 'Da Hong' with and without Activated Charcoal and Plant Growth Regulator Combinations. *Horticulturae*, 8(2), 104.
- Maathuis, F.J. (2014). Sodium in plants: perception, signalling, and regulation of sodium fluxes. *J. Exp. Bot.*, 65, 849-858. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert326>

- Malqui, R. (2021). *Efecto de diferentes sustratos orgánicos en la aclimatación de plantas obtenidas in vitro de pitahaya amarilla Selenicereus megalanthus (k. schum. ex vaupel) moran*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias; Chachapoyas, Perú.
<http://repositorio.unrtm.edu.pe/handle/UNTRM/2306>
- Mállap, D.G. (2020). *Evaluación de cuatro medios de cultivo con potencial para la multiplicación in vitro de la pitahaya amarilla (Selenicereus megalanthus), en la provincia de Chachapoyas, Amazonas*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias; Chachapoyas, Perú.
<http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/2113>
- Mállap-Detquizán, G., Vilca-Valqui, N.C., Meléndez-Mori, J.B., Huaman-Huaman, E., Oliva, M. (2022). Multiplicación in vitro de pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*) a partir de plántulas obtenidas in vitro. *Agronomía Mesoamericana*, 33(1), 45472.
- Martínez, V., Martínez, F. (2019). *Fortalecimiento del cultivo de pitahaya (Hylocereus undatus Britton et Rose) mediante la aplicación de Técnica Biotecnológica para la propagación in vitro de la variedad Roja*. (Tesis para optar al título de Licenciadas en Biología). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias e Ingeniería; Managua, Nicaragua.
<http://repositorio.unan.edu.ni/id/eprint/13813>
- Mercado-Silva, E.M. (2018). Pitaya-*Hylocereus undatus* (Haw). *Exotic Fruits*, 339-349.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00045-9>
- Mohammed, M., Munir, M., Ghazzawy, H.S. (2023). Design and Evaluation of a Smart Ex Vitro Acclimatization System for Tissue Culture Plantlets. *Agronomy*, 13(1), 78.
<https://doi.org/10.3390/agronomy13010078>
- Montadher, A.M., Mustafa, T.M., Abdulkadir, M., Awatif, I.M. (2018). Phytochemical content and anti-oxidant activity of *Hylocereus undatus* and study of toxicity and the ability of wound treatment. *Plant Archives*, 18 (2), 2672-2680.
- Montesinos-Cruz, J.A., Rodríguez-Larramendi, L., Ortiz-Pérez, R., Fonseca-Flores, M.A., Ruíz-Herrera, G., Guevara-Hernández, F. (2015). Pitahaya (*Hylocereus* spp.) un recurso fitogenético con historia y futuro para el trópico seco mexicano. *Cultivos Tropicales*, 36.

- Montiel, F. (2017). *Conservación in vitro de pitahaya (Hylocereus spp.) mediante el cultivo de mínimo crecimiento*. (Tesis para optar al Grado Académico de Maestro en Ciencias). Instituto Politécnico Nacional.
- Montiel-Frausto, L.B., Enríquez, J.R., Cisneros, A. (2016). In vitro propagation of *Hylocereus monacanthus* (Lem.) Britton and Rose. *Biotechnología Vegetal*, 16(2), 113-123.
- Morales, A.Y. (2017). *Desarrollo vegetativo de pitahaya (Hylocereus spp.) en respuesta a la aplicación de vermicompost y fertirriego*. (Tesis para optar el Grado de Maestro en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable). Instituto Politécnico Nacional; Michoacán, México.
- Morales, R. (2000). *Inducción de germinación, crecimiento de plántula y cultivo in vitro de pitahaya Hylocerem undatus (Haworth) Britton and Rose*. (Tesis para optar al grado de Maestría en Ciencias con Especialidad en Botánica). Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias biológicas; México.
<http://eprints.uanl.mx/782/1/1080124407.PDF>
- Moreira, B., Murrillo, M. (2022). *Análisis del sistema de producción de pitahaya roja (Hylocereus undatus) en la provincia de Manabí*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agrícola). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López; Ecuador.
- Ochoa-Velasco, C.E., García-Vidal, V., Luna-Guevara, J.J., Luna-Guevara, M.L., Hernández-Carranza, P., Guerrero-Beltrán, J.A. (2012). Características antioxidantes, fisicoquímicas y microbiológicas de jugo fermentado y sin fermentar de tres variedades de pitahaya (*Hylocereus* spp). *Scientia Agropecuaria*, 3, 279-289. <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/89/23>
- Ojeda-Zacarías, M.C., Vázquez-Alvarado, R.E., Santos-Haliscak, J.A., Moreno-Degollado, G., Aguirre-Arsola, V., Iracheta-Donjuan, L., López-Gómez, P., Castellanos-Juárez, M. (2012). Micropropagación de pitahaya, *Hylocereus undatus* (Haworth). *Salud pública y nutrición*, 4, 119-128.
<https://www.researchgate.net/publication/263126207>
- Olivera-Ortega, V.Z., Gutiérrez-Espinosa, M.A., Gutiérrez-Espinosa, J.A., Andrade-Rodríguez, M. (2000). Cultivo in vitro de gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) y su aclimatación en invernadero. *Bioagro*, 12 (3), 75-80.
- Ortiz-Hernández, Y.D., Carrillo-Salazar, J.A. (2012). Pitahaya (*Hylocereus* spp.). *Comunicata Scientiae*, 3(4), 220-237.

- Pérez, P.J. (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*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo Fitotecnista). Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Agronomía; México. <https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/3473>
- Perez, P. (1998). Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología. Basic sciences. *Biotechnology*, 83–295. <https://lib.ugent.be/catalog/rug01:001638941>
- Qin, J., Wang, Y., He, G., Chen, L., He, H., Cheng, X., Xu, K., Zhang, D. (2017). High-efficiency Micropropagation of Dormant Buds in Spine Base of Red Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) for Industrial Breeding. *International journal of agriculture & biology*, 19, 193–198.
- Qingzhu, H.P., Chen, W.L., Yüewen, M.R., Liang, L.W., Zehuai, W.G., Hu, Q. (2014). A protocol for rapid in vitro propagation of genetically diverse pitaya. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 120, 741-745. <http://dx.doi.org/10.1007/s11240-014-0643-9>
- Reina-Pinto, J.J., Yephremov, A. (2009). Surface lipids and plant defenses. *Plant Physiol Biochem*, 47 (6), 540-549. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2009.01.004>
- Ruíz, O. (2009). *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*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo Generalista). Universidad Nacional Agraria, facultad de agronomía; Managua, Nicaragua. <https://repositorio.una.edu.ni/2155/1/tnf01r934e.pdf>
- Sánchez, J.H. (2017). *Efecto de la fertilización y aplicación de fitohormonas de inducción floral en el rendimiento del cultivo de pitahaya (selenicereus megalanthus), en el distrito Churuja, Amazonas*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias; Chachapoyas, Perú. <http://repositorio.unrtm.edu.pe/handle/UNTRM/1377>
- Santarrosa, V.P. (2013). *Evaluación nutricional comparativa de pitahaya (Hylocereus triangularis) deshidratada en deshidratador de bandejas con la liofilizada*. (Tesis para optar al título de Bioquímico Farmacéutico). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias; Riobamba, Ecuador.
- Sharry, S., Cedres, G.M., Adema, M., Abedini, W. (2015). *Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro*. Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de la Plata.

- Suárez, R.S. (2011). *Evaluación de métodos de propagación en pitahaya amarilla Selenicereus megalanthus (Haw.) Britt & Rose y pitahaya roja Hylocereus polyrhizus (Haw.) Britt & Rose*. (Tesis para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias). Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias; Palmira, Colombia.
- Tapia, A., Rodríguez, J., Theoduloz, C., López, S., Feresin, E.G., Schmeda-Hirschmann, G. (2004). Free radical scavengers and antioxidants from *Baccharis grisebachii*. *Journal of Ethno-pharmacology*, 95 (2), 155-161. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.06.035>
- Thinesh, A., Seran, T.H. (2015). In vitro callogenesis from bud and stem explants of dragon fruit (*Hylocereus undatus*). *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, 5(4), 253-256.
- Timoteo, C., Paiva, R., dos Reis, M., da Silva, D., da Silva, B., de Oliveira, J. (2018). Silver nanoparticles on dragon fruit in vitro germination and growth. *Plant Cell Culture & Micropropagation*, 14(1), 18-25.
- Vargas, I.K. (2020). *Comparación de diferentes concentraciones de bencilaminopurina (bap) en la fase de multiplicación de pitahaya roja (Hylocereus undatus), en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos In vitro, FCA- UNASAM, distrito de Independencia, provincia de Huaraz, Ancash*. (Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo). Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Facultad de Ciencias Agrarias; Huaraz, Perú.
- Vargas-Gutiérrez, K.A., López-Montañez, R.N. (2020). Cultivo de pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) en la región Amazonas. INIA.
- Velázquez, A.A. (2020). *Establecimiento y propagación in vitro de variedades comerciales de pitahaya (Hylocereus spp.)*. (Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias en Biotecnología Vegetal). Universidad Autónoma de Aguascalientes; México. <http://hdl.handle.net/11317/2046>
- Verona-Ruiz, A., Urcia-Cerna, J., Paucar-Menacho, L.M. (2020). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos. *Scientia Agropecuaria*, 11 (3). <http://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.16>
- Villa-Uvidia, D.N., Osorio-Rivera, M.A., Villacis-Venegas, N.Y. (2020). Extracción, propiedades y beneficios de los mucílagos. *Dominio de las ciencias*, 6 (2), 503-524. DOI: <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v6i2.1181>

- Villavicencio, E.E., González, A., Carranza, M.A. (2012). Micropropagación de *Epithelantha micromeris* (Engelm.) F.A.C. Weber ex Britt. & Rose cactácea ornamental y recurso fitogenético del desierto chihuahuense. *Ciencias forestales*, 3 (14), 52-55.
- Viñas, M., Fernández-Brenes, M., Azofeifa, A., Jiménez, V.M. (2012). In vitro propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis* [F.A.C. Weber] Britton & Rose) cv. Cebra. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 48(5), 469–477. <http://dx.doi.org/10.1007/s11627-012-9439-y>
- Yu-Chi, L., Jer-Chia, C. (2022). Development of an Improved Micropropagation Protocol for Red-Fleshed Pitaya 'Da Hong' with and without Activated Charcoal and Plant Growth Regulator Combinations. *Horticulturae*, 8-104. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8020104>
- Zambrano-Forero, C.J., Ríos, J.A., Beltrán, D.M., Mesa, N. (2015). Evaluación de reguladores de crecimiento en la propagación in vitro de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya amarilla). *Revista Tumbaga*, 1 (10), 76-87.
- Zee, F., Chung-Ruey, Y., Nishina, M. (2004). Pitaya fruta del dragón, pera fresa. *Cooperative extensión service*, 9(1).

ANEXOS

Tabla 27.

Composición del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS).

Componentes	Concentración (mg/L)
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
CaCl ₂	332.2
MgSO ₄	180.7
KH ₂ P O ₄	170
C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ . 2H ₂ O	37.26
FeSO ₄ .7H ₂ O	27.8
MnSO ₄ . H ₂ O	16.9
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8.6
H ₃ BO ₃	6.2
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.25
CoCl ₂ . 6H ₂ O	0.025
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.025
Glicina	2
Mioinositol	100
Ácido nicotínico	0.5
Piridoxina HCL	0.5
Tiamina HCL	0.1



Figura 21.

Fruto, pulpa y semillas de pitahaya naranja de Churuja.



Figura 22.

Desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja en cabina de flujo laminar.

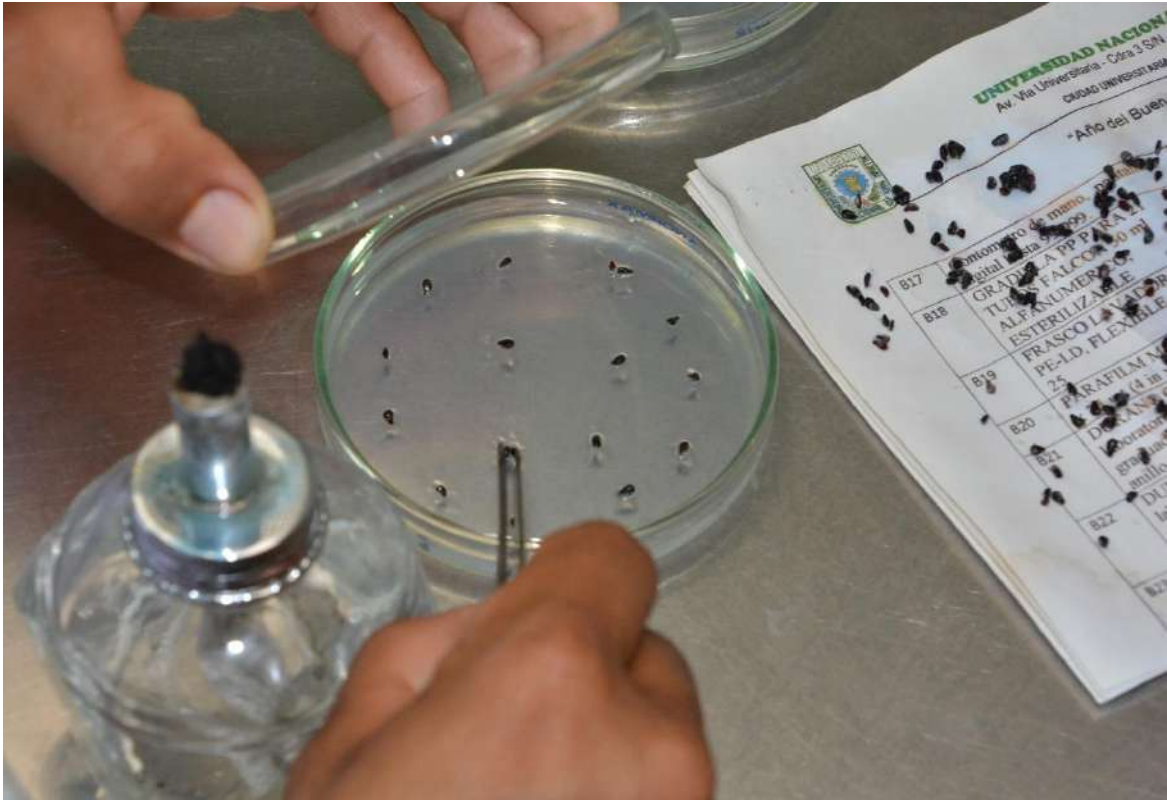


Figura 23.

Introducción de semillas de pitahaya naranja de Churuja en medios de cultivo para su germinación en condiciones *in vitro*.



Figura 24.

Pitahaya naranja de Churuja germinada en condiciones *in vitro*.



Figura 25.

Transferencia de pitahayas naranja de Churuja germinadas en condiciones *in vitro* a frascos para continuar con su desarrollo.



Figura 26.

Segmentaciones de cladodios de pitahayas naranja de Churuja previa a la introducción a los medios de cultivo para la fase de multiplicación.



Figura 27. Cladodio de pitahaya naranja de Churuja segmentado (izquierda) y plántula sin segmentación (derecha).



Figura 28. Formación de brotes en segmentos de cladodios de pitahaya naranjas de Churuja en fase de multiplicación en condiciones *in vitro*.



Figura 29.

Explantes de pitahayas naranjas de Churuja en fase de multiplicación en condiciones *in vitro*.



Figura 30.

Formación de brotes de pitahaya naranjas de Churuja en el tratamiento T8 en fase de multiplicación en condiciones *in vitro*.



Figura 31.

Evaluación de la longitud y número brotes de pitahaya naranjas de Churuja en el tratamiento control en fase de multiplicación en condiciones *in vitro*.



Figura 32.

Evaluación del número brotes de pitahaya naranjas de Churuja en el tratamiento T2 en fase de multiplicación en condiciones *in vitro*.



Figura 33.

Evaluación del número brotes de pitahaya naranjas de Churuja en el tratamiento T8 en fase de multiplicación en condiciones *in vitro*.



Figura 34.

Explantos de pitahaya naranja de Churuja en medios de cultivo de diferentes tratamientos en la fase de enraizamiento en condiciones *in vitro*.



Figura 35.

Explante de pitahaya naranja de Churuja enraizada en condiciones *in vitro*.



Figura 36.

Explantes de pitahaya naranja de Churuja condiciones *ex vitro* en estado de pre-aclimatación.



Figura 37.

Preparación de sustratos para los diferentes tratamientos en la fase de aclimatación.



Figura 38.

Cultivo de plántulas de pitahaya naranja de Churuja en sustratos.



Figura 39.

Establecimiento de todos los tratamientos para la aclimatación de plántulas de pitahaya naranja de Churuja multiplicadas y enraizadas *in vitro*.



Figura 40.

Plántula de pitahaya naranja de Churuja en sustrato en condiciones controladas previa a ser transferidas a condiciones de vivero.



Figura 41.
Plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en condiciones de vivero.



Figura 42.
Evaluación de sobrevivencia y longitud de plántulas de pitahaya naranja de Churuja en fase de aclimatación en condiciones de vivero.



Figura 43.

Plántulas de pitahaya naranja de Churuja en aclimatadas en condiciones de vivero, tratamientos T1 a T5 desde la izquierda a derecha.



Figura 44.

Comparación de longitud entre plántulas de pitahaya naranja de Churuja de los tratamientos T4 (izquierda) y T5 (derecha) aclimatadas en condiciones de vivero.



Figura 45. Comparación morfológica entre plántulas de pitahaya naranja de Churuja aclimatadas en condiciones de vivero, tratamientos T1 a T5 de izquierda a derecha.

Micropropagación de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.) a partir de fragmentos de cladodios en condiciones in vitro

por Jose Maximino Saavedra Garcia

Fecha de entrega: 15-feb-2024 09:25a.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2295478910

Nombre del archivo: Tesis_Jose_Maximino_Saavedra_Garc_a_FINAL_15-02.docx (12.35M)

Total de palabras: 19828

Total de caracteres: 109375

Micropropagación de pitahaya naranja de Churuja (Hylocereus sp.) a partir de fragmentos de cladodios en condiciones in vitro

INFORME DE ORIGINALIDAD

25%	25%	8%	5%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	4%
2	prgaprogram.org Fuente de Internet	1%
3	repositorio.untrm.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	untrm.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.unasam.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	www.bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet	1%
7	revistas.ucr.ac.cr Fuente de Internet	1%
8	revistas.unasam.edu.pe Fuente de Internet	1%