UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MANABÍ

FACULTAD DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO

Tema:

“Combinación de auxinas y citocininas en la propagación *in vitro* de *Hylocereus megalanthus*. (K.Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer), *H. purpusii* (Weing.) Britton & Rose *e H. undatus* (Haw.) Britton & Rose a partir de segmentos de cladodios”.

Autor:

Buste Muñoz Nixon Agustín

Tutora:

Ing. Liliana Corozo Quiñonez. Ph.D

Revisora:

Ing. Adriana Celi Soto. Ph.D

SANTA ANA – MANABÍ – ECUADOR

2021

DEDICATORIA

Dedico este trabajo con humildad, sencillez y bondad a Dios por las bendiciones que ha derramado sobre mí para hacer cumplir cada uno de mis objetivos, a mis padres Manuel y Dilia quienes han puesto la confianza en mí para salir adelante, a mis hermanas Lisseth y Lisbeth para que acojan este gran ejemplo de superación multiplicándose sobre sus hijos, a mi hermano Leiton Gariel, para que observe este pasaje de mi vida, para conozca que con dedicación y perseverancia se pueden alcanzar grandes hazañas y tenga la actitud de seguir por el buen camino de la vida, a mis amigos allegados que siempre han estado muy de cerca brindándome su apoyo y palabras de aliento en los momentos buenos y malos que la vida me ha brindado, a que sigan adelante preparándose con tenacidad, empoderamiento y visión.

Buste Muñoz Nixon Agustín

AGRADECIMIENTO

Agradezco infinitamente a Dios, a quien he amado por sobre todas las cosas del mundo de quien confió plenamente y me siento protegido, a mis padres que he visto el sudor en sus rostros para sacarme adelante y apoyarme en todo su esplendor con el fin de lograr mi sueños, metas y objetivos, a mis hermanos a que no renuncien a las oportunidades académicas que el destino les presentes, a que se preparen para que puedan defenderse en el mañana, a mi tutora y gran amiga Ing. Liliana Corozo Quiñonez, por las oportunidades que me ha obsequiado y entre tantas la de aprender y enriquecerme íntegramente, a la Ing. Fátima Macías Ponce, mi mentora, por la guía y orientación en el campo Biotecnológico, durante todas las fases del cultivo, con quien quedare eternamente agradecido, aplicando en la vida práctica sus enseñanzas, a la Ing., Adriana Celi Soto, por sus observaciones y recomendaciones valiosas que son bases para buscar nuevos límites, límites que forman parte de mi perfil personal y profesional, para seguir avanzando hacia la excelencia, a la Ing. Susana García Álava, por sus consejos, por el apoyo, mujer llena de muchas virtudes, que no alcanzaran en palabras para describirlas como la gran persona extraordinaria que es, a el inmortal Ramón Almeida (Gareca) padre de la FIAG, amigo eterno, solidario, humilde y sencillo, mil gracias, a mis amigos de secundaria Jandry Ariel y Jenny Marisol, amistad inmortal por más de una década, a mis colegas de Agronomía Paola Katherine, Monserrate Estefanía, Andrea Monserrate, Valeria Roció y Jesica Monserrate, quienes me han acompañado durante mi formación y preparación, a quienes les demuestro admiración, gratitud y respeto por sus dones y buenos deseos hacia mí. A Carlos Ariel, Luis Alfonso, Anthony Jordán, Jiorge Michael y José Gregorio, amigos, colegas y parceros del alma, quienes han estado muy de cerca demostrando su apoyo moral e incondicional, recargado de buena vibra en cada uno de los eventos pasados, siendo testigos de mi avance en cada etapa propuesta, así mismo agradezco de todo corazón a aquellas personas (docentes y amigos) que de una u otra manera han estado mirándome y reflejando sus rostros en el mío, siguiendo adelante a pesar de las circunstancias del destino, y que aprendan que nadie, absolutamente nadie en la vida está en condiciones de limitarnos ni juzgarnos.

"Todos los niños nacen siendo genios, pero son aplastados por la sociedad y los sistemas de educación" Michio Kaku

Buste Muñoz Nixon Agustín

CERTIFICACIÓN DE LA DIRECTORA DE TESIS

Ing. LILIANA COROZO QUIÑONEZ, Ph.D., Docente de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí.

Certifica:

Que el trabajo de titulación **"COMBINACIÓN DE AUXINAS Y CITOCININAS EN LA PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE *Hylocereus megalanthus* (K.SCHUM. EX VAUPEL) RALF BAUER), *H. purpusii* (WEING.) BRITTON & ROSE *E H. undatus* (HAW.) BRITTON & ROSE A PARTIR DE SEGMENTOS DE CLADODIOS**", es un trabajo original realizado por el estudiante **BUSTE MUÑOZ NIXON AGUSTÍN**, el cual fue realizado bajo mi tutoría.

_____

Ing. LILIANA COROZO QUIÑONEZ, Ph.D.

DIRECTORA DE TRABAJO

CERTIFICACIÓN DEL REVISOR DEL TRABAJO

Ing. ADRIANA DEL CARMEN CELI SOTO, Ph.D Docente de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí.

Certifica:

Que he revisado, estilo y ortografía del trabajo de titulación titulación **"COMBINACIÓN DE AUXINAS Y CITOCININAS EN LA PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE *Hylocereus megalanthus* (K.SCHUM. EX VAUPEL) RALF BAUER), *H. purpusii* (WEING.) BRITTON & ROSE *E H. undatus* (HAW.) BRITTON & ROSE A PARTIR DE SEGMENTOS DE CLADODIOS**", elaborado por el estudiante **BUSTE MUÑOZ NIXON AGUSTÍN**, el presente trabajo de investigación ha sido escrito de acuerdo a las normas ortográficas y sintaxis vigentes en el Reglamento de la Unidad de Titulación Especial de la Universidad Técnica de Manabí.

Ing. ADRIANA CELI SOTO. Ph.D

REVISORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICACIÓN DE LA COMISIÓN DE REVISIÓN Y EVALUACIÓN

Sometida a consideración del Tribunal de Seguimiento y Evaluación, legalizada por el Honorable Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

APROBADA POR:

_____

Ing. Presidente del tribunal de sustentación

_____

Ing. Miembro del tribunal de sustentación

_____

Ing. Miembro del tribunal de sustentación

DECLARACIÓN SOBRE DERECHOS DE AUTOR

Declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento. A través de la presente declaración de este trabajo investigativo es de sumo derecho de propiedad intelectual del autor.

BUSTE MUÑOZ NIXON AGUSTÍN

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA I
AGRADECIMIENTO II
CERTIFICACIÓN DE LA DIRECTORA DE TESIS III
CERTIFICACIÓN DEL REVISOR DEL TRABAJO IV
CERTIFICACIÓN DE LA COMISIÓN DE REVISIÓN Y EVALUACIÓN V
DECLARACIÓN SOBRE DERECHOS DE AUTOR VI
ÍNDICE GENERAL VII
ÍNDICE DE TABLAS VII
ÍNDICE DE FIGURAS VII
RESUMEN VIII
ABSTRACT XI
1. INTRODUCCIÓN 1
2. OBJETIVOS 4
2.1. GENERAL 4
2.2. ESPECÍFICOS 4
3. MARCO REFERENCIAL 14
3.1. GENERALIDADES 14
3.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA 14
3.3. MORFOLOGÍA DE LA PITAHAYA 15
3.3.1. RAÍZ 15
3.3.2. TALLO 15
3.3.3. FLOR 15
3.3.4. FRUTO 16
3.3.5. SEMILLA 16
3.4. SEGMENTO DE CLADODIO 16
3.5. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA PITAHAYA 16
3.6. CULTIVO *IN VITRO* DE TEJIDOS 18
- FASE 0. RECOLECCIÓN DE MUESTRA Y DESINFECCIÓN DEL MATERIAL VEGETAL 19
- FASE 1. ESTABLECIMIENTO 19
- FASE 2. MULTIPLICACIÓN 19
- FASE 3. ENRAIZAMIENTO 20
- FASE 4. ACLIMATACIÓN 20

3.7. EFECTO DE LOS REGULADORES DE CRECIMIENTO 20
3.7.1. Auxinas 21
- ÁCIDO INDOLACETICO 21

● **ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB)** **21**
3.7.2. Citoquininas *22*
● **BENCILAMINOPURINA (BAP)** **22**
● **KINETINA (KIN)** **22**
4. METODOLOGÍA **23**
4.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN. **23**
4.1.2. Material vegetal *23*
4.2. DESARROLLO DEL TRABAJO DE LABORATORIO **24**
4.2.1. Establecimiento in vitro *24*
4.2.2. Multiplicación in vitro *25*
4.2.3. Enraizamiento in vitro *26*
4.2.4. Aclimatación ex vitro *27*
4.3. ANÁLISIS DE DATOS **29**
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN **21**
5.1. ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* **21**
TABLA 5. DÍAS A GERMINACIÓN Y PORCENTAJES DE GERMINACIÓN Y CONTAMINACIÓN EN PITAHAYA **22**
5.2. MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* **23**
5.3. ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* **29**
5.4. ACLIMATACIÓN *EX VITRO* **34**
6. CONCLUSIONES **40**
7. RECOMENDACIONES **41**

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LA PITAHAYA **8**

TABLA 2. FACTORES EN ESTUDIO PARA FASES DE MULTIPLICACIÓN Y ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* **21**

TABLA 3. TRATAMIENTOS EMPLEADOS PARA LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE TRES ESPECIES DE PITAHAYA**.** **19**

TABLA 4. TRATAMIENTOS EMPLEADOS PARA EL ENRAIZAMIENTO *IN VITRO* DE TRES ESPECIES DE PITAHAYA**.** **20**

TABLA 5. DÍAS A GERMINACIÓN Y PORCENTAJES DE GERMINACIÓN Y CONTAMINACIÓN EN PITAHAYA **21**

TABLA 6. EFECTO DE LA INTERACCIÓN TRIPLE (ESPECIE X SEGMENTO X MEDIO) SOBRE EL NÚMERO DE BROTES, LONGITUD DE BROTES Y DIÁMETRO DE BROTES EN TRES ESPECIES DE PITAHAYA MULTIPLICADAS *IN VITRO* **24**

TABLA 7. EFECTO DE LAS INTERACCIONES DOBLES (ESPECIE X MEDIO), (ESPECIE X SEGMENTO), (MEDIO X SEGMENTO) SOBRE EL NÚMERO DE BROTES, LONGITUD DE BROTES, DIÁMETRO DE BROTES, EN TRES ESPECIES DE PITAHAYA MULTIPLICADAS *IN VITRO***.** **27**

TABLA 8. EFECTO SIMPLE DE LOS FACTORES ESPECIE, MEDIOS Y SEGMENTOS SOBRE EL NÚMERO DE BROTES, LONGITUD DEL BROTE Y DIÁMETRO DEL BROTE EN TRES ESPECIES DE PITAHAYA MULTIPLICADAS *IN VITRO***.** **29**

TABLA 9. EFECTO DE LA INTERACCIÓN TRIPLE (ESPECIE X SEGMENTO X MEDIO) SOBRE EL NÚMERO DE RAÍCES Y LONGITUD DE RAÍCES EN TRES ESPECIES DE PITAHAYAS ENRAIZADAS *IN VITRO***.** **30**

TABLA 10. EFECTO DE LAS INTERACCIONES DOBLES (ESPECIE X MEDIO), (ESPECIE X SEGMENTO), (MEDIO X SEGMENTO) SOBRE EL NÚMERO DE RAÍCES Y LONGITUD DE RAÍCES EN TRES ESPECIES DE PITAHAYA ENRAIZADAS *IN VITRO***.** **32**

TABLA 11. EFECTO DE LAS INTERACCIONES SIMPLES (ESPECIE), (MEDIOS), (SEGMENTOS) SOBRE EL NÚMERO DE RAÍCES Y LONGITUD DE RAÍCES EN TRES ESPECIES DE PITAHAYA ENRAIZADAS *IN VITRO*. **34**

TABLA 12. EFECTO DE LA INTERACCIÓN TRIPLE (ESPECIE X SEGMENTO X MEDIO) SOBRE EL PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA Y LONGITUD DEL BROTE EN TRES ESPECIES DE PITAHAYA ACLIMATADAS *EX VITRO*. **36**

TABLA 13. EFECTO DE LAS INTERACCIONES DOBLES (ESPECIE X MEDIO), (ESPECIE X SEGMENTO), (MEDIO X SEGMENTO) SOBRE EL PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA Y LONGITUD DEL BROTE EN TRES ESPECIES DE PITAHAYA ACLIMATADAS *EX VITRO*. **38**

TABLA 14. EFECTO DE LAS INTERACCIONES SIMPLES (ESPECIE), (MEDIOS), (SEGMENTOS) SOBRE EL PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA Y LONGITUD DEL BROTE EN TRES ESPECIES DE PITAHAYA ACLIMATADAS *EX VITRO*. **41**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procedencia del material genético de pitahaya. **A.)** *Hylocereus megalanthus.* **B.)** *Hylocereus purpusii*. **C.)** *Hylocereus undatus*.....15

Figura 2. A.) Preparación de medios de cultivos (MS). **B.)** Desinfección del material vegetal y extracción de semillas. **C.)** Siembra de las semillas en MS. **D.)** Germinación de las semillas. **E.)** Crecimiento y desarrollo de las vitroplantas..... 15

Figura 3. A.) Selección de los mejores explantes obtenidos en la fase de establecimiento: **B.)** Vitroplantas desarrollados a las 6 semanas DDS: **C.)** Vitroplantas desarrollados a las 10 semanas DDS. 16

Figura 4. A.) Cortes longitudinal de los mejores explantes (yemas) obtenidos en la fase de multiplicación: **B.)** Ubicación de los cortes apicales, centrales y basales en sus respectivos tratamientos: **C y D.)** Evaluación de las variables de estudio.....17

Figura 5. A.) Vitroplanta de pitahaya aclimatada. **B.)** Evaluación de las variables. **C.)** Plantines de Hylocereus megalanthus. **D.)** Plantines de Hylocereus undatus. **E.)** Plantines de Hylocereus purpusii 19

RESUMEN

El cultivo de pitahaya *(H. megalanthus, H.undatus e H. purpusii*) en los últimos años ha tenido una notable proyección a nivel internacional y nacional, lo que ha conducido a investigadores a obtener materiales promisorios, con bases genéticas y biotecnológicas, siendo esta última la que ha resultado eficiente para su propagación acelerada. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la respuesta de la combinación de auxinas y citoquininas en tres especies de pitahayas a partir de segmentos de cladodios. En las variables cualitativas de establecimiento y aclimatación se utilizó una estadística descriptiva no paramétrica y para las evaluaciones de las variables cuantitativas se utilizó un diseño completamente al azar (DCA) con 27 tratamientos, 10 repeticiones y 5 unidades experimentales, en un arreglo trifactorial: tres especies *(H. megalanthus, H. undatus* e *H. purpusii*); tres tipos de segmentos del cladodio (apical, central y basal) y tres medios de cultivos. En la fase de establecimiento *in vitro* las semillas de cada especie fueron colocadas en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) y se evaluó días previos a germinación, porcentaje de germinación y porcentaje de contaminación. En la etapa de multiplicación, los explantes se colocaron en MS con diferentes combinaciones de dos citoquininas con una auxina BAP/ Kin y AIA) y se evaluó la longitud de brote, diámetro de brote y número de brote. En el enraizamiento *in vitro* se utilizaron dos auxinas (AIA+ AIB) y se consideró, días a enraizamiento, longitud de raíces y número de raíces. Mientras que en la aclimatación *ex vitro,* se evaluaron porcentaje de sobrevivencia, presencia de raíces y longitud de brote. Los resultados se analizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) y las pruebas de comparación de medias con Scott & Knott (P>0.05). En la fase de establecimiento, la germinación ocurrió a los 4, 8 y 13 días para *H. purpusii, H. undatus* y *H. megalanthus,* respectivamente, se obtuvieron porcentajes de germinación entre 85, 93 y 100% y contaminación de 18,18: 5,45 y 1.8%. En la fase de multiplicación se determinó que el M3 (MS sin hormona) fue el mejor tratamiento, en enraizamiento el M1 (MS + AIA 0,1 ppm) y en aclimatación el mayor porcentaje de sobrevivencia (96,40) se presentó en la especie *H. purpusii*, todos los explantes evaluados presentaron raíces a las 4 semanas después del trasplante (DDT) y en longitud del brote se obtuvieron promedios entre 2,50 y 11,64 cm.

ABSTRACT

The cultivation of pitahaya (*H. megalanthus, H. undatus* and *H. purpusii*) in recent years has had a remarkable projection at international and national level, which has led researchers to obtain promising materials, with genetic and biotechnological bases, the latter being the one that has been efficient for its accelerated propagation. The aim of the present work was to evaluate the response of the combination of auxins and cytokinins in three species of pitahayas from cladode segments. A non-parametric descriptive statistic was used for the qualitative variables of establishment and acclimation and a completely randomised design (CRD) with 27 treatments, 10 replications and 5 experimental units was used for the evaluations of the quantitative variables, in a trifactorial arrangement: three species (*H. megalanthus, H. undatus* and *H. purpusii*); three types of cladode segments (apical, central and basal) and three culture media. In the *in vitro* establishment phase, seeds of each species were placed in Murashige and Skoog (MS) culture medium and evaluated days before germination, germination percentage and contamination percentage. In multiplication, the explants were placed in MS with different combinations of two cytokinins with an auxin (BAP/Kin and AIA) and shoot length, shoot diameter and shoot number were evaluated. In *in vitro* rooting, two auxins (AIA+ AIB) were used and it was considered, days to rooting, root length and number of roots were considered. In the *ex vitro* acclimatization, percentage of survival, presence of roots and shoot length were evaluated. The results were analysed by analysis of variance (ANOVA) and Scott & Knott mean comparison tests (P>0.05). In the establishment phase, germination occurred at 4, 8 and 13 days for *H. purpusii, H. undatus* and *H. megalanthus*, respectively, germination percentages between 85, 93 and 100% and contamination of 18.18: 5.45 and 1.8% were obtained. In the multiplication phase it was determined that M3 (MS without hormone) was the best treatment, in rooting the M1 (MS + AIA 0.1 ppm) and in acclimatization the highest percentage of survival (96.40) was presented in the species *H. purpusii*, all the explants evaluated presented roots at 4 weeks after transplanting (DDT) and in shoot length averages between 2.50 and 11.64 cm were obtained.

1. INTRODUCCIÓN

En la última década, la producción global de frutas tropicales ha ido en aumento, dada la creciente demanda en países productores. Se estima que el 99% de la producción de frutas tropicales tiene origen en los países en desarrollo, y son principalmente cultivadas por pequeños agricultores que contribuyen de manera directa a las exportaciones de productos agrícolas a nivel mundial (FAO, 2020). Dentro de este contexto, se encuentra la pitahaya (*Hylocereus* spp.) comúnmente conocida como "Fruta del Dragón" es una fruta exótica, y actualmente está extendiendo su producción por todo el mundo, dados los beneficios de la ingesta de esta fruta, en relación a las características fisicoquímicas, nutricionales y sus compuestos bioactivos; considerándose como un alimento funcional y utilizado por sus características organolépticas (Figueroa y Mollinedo, 2017).

Existen dos especies principales de pitahaya que son: *Hylocereus undatus* e *H. megalanthus*; la pitahaya roja con pulpa blanca (*H. undatus*), conocida como Dragón Fruit, es la más cultivada a nivel mundial con 10, 345 ha^{-1}, y es originaria de América Central y parte de Suramérica (Muñoz, 2014). Dentro de los principales países productores están: Israel, México, Nicaragua y Vietnam, este último liderando la producción con 1.198.854 toneladas (Perween, Mandal y Hasan, 2018). Mientras que, la pitahaya amarilla tiene una superficie sembrada de 1.087 ha^{-1}, siendo Colombia el país con mayor porcentaje de cultivos comerciales con 76,4% para esta especie (Abrajim, Arciniegas, y Torres, 2014). Entre los principales países productores de pitahaya amarilla se encuentran Colombia, Israel, y Ecuador (Santarrosa, 2013).

En Ecuador la especie *H. purpussi*, es nueva en cuanto a ser cultivo comercial, las primeras plantaciones reportadas en el país, se sitúan en las provincias de: los Ríos y Santo Domingo de los Colorados (Vergara, 2018). De acuerdo al Sistema de Información Pública Agropecuaria (SIPA), en Ecuador hasta 2020 la superficie plantada de pitahaya de manera general es de 1.292 ha^{-1}, con una superficie cosechada 547 ha^{-1} y producción de 20.785 t.

La creciente demanda del cultivo de pitahaya (*Hylocereus* spp) en el mercado internacional y nacional, implica buscar nuevas alternativas para mejorar los niveles de producción, a través de la selección de plantas promisorias, para la multiplicación

acelerada con bases biotecnológicas (Merten, 2002). Otra alternativa es la colecta de material silvestre, con la finalidad de establecer plantaciones comerciales en otros países, esto ha generado una rápida pérdida de diversidad del género *Hylocereus*, que es crítico, pues, desde el punto de visto ecológico y económico, es necesario contar con una alternativa para su conservación y aprovechamiento sustentable (Ortiz y Livera, 1999; Manzanero-Acevedo, 2014). La rápida transición de plantas silvestres a cultivo de producción comercial, sin que exista un paquete tecnológico recomendado, ha ocasionado problemas en el manejo del cultivo de pitahaya, sobresaliendo, los asociados con el establecimiento comercial del cultivo a partir de métodos de propagación asexual, tales como estacas, que, son fáciles de utilizar y presentan bajas tasas de propagación (Dallos y García, 2010).

La micropropagación de cactáceas a través de yemas axilares, ha mostrado un alto grado de homogeneidad fenotípica entre clones; sin embargo, en pitahaya se han realizado pocos estudios que evalúen el comportamiento en campo de clones propagados en condiciones *in vitro* (Infante, 1997).

Existen dos formas de multiplicar la pitahaya; sin embargo es la asexual la más utilizada, pero es vulnerable al ataque de hongos y bacterias previo a su enraizamiento como material comercial (Corres, 2009; Dallos y García 2010). El comportamiento de la pitahaya varía de acuerdo, a las condiciones ambientales, se ha visto que las especies *H. undatus* y *H. purpusii*, responden favorablemente desde los 500 a 1900 msnm, cada una de ellas se destaca por su morfología y específicamente por características organolépticas (Medina-Mendoza, 2011).

Suarez (2011) menciona, que la pitahaya requiere de un mayor esfuerzo y dedicación en investigaciones que conduzcan a mejorar la eficiencia de propagación, a través de estudios enfocados en las cactáceas, obteniendo de forma masiva y homogénea materiales élites, así como el establecimiento de protocolos confiables, como base para transformación de plantas por ingeniería genética a partir de genotipos seleccionados. La propagación vegetativa de la pitahaya se puede mejorar utilizando herramientas biotecnológicas tales como el cultivo de tejidos *in vitro*, esta técnica podría permitir la producción de un gran número de plantas clonales en relativamente cortos periodos de tiempo utilizando muy poco material de partida (Rubluo, Chávez y Martínez-Vázquez, 1993).

En pitahaya, los brotes y raíces pueden ser inducidos en medios sin reguladores de crecimiento, independientemente del tamaño de los explantes. Sin embargo, la adición de reguladores de crecimiento en medios de cultivos (Murashige y Skoog 1962) induce el 100% de brotes a partir de segmentos de tallo (Drew y Azimi, 2002). Es a partir de este contenido que surge la idea de probar reguladores de crecimiento (auxinas y citocininas) para propagar segmentos de cladodios de las especies de pitahaya promisorias antes descritas, y evaluar su comportamiento en cada una de las fases de la propagación *in vitro* (establecimiento, micropropagación, enraizamiento y aclimatación).

Estudios que evalúan condiciones adecuadas *in vitro* para la propagación de varias especies de cactus se han realizado utilizando plantas germinadas *in vitro*, evitando la desinfección de explantes provenientes del campo, debido a los agentes contaminantes que se pueden adherir al tejido a micropropagar (Pérez Molphe-Balch y Dávila-Figueroa, 2002). En virtud a lo antes mencionado, el objetivo del presente trabajo estuvo está orientado a evaluar el efecto de la combinación de auxinas y citocininas en la propagación *in vitro* de tres especies de pitahaya a partir de segmentos de cladodios.

2. OBJETIVOS

2.1. General

- Evaluar el efecto de la combinación de auxinas y citoquininas en la propagación *in vitro* de tres especies de pitahaya a partir de segmentos de cladodios.

2.2. Específicos

- Analizar la respuesta de *Hylocereus megalanthus, H. purpusii* e *H. undatus* en el establecimiento *in vitro.*
- Determinar la combinación ideal de ácido indolacético, bencilaminopurina y kinetina para la micropropagación de *Hylocereus megalanthus, Hylocereus purpusii* e *Hylocereus undatus*.
- Determinar el tratamiento ideal para el enraizamiento *in vitro* de tres especies de pitahaya.
- Analizar el comportamiento *ex vitro* de los cultivares de pitahaya obtenidos del enraizamiento.

3. MARCO REFERENCIAL

3.1. Generalidades

La pitahaya (*Hylocereus* spp) es un cultivo no tradicional que está adquiriendo importancia en Ecuador, por tener gran potencial de exportación (PROECUADOR, 2013). La demanda de los mercados se debe al sabor agradable de sus frutos (Crane y Balerdi, 2005), la misma que está compuestas de glucosa, fructosa, lípidos, potasio, sodio, magnesio, calcio, ácido cítrico, ácido láctico, y vitamina C, (Jiménez-Esparza et al. 2017).

A nivel mundial se distinguen dos tipos de pitahayas: roja y amarilla. Entre las principales especies rojas se encuentra: *Hylocereus undatus, H. costaricensis, H. polyrhizus, H. purpussi* e *H. ocamponis* (Le Bellec, Vailant, y Imbert, 2006); y, dentro de las amarillas la más cultivada es *H. megalanthus*, sinónimo *Selenicereus megalanthus* (Lim, 2012).

Esta fruta exótica se encuentra en países como: Uruguay, Venezuela, Colombia, Panamá, Brasil, Ecuador, Costa Rica, Nicaragua, México. Existen diversas fonéticas con las que se conoce, tales como: pitaya, pitahaya, fruta del dragón (dragon fruit), pitajon, cactus fruit, warakko, reina de noche (Andrade, 2009).

En el año 2019, Ecuador exportó la fruta a 17 países, Estados Unidos y Hong Kong fueron los principales destinos de las exportaciones con aproximadamente el 51% y 36% respectivamente (BCE, 2020).

3.2. Clasificación taxonómica

Dentro de la familia de las cactáceas se reconocen 1 438 especies, dentro de 124 géneros (Nyffeler y Eggli, 2010).

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Género: *Hylocereus*

Especie: *H. megalanthus, H. purpusii, H. undatus* **(**ITIS, 2013)**.**

3.3. Morfología de la pitahaya

3.3.1. Raíz

La planta de pitahaya posee dos tipos de raíz, las primarias forman mantos de raicillas que se incrustan en el suelo y las secundarias se exhiben fuera éste, pero no sus puntas, es así como, las raíces primarias crecen siguiendo el nivel del suelo, a profundidades entre 5 y 25 cm, con un área de expansión de aproximadamente 30 cm de diámetro. Esta planta tiene dos tipos de raíces, las primarias que se ubican en el suelo y las secundarias que se desarrolla principalmente fuera del suelo (Orrico-Zalazar, 2013).

3.3.2. Tallo

La planta de pitahaya se adapta a climas secos y gracias a esta característica su tallo es suculento y contenedor de agua, su epidermis es gruesa con estomas (pequeños agujeros hundidos). Los tallos de pitahaya también conocidos como "ramas" y vainas" crecen de uno a dos metros de largo, según su variedad presentan: espinas y aristas o costillas, no tienen hojas (Castillo-Martínez, Livera-Muñoz y Márquez -Guzmán, 2005). Sus tallos conocidos también como penca son triangulares verdes y a veces de color verde azulado claro, crecen en todas direcciones, presentan aristas y de ellos son los que producen flores y frutos (Sabinos, 2010).

3.3.3. Flor

> "*Tiene forma de trompeta pertenece a la familia de las hermafroditas y mide aproximadamente 20 cm de largo. Deben de localizarse en la parte más alta buscando que los rayos del sol puedan alcanzarlas, su coloración puede ser blanca, amarilla o rosa. Los tipos de fecundación pueden ser por cruzada o auto fecundados"* (Erazo Orbe y Parra Mera, 2015).

Según Toro Yagual (2015) la flor de la pitahaya representa la parte más hermosa de la planta; se abre solo en la noche (a partir de las 19h00) y se cierra por las mañanas. A la medianoche, cada flor ha alcanzado el clímax de su apertura y es cuando se puede apreciar uno de los más fascinantes fenómenos de la naturaleza: una

flor nocturna blanca, en forma de copa o campana y con un extraordinario e increíble tamaño de unos 25 centímetros de diámetro Son de forma de trompetas de color blanco o rosado, miden entre 15 o 30 cm de largo, se abren una sola vez en la noche, sin embargo, se ha encontrado que se han abierto durante el día; las flores son erectas, cuando se abren buscan la luz de la luna o del sol en las primeras o últimas horas del día (Kondo et al. 2013).

3.3.4. Fruto

Es una baya de diferentes tamaños y formas, ovoide, redondeado y alargado, la cascara tiene brácteas de color verde carnoso y pesan según la variedad entre 150 - 700 gramos (Kondo et al. 2013).

3.3.5. Semilla

El fruto posee gran cantidad de semillas pequeñas y de color negro, pero al sembrar con semilla sexual el desarrollo de la vaina primaria de la planta es demasiado lento, por tal razón solo se utiliza la reproducción asexual por medio de las vainas (ICA, 2012).

3.4. Segmento de cladodio

Los segmentos de cladodio son tallos verdes, suculentos que cumplen funciones similares a las de las hojas ya que son fotosintéticos, pueden producir flores, frutos y hojas temporales (Rueda, 2015). El método más utilizado para propagar especies leñosas *in vitro* son; la brotación de yemas adventicias, cultivo de ápices de vástagos, yemas laterales y segmentos nodales, obtenidos de áreas basales, centrales y apicales de plantas madre con carácter juvenil (Olmos et al, 2010).

3.5. Composición nutricional de la pitahaya

Vaughan et al. (2009), la pitahaya es un fruto exótico con vitaminas y propiedades curativas que contribuyen a:

- Contiene vitamina C que ayuda a la formación de los huesos
- Reduce el nivel de ácido úrico en la sangre

- Tiene semillas negras que es una grasa natural que mejora el funcionamiento del tracto digestivo.

Según Incap (2012) señala que por cada 100 g. de fruta (55 g. de parte comestible), contiene una composición nutricional de agua, carbohidrato, energía, etc. (Tabla 1).

Tabla 1. Composición nutricional de la pitahaya

Factor nutricional	Pitahaya amarilla	Pitahaya roja
Agua (g)	85.4	89.4
Ácido ascórbico (mg)	4.0	25.0
Calcio (mg)	10.0	6.0
Calorías	50.0	36.0
Carbohidratos (g)	13.2	9.2
Fibra (g)	0.5	0.3
Fósforo (mg)	16.0	19.0
Grasa (g)	0.1	0.1
Hierro (mg)	0.3	0.4
Niacina (mg)	0.2	0.2
Proteínas (g)	0.4	0.5
Vitamina C(mg)	8.0	25.0

Fuente: Albán y Alencastri (2015)

3.6. Cultivo *in vitro* de tejidos

La expresión cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial, esta forma de cultivar se caracteriza por la asepsia y el control de los factores que regulan el crecimiento (Stewart, 2008). El avance alcanzado por las ciencias biológicas ha permitido en los últimos años el estudio detallado de las plantas tanto a nivel celular como molecular, y en condiciones de laboratorio es posible actualmente reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Castillo, 2010).

Según Jamilh et al. (2011), los diversos trabajos desarrollados con el objetivo de mejorar las especies de pitahaya son de gran importancia pues, de ellos puede resultar una selección de materiales más vigorosos, productivos y con frutos de mejor calidad que los disponibles actualmente.

El cultivo *in vitro* es de gran interés por su aplicación en la obtención rápida de especies para reforestación, rescate de especies amenazadas, y conservación *in vitro* de germoplasma valioso (Jiménez-Terry & Agramonte, 2013). La propagación *in vitro* tiene la particularidad de poder obtener plantas genética y fisiológicamente similares a las plantas madre que fueron seleccionadas por sus características superiores o de interés, además en grandes cantidades en tiempos y espacios reducidos (Pérez-Molphe-Balch et al. 2008).

El medio de Murashige y Skoog (1962) - MS es el más utilizado en micropropagación, particularmente si el objetivo es regenerar plantas.

El sistema de propagación por yemas, ápices y meristemos se basa en la formación de nuevos brotes a partir de meristemos preexistentes, al ser los meristemos apicales y axilares los puntos de crecimiento natural, los cuales se localizan dentro de las yemas, esta actividad se mantiene estable cuando se realiza el cultivo *in vitro*, por lo que no implica fenómenos de desdiferenciación (tejido calloso) y re-diferenciación celular (organogénesis) (Truskina & Vernoux, 2018).

En general, las plantas de cactus *in vitro* se aclimatan fácilmente (Estrada-Luna, 2008). Las plantas con tallos suculentos y el metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM) son características positivas que minimizan el estrés hídrico durante la aclimatación, altas tasas de éxito similares han sido reportadas, en varias otras especies de cactus (Quiala et al. 2009).

3.6.1. Fases de la micropropagación

- **Fase 0. Recolección de muestra y desinfección del material vegetal**

Una vez elegida la planta madre, se extraerán los fragmentos a partir de los cuales se obtendrán los explantes. Los explantes pueden ser yemas, trozos de hojas, porciones de raíces, semillas, entre otros. Antes de extraer los explantes se hará una desinfección de los fragmentos de la planta madre para eliminar los contaminantes externos (Remache, 2011).

- **Fase 1. Establecimiento**

Luego de la desinfección superficial, las semillas o las yemas dependiendo del material seleccionado, se ponen en medio de cultivo estéril. En un período de una semana o quince días, comienza el proceso de germinación o regeneración de nuevos tejidos vegetales, iniciando el ciclo de cultivo *in vitro* (Montesinos et al. 2015).

- **Fase 2. Multiplicación**

Durante esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron la Fase 1 y 2 originen brotes (de procedencia axilar o adventicia) con varias hojas. En la base de cada hoja hay una yema que se desarrollará luego de ser puesta en contacto con el

medio de cultivo. Periódicamente estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. El número de plantas que se obtengan dependerá de la especie vegetal y de las condiciones del medio de cultivo (Suárez et al., 2014).

- **Fase 3. Enraizamiento**

Para enraizar los explantes se utilizan principalmente plantines individuales de un tamaño aproximado de 2 centímetros. Los brotes obtenidos durante la fase de multiplicación se transfieren a un medio libre de reguladores de crecimiento o que solo contenga hormonas del tipo auxinas. Algunas especies de plantas no necesitan pasar por esta etapa y emiten sus raíces en el mismo medio de cultivo donde desarrollan yemas nuevas, por lo tanto, el proceso de multiplicación y enraizamiento transcurren en forma simultánea (Veliz, 2017).

- **Fase 4. Aclimatación**

Los explantes recién enraizados son muy sensibles a los cambios ambientales, de manera que el éxito o el fracaso de todo el proceso dependen de la aclimatación. En esta etapa las plantas sufrirán cambios de diferente tipo que permitirán la adaptación de estas a vivir en condiciones naturales. Están pocos adaptados a crecer en un invernáculo, ya que estos explantes han enraizado y crecido en ambientes con una humedad relativa muy elevada y generalmente tienen estomas que no son completamente funcionales frente a descensos de la humedad relativa, y por lo tanto demasiado lentos para evitar la desecación del explante (Gil et al., 2017).

3.7. Efecto de los reguladores de crecimiento

Al conjunto de las hormonas y productos sintéticos similares se les considera como reguladores de crecimiento, y la distribución de estos compuestos que la planta sintetiza y sus concentraciones, tienen efectos en las células dirigiéndose a una diferenciación y desdiferenciación (Pierik, 1990).

La producción de raíces y brotes a la par es importante en el cultivo *in vitro* porque puede evitar fases adicionales del proceso; lo cual aumenta el tiempo y los

costos de este y dicha obtención simultánea de raíces y brotes depende de la proporción auxina/citoquinina (Pérez, 2011).

Según Aliyu y Mustapha (2007), la brotación axilar de cactus requiere niveles bajos o no de auxina, pero siempre altos niveles de citoquininas. Las diferentes respuestas pueden ser la formación de tejido indiferenciado (callos), de órganos (brotes adventicios o raíces), embriones somáticos, o la brotación de los meristemos preexistentes (Pérez-Molphe-Balch et al. 2008)

3.7.1. Auxinas

Son un tipo de fitohormonas especializadas en diferentes procesos a nivel vegetal. Los principales puntos de acción se encuentran a nivel celular, donde tienen la capacidad de dirigir e intervenir en los procesos de división, elongación y diferenciación celular (Amin et al., 2013). Esta suele encontrarse muy bien distribuida en la mayoría de las células y tejidos vegetales, por lo que puede interferir en procesos de diferenciación unicelular, pluricelular o incluso tener acción en los diferentes tejidos vegetales. Dadas las funciones que posee esta hormona es considerada como un tipo de morfógeno capaz de inducir la diferenciación celular de órganos como raíces, tallos y hojas, y así mismo, dar origen a ellos (George et al., 2008). De acuerdo con Uribe et al. (2012), las auxinas más comunes para la vía organogénesis directa son:

- **Ácido Indolacetico**

El AIA es la principal auxina nativa de las plantas superiores (Bonner y Bandurski, 1952). El AIA está involucrado en el crecimiento y desarrollo de las plantas, principalmente en una serie de procesos fisiológicos que incluyen el alargamiento y división celular, diferenciación de tejido, fototropismo, gravitropismo y en respuestas defensivas (Leveau y Lindow, 2005; Santner et al., 2009) destacando un importante rol en la formación del xilema y la raíz.

- **Ácido Indolbutírico (AIB)**

Entre las hormonas sintéticas se encuentra el AIB, un regulador del crecimiento que promueve y acelera la formación de raíces adventicias en las plantas. Se utiliza frecuentemente para la propagación de esquejes o estacas y acodos. Este

tipo de hormonas de crecimiento ha mostrado un efecto positivo en el desarrollo de las plantas al estimular la formación de raíces laterales (Lozano-Kretzschmar, 2014).

3.7.2. Citoquininas

Las citoquininas tienen la capacidad de estimular e inducir una alta proliferación y división celular, suelen inducir la iniciación y elongación de las raíces al igual que pueden activar la senescencia de las hojas, permitiendo estimular el desarrollo fotomorfogénico vegetal y jugar un rol importante en el aumento y generación de la producción de brotes a nivel vegetal (Yong et al., 2009). Se sabe que estas fitohormonas suelen producirse de manera abundante en la punta de la raíz y suelen transportarse principalmente por el xilema hacia las partes aéreas de la planta (hojas) (Bottini, Cassán y Piccoli, 2004). De acuerdo con Machakova et al., (2008) las citoquininas más utilizadas para la proliferación de brotes vía organogénesis directa son:

- **Bencilaminopurina (BAP)**

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

- **Kinetina (Kin)**

La citoquina Kinetina es utilizada para producir trasplantes en el cultivo de tejidos (Rademacher, 2015), pues favorece a la iniciación o crecimiento de yemas adventicias y axilares, inhiben la formación de raíces, además inducen al crecimiento de callos y también a la maduración de embriones somáticos (Pérez, 2004)

4. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación.

4.1.1. Ubicación del ensayo

La investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ingeniería Agronómica de la Universidad Técnica de Manabí, localizada geográficamente a una latitud sur: 01°09´51”, longitud oeste: 80°23´24”, con una altitud: 60 msnm, ubicada en la parroquia Lodana del cantón Santa Ana.

4.1.2. Material vegetal

Las especies en estudio fueron: pitahaya amarilla (*H. megalanthus*), pitahaya púrpura (*H. purpusii*) y pitahaya roja (*H. undatus*) (Figura 1). El material vegetal se colectó en dos haciendas, dedicadas a la producción de pitahaya en la provincia de Manabí. Los frutos de *H. megalanthus* se colectaron en la Hacienda “Ocaso” Km 4/2 vía Rocafuerte-Tosagua ubicada geográficamente a 0°52´48´´ de latitud sur y 80°23´02´´ de longitud oeste, a una altitud de 42 msnm (Figura 1. A), mientras que *H. purpusii* e *H. undatus* los proporcionó Pitakawsay Ltda, km 7 vía Rocafuerte-Manta ubicada geográficamente a 0°55´46´´ de latitud sur y 80°31´27´´ de longitud oeste, a una altitud de 50 msnm (Figura 1. B, C).

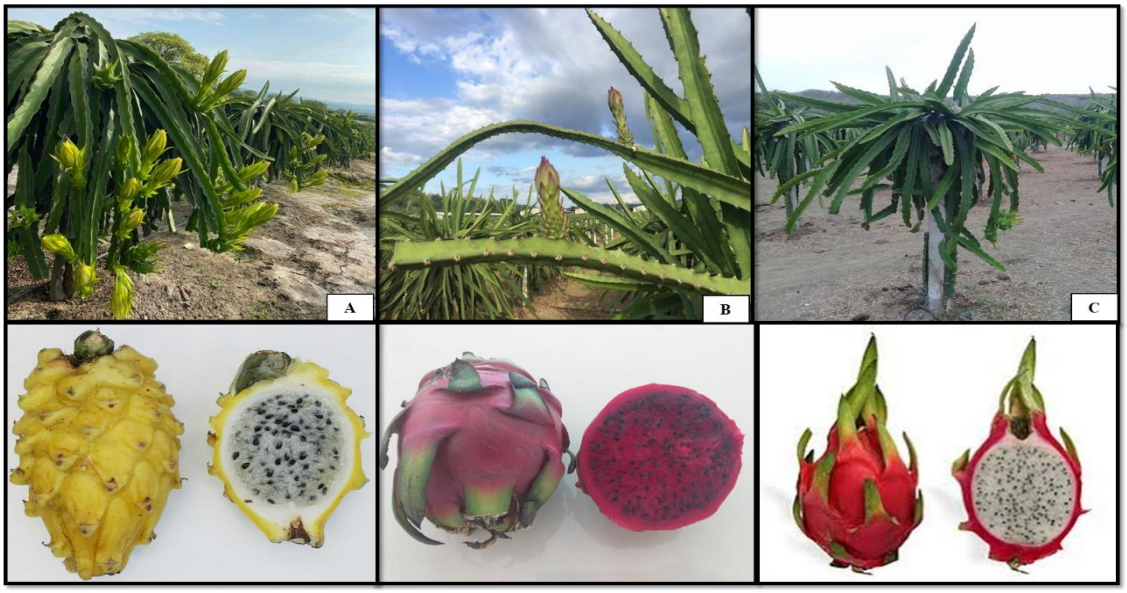

Figura 1. Material genético de pitahaya. A.) *H. megalanthus.* B.) *H. purpusii.* C.) *H. undatus*

Las actividades en esta investigación se desarrollaron en dos etapas: 1) en condiciones de laboratorio (*in vitro*) y 2) y en condiciones de casa de vegetación (e*x vitro*).

4.2. Desarrollo del trabajo de laboratorio

4.2.1 Establecimiento *in vitro* de tres especies de pitahaya

Antes del establecimiento *in vitro* de las semillas, el medio de cultivo fue ajustado a un pH de 5,7, y esterilizado en autoclave a 121°C durante 20 minutos (Figura 2. A).

Para iniciar el establecimiento, los frutos fueron lavados con agua destilada y jabón líquido. En condiciones estériles (cámara de flujo laminar), las semillas se extrajeron de la pulpa (Figura 2. B) y se enjuagaron con abundante agua corriente en un cedazo plástico, hasta eliminar el exceso de mucílago que las recubre. Posteriormente, se colocaron en un vaso de precipitación que contenía una solución de hipoclorito de sodio al 1%, más gotas de Tween 20, durante 5 minutos, seguido de tres enjuagues con abundante agua destilada esterilizada.

Para la siembra, las semillas previamente desinfectadas se colocaron en tubos de ensayo de 150 x 25 mm (Figura 2. C) conteniendo medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS, 50%), suplementado con sacarosa (20 g/l) y gelificante Gellan Gum al 0,3%. El pH del medio se ajustó a 5,7 y seguido se esterilizó a 121°C durante 20 minutos. Posteriormente, las semillas se colocaron en condiciones de cultivo a 24 ± 2°C, un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad (Figura 2. D-E)

Las variables que se evaluaron en esta fase son las siguientes:

- **Días a la emergencia**

Se evaluó por única ocasión los días previos a la emergencia hasta obtener un 50% de las semillas germinadas.

- **Porcentaje de germinación y contaminación**

Ambas variables fueron evaluadas durante los primeros 15 días y su medidad fue en porcentaje.

Figura 2. Establecimiento *in vitro*. **A.)** Preparación de medio de cultivo (MS). **B.)** Desinfección del material vegetal y extracción de semillas. **C.)** Siembra de las semillas en MS. **D.)** Germinación de las semillas. **E.)** Crecimiento y desarrollo de las vitroplantas.

4.2.2 Multiplicación *in vitro*

Para la inducción a la organogénesis, los explantes fueron transferidos al medio de multiplicación y se tomaron cladodios de plántulas germinadas *in vitro* de 105 días después de la siembra (DDS) (Figura 3. A), con ayuda de un bisturí y en condiciones de cámara de flujo, cada cladodio se seccionó en tres partes: ápice (apical), en la mitad del brote (central) y de la base del cladodio (basal) (Tabla 2). Para inducir la formación de brotes, los explantes fueron colocados en vasos que contenían los tratamientos en estudio, cultivando durante 10 semanas (Figura 3 B, C).

Las variables que se evaluaron en esta fase son las siguientes:

- **Número de brotes por segmentos de cladodios**

A partir de cada segmento de cladodio (apical, medio, basal) se contabilizó el número de nuevos brotes emitidos en cada tratamiento y repetición.

- **Altura de brote (cm)**

Con la ayuda de un calibrador se midió la altura desde la base hasta el ápice de los brotes emitidos por cada tratamiento y repetición.

- **Diámetro de brote (mm)**

Se tomó el diámetro en la parte media de cada brote emitido, por tratamiento y repetición.

Figura 3. Multiplicación in vitro. **A.)** Selección de explantes obtenidos en la fase de establecimiento: **B.)** Vitroplantas desarrollados a las 6 semanas DDS: **C.)** Vitroplantas desarrollados a las 10 semanas DDS.

4.2.3 Enraizamiento *in vitro*

Los brotes obtenidos en la fase de multiplicación son individualizados para inducir el enraizamiento, (Figura 4. A), se tomaron brotes que presentaron una altura de 2 cm aproximadamente, se cultivaron 5 brotes por cada recipiente. Esta fase se llevó a cabo en un medio de cultivo básico MS (Figura 4 B, C) con diferentes combinaciones hormonales (Tabla 2). Como en los casos anteriores, los cultivos se colocaron en condiciones controladas por un periodo de 60 días para iniciar las evaluaciones de las variables (Figura 4 D, E). En esta fase se evaluó:

- **Días de inicio al enraizamiento**

Se observaron diariamente la emisión de raíces, a partir del séptimo (7) DDS. En esta fase se evaluaron 5 brotes/tratamiento y repetición. Se determinó el número de días, cuando el 50% de los brotes emitieron raíces.

- **Número de raíces**

Se contabilizó el número de raíces emitidas de 5 brotes por tratamiento, este dato se tomó a las 10 semanas de iniciada la fase de enraizamiento.

- **Longitud de raíces (cm)**

Con la ayuda de un calibrador se midió la longitud de 3 raíces por plántula tomando 5 plantas por tratamiento. Este dato se registró a las 10 semanas a partir de iniciada la fase de enraizamiento.

Figura 4. Enraizamiento *in vitro*. **A-B.)** Siembra de brotes en medios**. C-D-E.)** Toma de datos de las variables.

4.2.4 Aclimatación *ex vitro*

Se retiraron cuidadosamente las plántulas de los envases, las raíces fueron lavadas con abundante agua hasta eliminar completamente los residuos de agar, las mismas que permanecieron en la casa de sombra durante cuatro semanas (Figura 5. A). En esta fase, las plantas obtenidas *in vitro* fueron ubicadas en un lugar

semiprotegido denominado casa sombra, se colocaron los explantes en bandejas de 50 alveolos con una dimensión de 55 cm de largo, 29 cm de ancho y 7,5 cm de alto, conteniendo turba como sustrato (Figura 5. B).

En este lapso, las plántulas fueron manejadas en condiciones de alta humedad durante la primera semana, el riego se realizó cada hora (30 segundos, con atomizador) para evitar problemas por deshidratación, además se mantuvo baja intensidad luminosa. Después del sexto día en condiciones de casa sombra se disminuyó la humedad relativa progresivamente hasta alcanzar los valores del ambiente exterior. Además, se aplicó semanalmente una solución nutritiva (macro y micronutrientes) al 50% según la formulación de Murashige y Skoog (1962). Posteriormente las plántulas, fueron colocadas en fundas plásticas de color negro y llevadas a condiciones de vivero, previo a su siembra en el campo definitivo (Figura 5. C-E). En esta fase se evaluó:

- **Porcentaje de sobrevivencia**

A los 5 y 10 días después de la siembra en las bandejas, se contaron las plantas muertas en cada tratamiento.

- **Presencia de raíces**

A las seis semanas después del trasplante se evaluó la presencia de raíces por medio de observación visual al 10% de la población total.

- **Altura del brote**

Con la ayuda de un calibrador se procedió a medir la longitud de las vitroplantas a las 6 semanas de aclimatación.

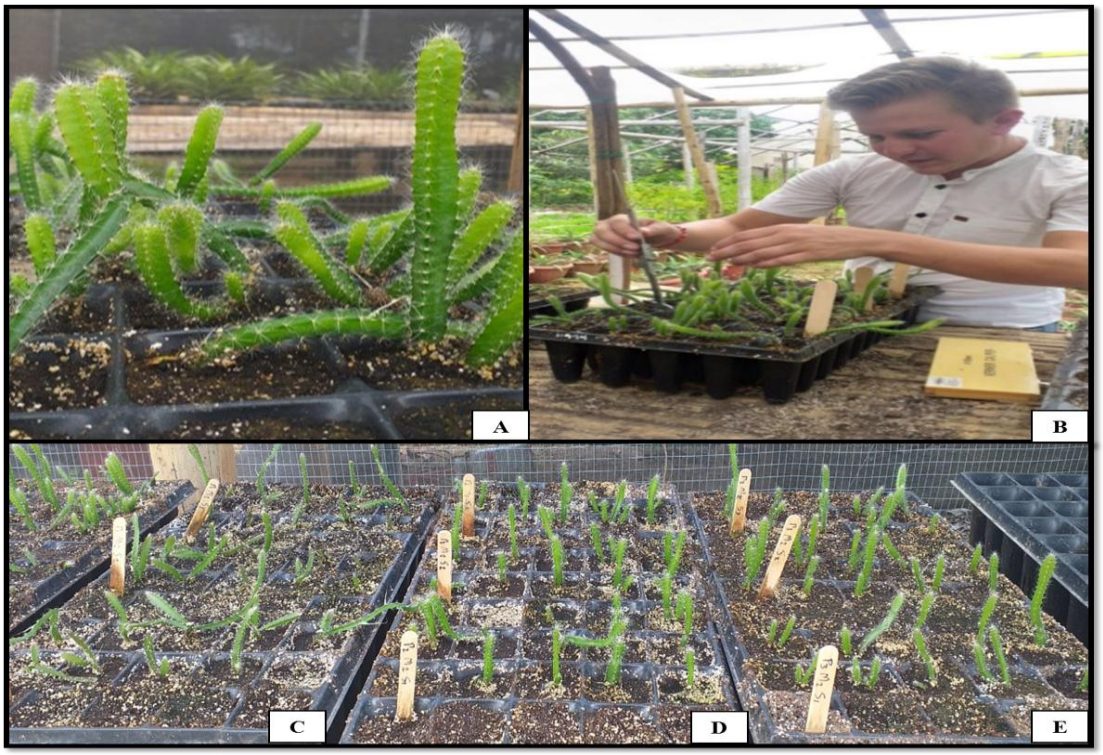

Figura 5. Aclimatación *ex vitro*. **A.)** Vitroplantas de pitahaya aclimatada. **B.)** Evaluación de las variables. **C.)** Plántulas de *H. megalanthus*. **D.)** Plantines de *H. undatus*. **E.)** Plantines de *H. purpusii*

4.3. Análisis de datos

Los datos obtenidos se analizaron por medio de una estadística descriptiva no paramétrica, mediante la elaboración de tablas de porcentajes para días a germinación, porcentaje de germinación y porcentaje de contaminación. En la fase de multiplicación *in vitro* se utilizó estableció un Diseño Completamente al Azar (DCA), con arreglo factorial AxBxC (3 especies x 3 medios x 3 segmentos) el cual incluyó 27 tratamientos, 5 repeticiones y 3 unidades experimentales (Tabla 3), las mismas que fueron analizadas mediante el análisis de varianza (ANOVA), aplicando la prueba de comparación Scott y Knott, ($P< 0.05$) para las medias entre los tratamientos.

En la fase de enraizamiento *in vitro* los tratamientos se establecieron en un Diseño Completamente al Azar (DCA), con arreglo factorial AxBxC (3 especies x 3 medios x 3 segmentos) el cual incluyó 27 tratamientos, 10 repeticiones y 5 unidades experimentales (Tabla 4), las mismas que fueron analizadas mediante el análisis de varianza (ANOVA), aplicando la prueba de comparación Scott y Knott, ($P < 0,05$) para las medias entre los tratamientos. En la fase de aclimatación *ex vitro* para la

variable cualitativa se estableció una estadística descriptiva no paramétrica mediante la elaboración de tablas de porcentajes de días y para las variables cuantitativas un Diseño Completamente al Azar (DCA), con arreglo factorial AxBxC (3 especies x 3 medios x 3 segmentos) el cual incluyó 27 tratamientos, 10 repeticiones y 5 unidades experimentales, siguiendo el diseño aplicado en la fase anterior (Tabla 4). El análisis de datos se realizó con el paquete estadístico Infostat profesional 2018.

Tabla 2. Factores en estudio para fases de multiplicación y enraizamiento *in vitro*

Factores en estudio para multiplicación	**Factores en estudio para enraizamiento**
Factor A: Especies	**Factor A: Especies**
E1: *Hylocereus megalanthus* E2: *Hylocereus undatus* E3: *Hylocereus purpusii*	E1: *Hylocereus megalanthus* E2: *Hylocereus undatus* E3: *Hylocereus purpusii*
Factor B: Medios	**Factor B: Medios**
M1: MS + BAP 3ppm + AIA 0,1 ppm M2: MS + Kin 2ppm + AIA 0,1 ppm M3: MS	M1: AIA 0, 1 ppm M2: AIB 0, 3 ppm M3: MS + CA
Factor C: Segmento del cladodio	**Factor C: Segmento del cladodio**
S1: Apical S2: Central S3: Basal	S1: Apical S2: Central S3: Basal

BAP: Bencilaminopurina **AIA:** Ácido indolacético

Kin: Kinetina **AIB:** Ácido indolbutírico

MS: Murashigue y Skoog **CA:** Carbón activado

Tabla 3. Tratamientos empleados para la multiplicación *in vitro* de tres especies de pitahaya.

FASE DE MULTIPLICACIÓN				
BAP+AIA (mg/L^{-1})	**Pitahaya amarilla**	**Pitahaya roja**	**Pitahaya púrpura**	**Segmento**
3 ppm + 1 ppm	T1= P1M1S1(Pitahaya Amarilla + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Apical	T10= P2M1S1 (Pitahaya Roja + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Apical	T19= P3M1S1 (Pitahaya Púrpura + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Apical	Apical
	T2= P1M1S2(Pitahaya Amarilla + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Central	T11= P2M1S2 (Pitahaya Roja + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Central	T20= P3M1S2 (Pitahaya Púrpura + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Central	Central
	T3= P1M1S3(Pitahaya Amarilla + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Basal	T12= P2M1S3 (Pitahaya Roja + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Basal	T21= P3M1S3 (Pitahaya Púrpura + MS=BAP 3 ppm + AIA 0,1 ppm + Basal	Basal
Kin+AIA (mg/L^{-1})				
Kin 2 ppm + AIA 0,1 ppm	T4= P1M2S1 (Pitahaya Amarilla + MS=Kin 2 ppm + AIA 0,1 ppm + Apical	T13= P2M2S1 (Pitahaya Roja + MS=Kin 2 ppm + AIA 0,1 ppm + Apical	T22= P3M2S1 (Pitahaya Púrpura + MS=Kin 2ppm + AIA 0,1 ppm+ Apical	Apical
	T5= P1M2S2 (Pitahaya Amarilla + MS=Kin 2 ppm + AIA 0,1 ppm + Central	T14= P2M2S2 (Pitahaya Roja + MS=Kin 2 ppm + AIA 0,1 ppm + Central	T23= P3M2S2 (Pitahaya Púrpura + MS=Kin 2ppm + AIA 0,1 ppm+ Central	Central
	T6= P1M2S3 (Pitahaya Amarilla + MS=Kin 2 ppm + AIA 0,1 ppm + Basal	T15= P2M2S3 (Pitahaya Roja + MS=Kin 2 ppm + AIA 0,1 ppm + Basal	T24= P3M2S3 (Pitahaya Púrpura + MS=Kin 2ppm + AIA 0,1 ppm+ Basal	Basal
TESTIGO				
	T7 = P1M3S1 (Pitahaya Amarilla + Testigo + Apical	T16= P2M3S1 (Pitahaya Roja + Testigo + Apical	T25= P3M3S1 (Pitahaya Púrpura + Testigo + Apical	Apical
	T8 = P1M3S2 (Pitahaya Amarilla + Testigo + Central	T17= P2M3S2 (Pitahaya Roja + Testigo + Central	T26= P3M3S2 (Pitahaya Púrpura + Testigo + Central	Central
	T9 = P1M3S3 (Pitahaya Amarilla + Testigo + Basal	T18= P2M3S3 (Pitahaya Roja + Testigo + Basal	T27= P3M3S3 (Pitahaya Púrpura + Testigo + Basal	Basal

Tabla 4. Tratamientos empleados para el enraizamiento *in vitro* de tres especies de pitahaya.

FASE DE ENRAIZAMIENTO				
AIA (mg/L^{-1})	**Pitahaya amarilla**	**Pitahaya roja**	**Pitahaya púrpura**	**Segmento**
0,1 ppm	T1= P1M1S1 (Pitahaya Amarilla + MS=AIA 0,1 ppm + Apical	T10= P2M1S1 (Pitahaya Roja + MS= AIA 0,1 ppm +Apical	T19= P3M1S1 (Pitahaya Púrpura + MS= AIA 0,1 ppm + Apical	Apical
	T2= P1M1S2 (Pitahaya Amarilla + MS= AIA 0,1 ppm + Central	T11= P2M1S2 (Pitahaya Roja + MS= AIA 0,1 ppm + Central	T20= P3M1S2 (Pitahaya Púrpura + MS= AIA 0,1 ppm + Central	Central
	T3= P1M1S3 (Pitahaya Amarilla + MS= AIA 0,1 ppm + Basal	T12= P2M1S3 (Pitahaya Roja + MS= AIA 0,1 ppm +Basal	T21= P3M1S3 (Pitahaya Púrpura + MS= AIA 0,1 ppm + Basal	Basal
AIB (mg/L^{-1})				
0,3 ppm	T4= P1M2S1 (Pitahaya Amarilla + MS= AIB 0,3 ppm + Apical	T13= P2M2S1 (Pitahaya Roja + MS= AIB 0,3 ppm + Apical	T22= P3M2S1 (Pitahaya Púrpura + MS= AIB 0,3 ppm + Apical	Apical
	T5= P1M2S2 (Pitahaya Amarilla + MS= AIB 0,3 ppm + Central	T14= P2M2S2 (Pitahaya Roja + MS= AIB 0,3 ppm + Central	T23= P3M2S2 (Pitahaya Púrpura + MS= AIB 0,3 ppm + Central	Central
	T6= P1M2S3 (Pitahaya Amarilla + MS= AIB 0,3 ppm + Basal	T15= P2M2S3 (Pitahaya Roja + MS= AIB 0,3 ppm + Basal	T24= P3M2S3 (Pitahaya Púrpura + MS= AIB 0,3 ppm + Basal	Basal
TESTIGO				
	T7 = P1M3S1 (Pitahaya Amarilla + MS sin auxinas	T16= P2M3S1 (Pitahaya Roja + MS sin auxinas + Apical	T25= P3M3S1 (Pitahaya Púrpura + MS sin auxinas + Apical	Apical
	T8 = P1M3S2 (Pitahaya Amarilla + MS sin auxinas + Central	T17= P2M3S2 (Pitahaya Roja + MS sin auxinas + Central	T26= P3M3S2 (Pitahaya Púrpura + MS sin auxinas + Central	Central
	T9 = P1M3S3(Pitahaya Amarilla + MS sin auxinas + Basal	T18= P2M3S3 (Pitahaya Roja + MS sin auxinas + Basal	T27= P3M3S3 (Pitahaya Púrpura + MS sin auxinas + Basal	Basal

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Establecimiento *in vitro*

La germinación de las semillas de *H. purpusii* se presentó a los 4 días después de la siembra (DDS), mientras que *H. undatus* e *H. megalanthus* a los 8 y 13 DDS respectivamente. Rodríguez, Chacón y Carrillo (2014) describen que la germinación *in vitro* se ha utilizado con éxito en muchas especies y ha demostrado ser superior a otras técnicas empleadas como la germinación *ex vitro* en sustratos o con papel filtro. Gomez (2004) menciona que, aunque existe una gran cantidad de protocolos para la desinfección de semillas y explantes de cactáceas cuyos procedimientos establecidos varían de acuerdo, a la especie y tipo de explante, han resultado eficientes en el control de hongos y bacterias. Por otra parte, Ruvalcaba-Ruiz et al. (2010) obtuvieron resultados similares en *Crotalaria retusa* y *Stepnocereus griseus* en medios de cultivo sin aplicación de hormonas. No obstante, Cuellar-Chávez et al. (2006) y Ojeda Zacarías et al. (2008) mencionan que otras especies necesitan de hormonas como auxinas y citoquininas para su emergencia.

En relación, al porcentaje de germinación *in vitro, H. purpusii* obtuvo 100% en comparación con *H. megalanthus* e *H. undatus* que obtuvieron 92,72% y 85,45% respectivamente (Tabla 5), estos resultados favorables podrían estar relacionados con las condiciones óptimas de cultivo para estas especies, en el caso particular de *H. purpusii* las semillas presentaron la mejor respuesta lo que podría deberse a las condiciones genéticas y los contenidos de ciertos reguladores endógenos en las semillas de esta especie. Cuellar-Chávez et al. (2006) obtuvieron un bajo porcentaje de germinación en *H. undatus* (12,9%) mientras que Morales (2000) obtuvo 90% de germinación en la misma especie. Es necesario mencionar que el porcentaje de germinación de las semillas conseguidas de frutos frescos es variable, y en ello puede influir el tiempo de recolección del fruto y la edad posterior a la colecta para la extracción de semillas.

Tabla 5. Días a germinación y porcentajes de germinación y contaminación en pitahaya

Especie	Número de semillas	Días a germinación	Germinación (%)	Contaminación (%)
H. megalanthus	110	13	92,72	5,45
H. undatus	110	8	85,45	18,18
H. purpusii	110	4	100	1,8

Otras cactáceas con un comportamiento variable en la germinación de semillas obtenidos de frutos frescos son: *Stenocereus griseus* (Haw.) 15,2%, *S. queretaroensis* (Weber) 84,1% y *S. gummosus* (Engelm) 60% (Cuellar-Chávez et al. 2006). Además de *Coryphantha retusa* (Britton y Rose) 80% (Ruvalcaba-Ruiz et al. 2010) y *Myrtillocactus geometrizans* (Mart) 40-80% (Gómez, 2004).

Lopes et al. (2017) obtuvieron el mayor porcentaje de germinación de semillas de pitahaya con la composición del 25% de sales minerales del medio MS. Bewley (1997) sugiere que, a mayor concentración de sales y sacarosa en el medio de cultivo, se disminuye el potencial hídrico, reduciendo el agua que ingresa en la semilla y consecuentemente inhibe la fase de germinación y la activación de las enzimas que hidrolizan las reservas que se utilizarán para el crecimiento del eje embrionario. Sin embargo, Monteiro Do Rêgo et al. (2009) trabajando con *Cereus jamacaru* concluyeron que la concentración de 2,5 g/L^{-1} de sacarosa, fue más eficiente en la germinación de semillas de esta especie.

En lo que se refiere a la contaminación de las semillas, fue variable, en *H. undatus* y se observó 18,18% de contaminación, mientras que en *H. megalanthus* e *H. purpusii* 5,45% y 1,8% respectivamente, esto se relaciona con lo reportado por Montiel (2017) y Alvarado-Capó (2008), quienes mencionan que las pérdidas en el cultivo de tejidos por causa de la contaminación en numerosas especies son cuantiosas, volviendo estos procesos económicamente ineficientes. Debergh & Zimmerman (1991) aluden que la contaminación microbiana es uno de los problemas más graves en la micropropagación de especies vegetales tanto en trabajos de investigación como en la micropropagación comercial y que estos pueden tener dos

orígenes: microorganismos que colonizan la superficie o el interior del explante (endófitos) y microorganismos introducidos durante la manipulación en el laboratorio.

Leifert et al. (1994) sugieren que los vitropatógenos pueden ser dañinos para el cultivo de tejidos vegetales, ya que compiten con el explante por los nutrientes del medio produciendo daños directos e indirectos por la colonización de sus tejidos o liberación al medio de metabolitos tóxicos.

5.2. Multiplicación *in vitro*

El análisis de varianza realizado para la interacción especie x segmento x medio, no mostró significancia estadística (P≥0,05) en ninguna de las variables (Tabla 6). Sin embargo, con el tratamiento T2 se obtuvo el mayor número de brotes (23,67), mientras que los testigos en las tres especies presentaron la mayor longitud y diámetro de brote. En términos generales las combinaciones con explantes de *H. megalanthus* presentaron los mejores valores en todas las variables.

Tabla 6. Efecto de la interacción triple (especie x segmento x medio) sobre el número de brotes, longitud de brotes y diámetro de brotes en tres especies de pitahaya multiplicadas *in vitro*.

Especie	Segmento	Medio	Tratamiento	Número de brote	Longitud del brote (cm)	Diámetro del brote (mm)
H.megalanthus (E1)	Apical (S1)	M1	T1	14,00 ± 2,2	0,99 ± 0,2	2,33 ± 0,3
		M2	T2	23,67 ± 2,8	1,93 ± 0,2	2,00 ± 0,3
		M3	T3	2,33 ± 2,5	2,03 ± 0,2	2,00 ± 0,3
	Central(S2)	M1	T4	8,67 ± 2,2	0,97 ± 0,2	3,00 ± 0,3
		M2	T5	18,00 ± 2,6	1,57 ± 0,2	2,67 ± 0,3
		M3	T6	2,33 ± 2,5	1,73 ± 0,2	1,33 ± 0,3
	Basal (S3)	M1	T7	13,33 ± 2,2	1,01 ± 0,2	2,67 ± 0,3
		M2	T8	14,33 ± 2,5	1,36 ± 0,2	2,33 ± 0,3
		M3	T9	3,00 ± 2,5	1,83 ± 0,2	1,33 ± 0,3
H.undatus (E2)	Apical(S1)	M1	T10	4,00 ± 0,4	0,58 ± 0,3	1,33 ± 0,3
		M2	T11	2,67 ± 0,4	1,39 ± 0,3	2,00 ± 0,3
		M3	T12	2,00 ± 0,5	1,87 ± 0,3	2,33 ± 0,3
	Central(S2)	M1	T13	4,00 ± 0,4	0,51 ± 0,3	2,00 ± 0,3
		M2	T14	2,00 ± 0,4	1,57 ± 0,3	2,67 ± 0,3
		M3	T15	1,67 ± 0,5	2,87 ± 0,3	3,00 ± 0,3
	Basal(S3)	M1	T16	3,00 ± 0,4	0,58 ± 0,3	1,33 ± 0,3
		M2	T17	2,00 ± 0,4	1,19 ± 0,3	2,33 ± 0,3

		M3	T18	3,00 ± 0,5	1,75 ± 0,3	2,33 ± 0,3
		M1	T19	8,33 ± 1,1	0,76 ± 0,3	1,33 ± 0,3
	Apical (S1)	M2	T20	8,33 ± 1,2	1,16 ± 0,3	1,67 ± 0,3
		M3	T21	3,00 ± 1,1	1,77 ± 0,3	3,00 ± 0,3
		M1	T22	6,67 ± 1,1	0,73 ± 0,3	1,33 ± 0,3
H. purpusii (E3)	Central (S2)	M2	T23	7,67 ± 1,1	0,78 ± 0,3	1,33 ± 0,3
		M3	T24	2,33 ± 1,1	1,88 ± 0,3	2,00 ± 0,3
		M1	T25	10,00 ± 1,2	0,71 ± 0,3	2,33 ± 0,3
	Basal (S3)	M2	T26	3,00 ± 1,1	0,71± 0,3	1,33 ± 0,3
		M3	T27	2,00 ± 0,7	2,60 ± 0,4	3,00 ± 0,3
ANOVA						
Especie*Segmento*Medios				0,0994	0,6286	0,8583

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)
Media ± error estándar de la muestra.

De acuerdo a Suárez et al. (2014), con respecto a la multiplicación de pitahaya amarilla con espinas, al agregar al medio de cultivo concentraciones de 2 mg/L^{-1} de kinetina y 2 mg/L^{-1} de 6- BAP obtuvieron promedios de cladodios de 9,1-5,6 y 5,1 en segmentos apicales, centrales y basales respectivamente. No obstante, Huamán et al. (2012) al propagar de forma *in vitro* segmentos nodales de cedro (*Cedrela odorata* L.) que fueron obtenidos a partir de semillas botánicas, alcanzaron explantes de mayor altura con concentraciones de 0,5 mg/L^{-1} de BAP y 0,1 mg/L^{-1} de ANA.

El análisis de varianza realizado para la interacción doble especie x medio, mostró significancia estadística (P≥0,05) en las variables número de brote y diámetro de brote (Tabla 7). El tratamiento T2 obtuvo el mayor número de brote (18,70), mientras que el T5 y T6 obtuvieron los menores promedios (2,20), esta variabilidad probablemente esté relacionada con la constitución genética de especie, niveles endógenos disponible dentro del explante, sensibilidad del tejido y su interacción con el medio de cultivo (Machakova et al., 2008). Viñas et al. (2012) destacan que en las cactáceas la brotación de yemas axilares requiere niveles bajos de auxina y altos de citoquininas, a diferencia de Caetano-Nunez et al. (2014) quienes mencionan que la kinetina no es un regulador de crecimiento eficiente para la producción de brotes en *H. megalanthus*.

Los mejores tratamientos para diámetro de brote fueron T1, T2, T5, T6 y T9 con promedios de 2,70 mm a 2,30 mm mientras que los menores promedios 1,70 y 1,40 se obtuvieron con los tratamientos T7 y T8. Sunshine (2007) en Boca de dragón (*Antirrhinum majus* L) evidenció que el mayor porcentaje de brotes fue obtenido en

el medio suplementado con 2,0 mg/L^{-1} de AIA y 4,0 mg/L^{-1} de Kin, esto permite deducir que la combinación de ambos reguladores de crecimiento es más efectiva para lograr inducción de brotes.

Asimismo es indispensable mencionar que los resultados coinciden con los obtenidos por Baskaran y Jayabalan (2005) en relación, al efecto de la kinetina en el incremento de la formación de yemas múltiples. Algunos autores como Soltero et al. (2013), describen que la dominancia apical es frecuente en las cactáceas y para su micropropagación se requiere la adición de citoquininas al medio de cultivo, ellas inducen el desarrollo de brotes múltiples a partir de las areolas que contienen los meristemos axilares.

La interacción especie x segmento no mostró significancia en ninguna de las variables, mientras que en la interacción medio x segmento solo la variable número de brote mostró significancia (Tabla 7), siendo el tratamiento T22 el que obtuvo el mayor promedio en número de brote (11,50) mientras que los menores valores se observaron en los testigos, este comportamiento probablemente esté relacionado con la disponibilidad de auxinas/citoquininas en los medio de cultivo, asimilación y expresión del tejido como parte de su función. Ruiz-Obando (2009) observó que en los niveles de BAP el número de brotes de *H. undatus* fue mayor en la concentración de 2 mg/L^{-1}. La mayor cantidad de brotes/explante se obtuvo con una concentración de 2/0,5 mg/L^{-1} de BAP/AIA. La interacción de auxinas y citocininas potenció el número de areolas activas que desarrollaron en un nuevo brote. El BAP en concentración superior a 2 mg/L^{-1} tuvo un efecto inhibidor en el número de nuevos brotes.

En términos generales, a pesar de que en la variable longitud del brote no hubo significancia estadística en ninguna de las interacciones dobles, los tratamientos testigos demostraron valores moderados en comparación al efecto de los medios con reguladores de crecimiento, esto se deberia a que el desplazamiento de agua y solutos como los reguladores de crecimiento se debió bloquear (potencial osmótico) al momento de su asimilación y evitó su expresión.

Tabla 7. Efecto de las interacciones dobles (especie x medio), (especie x segmento), (medio x segmento) sobre el número de brotes, longitud de brotes, diámetro de brotes, en tres especies de pitahaya multiplicadas *in vitro*.

Especie	Medio	Tratamiento	Número de Brote	Longitud de brote (cm)	Diámetro de brote (mm)
	M1	T1	12,00 ± 1,1 b	1,00 ± 0,1	2,70 ± 0,4 a
H. *megalanthus*	M2	T2	18,70 ± 1,9 a	1,60 ± 0,2	2,30 ± 0,2 a
	M3 (testigo)	T3	2,60 ± 0,3 d	1,90 ± 0,1	1,60 ± 0,2 b
	M1	T4	3,70 ± 0,3 d	0,60 ± 0,1	1,60 ± 0,2 b
H. *undatus*	M2	T5	2,20 ± 0,3 d	1,40 ± 0,2	2,30 ± 0,2 a
	M3 (testigo)	T6	2,20 ± 0,5 d	2,20 ± 0,3	2,60 ± 0,3 a
	M1	T7	8,30 ± 0,8 c	0,70 ± 0,1	1,70 ± 0,2 b
H. *purpusii*	M2	T8	6,30 ± 1,1 c	0,90 ± 0,1	1,40 ± 0,2 b
	M3 (testigo)	T9	2,40 ± 0,3 d	2,10 ± 0,4	2,70 ± 0,2 a
Especie	**Segmento**	**Tratamiento**	**Número de Brote**	**Longitud de brote (cm)**	**Diámetro de brote (mm)**
	(S1)	T10	13,30 ± 3,4	1,60 ± 0,3	2,10 ± 0,3
H. *megalanthus*	(S2)	T11	9,70 ± 2,3	1,40 ± 0,2	2,30 ± 0,3
	(S3)	T12	10,20 ± 1,9	1,40 ± 0,1	2,10 ± 0,3
	(S1)	T13	2,90 ± 0,5	1,30 ± 0,3	1,90 ± 0,3
H. *undatus*	(S2)	T14	2,60 ± 0,4	1,60 ± 0,4	2,60 ± 0,3
	(S3)	T15	2,70 ± 0,5	1,20 ± 0,2	2,00 ± 0,3
	(S1)	T16	6,60 ± 1,2	1,20 ± 0,2	2,00 ± 0,3
H. *purpusii*	(S2)	T17	5,60 ± 0,9	1,10 ± 0,3	1,60 ± 0,2
	(S3)	T18	5,00 ± 1,4	1,30 ± 0,4	2,20 ± 0,3
Medio	**Segmento**	**Tratamiento**	**Número de brote**	**Longitud de brote (cm)**	**Diámetro de brote (mm)**
	(S1)	T19	8,78 ± 1,5 b	0,80 ± 1,3	1,90 ± 0,3
M1	(S2)	T20	6,44 ± 1,3 c	0,75 ± 1,3	2,00 ± 0,3
	(S3)	T21	8,78 ± 1,4 b	0,78 ± 1,3	2,00 ± 0,3
	(S1)	T22	11,50 ± 2,8 a	1,49 ± 0,2	2,00 ± 0,2
M2	(S2)	T23	9,20 ± 2,6 b	1,30 ± 0,2	2,10 ± 0,2
	(S3)	T24	6,44 ± 2,5 c	1,20 ± 0,2	2,00 ± 0,2
	(S1)	T25	2,44 ± 0,4 d	2,00 ± 0,2	2,30 ± 0,3
M3 (testigo)	(S2)	T26	2,10 ± 0,4 d	2,10 ± 0,3	2,20 ± 0,3
	(S3)	T27	2,65 ± 0,4 d	2,10 ± 0,3	2,30 ± 0,3
ANOVA					
Especie*Medio			0,0001	0,0871	0,0001
Especie*Segmento			0,1869	0,3679	0,1358
Medio* Segmento			0,0017	0,601	0,5292

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)

Media ± error estándar de la muestra.

En análisis de varianza realizado sobre los efectos simples de los factores en estudio, mostró significancia estadística (P≥0,05) en la variable número de brote, en especie y segmentos, mientras que para los medios se presentó significancia en número de brotes y diámetro de brotes (Tabla 8). *H. megalanthus* obtuvo mayor número de brotes (11,10) mientras que las especies *H. undatus* e *H. purpusii*, obtuvieron 2,70 y 5,70 respectivamente. Criollo et al. (2016) obtuvieron un promedio de brotes por explante de 11,6 en tomate de árbol (*Solanum betaceum* (Cav.) Sendt. con aplicaciones de AIA 0,5 mg/L^{-1} + BAP 3,0 mg/L^{-1}.

Por otro lado, Gutierrez-Rosati (2019) obtuvo el máximo número de brotes con 3,0 ppm de BAP + 0,2 ppm de ANA en *Vitis vinífera*. Ojeda et al. (2012), ellos señalan que uno de los métodos más empleados en la micropropagación de cactáceas, es la utilización de brotes combinados con citoquininas en los medios de cultivos. En concordancia a lo anteriormente expuesto, Carranza et al. (2013) menciona que la caoba responde eficientemente al uso de BAP con 2 mg/L^{-1}, es posible obtener porcentajes de 70% brotación de explantes, además también se obtiene mayor longitud de brotes en medio MS.

Para número de brotes, los promedios más altos se obtuvieron con los medios de cultivo M1 y M2 con 8,00 y 9,10 brotes respectivamente, mientras que el medio testigo (M3) obtuvo un promedio de 2,40 brotes. En términos generales, a pesar de que en el diámetro del brote y longitud del brote no hubo significancia estadística, el testigo (M3) mostró mejores valores. Trivellini, et al. (2020) en pitahaya amarilla obtuvieron el promedio más alto de brotes por explante en el medio compuesto por 4,0 mg/L^{-1} de BAP. Se encontró que el coeficiente de multiplicación promedio fue 3,34.

Suman, Rani & Reddy (2017) obtuvieron el número máximo de brotes (16 ± 0,82) y longitud de los brotes (3,3 ± 0,17 cm) en MS + 3 mg/L^{-1} BAP + 1 mg/L^{-1} Kin y 40 mg/L^{-1} de sacarosa dentro de los primeros 25 días del ensayo. Lema y Kulus, (2014) señalan que la combinación adecuada de auxinas y citoquininas bajo condiciones apropiadas se utilizan para romper la latencia de las yemas y aumentar la formación de brotes en cactus.

Con el segmento apical (S1) se logró obtener la mayor cantidad de brotes promedio (7,60) en comparación con el segmento central (S2) y basal (S3) con 5,90 y 6,00 respectivamente (Tabla 8). Zeledón y Arauz (2020) obtuvieron en *Hylocereus undatus* un promedio de 9,35 cladodios en tratamiento que contenía cantidades de 1 mg/L^{-1} de 6-BAP y 1 mg/L^{-1} de AIA. Estos resultados superan a los obtenidos por Zambrano et al. (2015) en pitahaya amarilla con espinas en el fruto, que agregando 1 mg/L^{-1} 6-BAP logró el mejor resultado con 5,30 cladodios.

Tabla 8. Efecto simple de los factores especie, medios y segmentos sobre el número de brotes, longitud del brote y diámetro del brote en tres especies de pitahaya multiplicadas *in vitro*.

Especie	**Número de brote**	**Longitud de brote (cm)**	**Diámetro de brote (mm)**
H. megalanthus	11,10 ± 1,5 a	1,50 ± 0,1	2,20 ± 0,2
H. undatus	2,70 ± 0,3 c	1,40 ± 0,2	2,10 ± 0,2
H. purpusii	5,70 ± 0,7 b	1,20 ± 0,2	1,90 ± 0,2
Medios	**Número de brote**	**Longitud de brote (cm)**	**Diámetro de brote (mm)**
M1	8,00 ± 0,8 a	0,80 ± 0,1 c	2,00 ± 0,2
M2	9,10 ± 1,5 a	1,30 ± 0,1 b	2,00 ± 0,1
M3	2,40 ± 0,2 b	2,00 ± 0,2 a	2,20 ± 0,2
Segmento	**Número de brote**	**Longitud de brote (cm)**	**Diámetro de brote (mm)**
S1	7,60 ± 1,4 a	1,40 ± 0,1	2,00 ± 0,2
S2	5,90 ± 1,0 b	1,40 ± 0,2	2,10 ± 0,2
S3	6,00 ± 1,0 b	1,30 ± 0,2	2,10 ± 0,2
ANOVA			
Especie	0,0001	0,2716	0,4142
Medios	0,0001	0,3457	0,0001
Segmento	0,0127	0,811	0,7638

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)

Media ± error estándar de la muestra.

5.3. Enraizamiento *in vitro*

En el análisis de varianza realizado para la interacción especie x segmento x medio, mostró significancia estadística (P≥0,05) en longitud de raíces (Tabla 9). Sin embargo, los mejores promedios se encontraban entre 5,98 cm y 10,94 cm en catorce tratamientos. En términos generales hubo varios tratamientos con excelentes promedios (Tabla 9).

Zambrano et al. (2015) mencionan que, en pitahaya amarilla con espinas para lograr un mayor número de raíces, es necesaria la adición combinada de 1 mg/L^{-1} de kinetina con 0,3 mg/L^{-1} de AIA obteniendo una media de 5,20 raíces. Por otro lado, Viñas, Fernández-Brenes, Azofeifa, & Jiménez, (2012) en micropropagación *in vitro* de *Hylocereus costaricensis* determinaron que el número máximo de raíces por plántula (3,63) y el brote más largo (9,32) se produjo en el medio suplementado con 0,3 µM de NAA seguido de 0,5 µM de NAA. Taiz & Zeiger (2006), mencionan que el AIB es la auxina que más se utiliza en la estimulación del enraizamiento, ya que este fitorregulador es activo pese a que se metaboliza con rapidez, debido a liberación gradual adecuada especialmente en las etapas finales de la formación de la raíz.

Cabe resaltar que en los trabajos de Huang (2002), Drew et al. (2002), Pelah et al. (2002) y Zhao et al. (2005) el enraizamiento se logró empleando como agente enraizador el ácido indolbutírico. Torres (2015) menciona que en estacas de pitahaya (*H. undatus*) la combinación de ANA + AIB, presentó significancia estadística ($p< 0.05$) para número de raíces, sugiere que la adición de auxinas y citoquininas sintéticas, tienen una mayor efectividad frente a las otras auxinas como AIA. Latsague (2008) por su lado recomienda que para obtener una mejor longitud de raíces es aconsejable la aplicación exógena de auxinas en cantidades bajas para obtener una respuesta eficaz.

Tabla 9. Efecto de la interacción triple (especie x segmento x medio) sobre el número de raíces y longitud de raíces en tres especies de pitahayas enraizadas *in vitro*.

Especie	Segmento	Medio	Tratamiento	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
H. megalanthus (E1)	Apical (S1)	M1	T1	2,80 ± 1,0	4,10 ± 1,2 b
		M2	T2	4,00 ± 0,7	4,40 ± 1,2 b
		M3 (testigo)	T3	3,00 ± 0,5	8,26 ± 1,1 a
	Central (S2)	M1	T4	1,40 ± 1,1	4,10 ± 1,2 b
		M2	T5	4,00 ± 0,7	4,35 ± 1,2 b
		M3 (testigo)	T6	3,80 ± 0,5	7,26 ± 1,2 a
	Basal (S3)	M1	T7	2,00 ± 1,1	4,80 ± 1,2 b
		M2	T8	3,60 ± 0,7	4,60 ± 1,1 b
		M3 (testigo)	T9	4,00 ± 0,5	8,34 ± 1,1 a
H. undatus (E2)	Apical (S1)	M1	T10	6,60 ± 1,1	8,00 ± 1,2 a
		M2	T11	3,00 ± 0,8	8,88 ± 1,3 a
		M3 (testigo)	T12	2,20 ± 0,7	5,20 ± 1,2 b
	Central (S2)	M1	T13	7,20 ± 1,1	8,80 ± 1,1 a
		M2	T14	4,60 ± 0,8	5,98 ± 1,3 a
		M3 (testigo)	T15	2,60 ± 0,7	5,50 ± 1,3 b
	Basal (S3)	M1	T16	7,20 ±1,1	7,94 ± 1,2 a
		M2	T17	3,60 ± 0,8	10,94 ± 1,3 a
		M3 (testigo)	T18	3,00 ± 0,7	5,30 ± 1,2 b
H. purpusii (E3)	Apical (S1)	M1	T19	7,20 ± 1,1	4,88 ± 1,1 b
		M2	T20	2,40 ± 1,0	6,44 ± 1,1 a
		M3 (testigo)	T21	2,40 ± 0,9	5,20 ± 1,1 b
	Central (S2)	M1	T22	9,60 ± 1,2	4,60 ± 1,1 b
		M2	T23	4,20 ± 1,0	9,42 ± 1,2 a
		M3 (testigo)	T24	3,80 ± 0,9	7,42 ± 1,1 a
	Basal (S3)	M1	T25	10,00 ± 1,2	9,40 ± 1,1 a
		M2	T26	6,00 ± 1,0	6,12 ± 1,2 a
		M3 (testigo)	T27	4,20 ± 0,9	5,20 ± 1,1 b
ANOVA					
Especie*Segmento*Medios				0,8216	0,004

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)
Media ± error estándar de la muestra.

En el análisis de varianza realizado para la interacción especie x medio, mostró significancia estadística (P≥0,05) en ambas variables (Tabla 10). Obteniendo los mayores valores con promedios entre 8,60 y 6,20 en los tratamientos T3, T4, T5, T7 y T8, en número de raíces. Orea & Medrano (2007) sugieren que la combinación de 0,3 mg/L^{-1} AIB + 0,5 mg/L^{-1} ANA en ½ MS era la más eficiente para inducción de raíces sanas.

En longitud de raíces, el tratamiento T7 obtuvo el mejor promedio con 8,90 cm. Sin embargo, las combinaciones con explantes de *H. undatus* e *H. purpusii* en el medio (M1) presentaron los mejores valores en ambas variables. Martínez & Martínez (2019) con la adición de 0,25 y 0,50 mg/L^{-1} de AIA en las variables número de raíces y longitud de raíces obtuvieron buenos resultados.

En la interacción especie x segmento, en número de raíces mostraron los mejores promedios que varían entre 7,20 y 6,20 los tratamientos T13, T15, T17 y T18, en la interacción medio x segmento de acuerdo, a los resultados obtenidos para la variable número de raíces los mejores promedios se situaban entre 6,40 y 6,00 en los tratamientos T21, T22, T23 y T24. Sin embargo, el medio M2 con sus tres segmentos (S1, S2 y S3) demostraron los mejores resultados (Tabla 10) este comportamiento se atribuye a que el regulador de crecimiento agregado y su dosificación en la especie *H. purpusii* fue óptima y que esta respuesta no depende de la segmentación del explante.

Tabla 10. Efecto de las interacciones dobles (especie x medio), (especie x segmento), (medio x segmento) sobre el número de raíces y longitud de raíces en tres especies de pitahaya enraizadas *in vitro*.

Especie	Medio	Tratamiento	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
H. megalanthus	M1	T1	2,70 ± 0,5 c	2,10 ± 0,3 d
	M2	T2	2,70 ± 0,5 c	3,50 ± 0,9 c
	M3 (testigo)	T3	7,60 ± 1,3 a	3,60 ± 0,4 c
H. undatus	M1	T4	8,20 ± 1,1 a	6,90 ± 0,8 b
	M2	T5	8,60 ± 1,0 a	3,70 ± 0,6 c
	M3 (testigo)	T6	2,10 ± 0,4 c	2,60 ± 0,3 d
H. purpusii	M1	T7	6,20 ± 1,0 a	8,90 ± 0,9 a
	M2	T8	7,30 ± 1,1 a	4,20 ± 1,0 c
	M3 (testigo)	T9	5,00 ± 0,9 b	3,50 ± 0,5 c
Especie	**Segmento**	**Tratamiento**	**Número de raíces**	**Longitud de raíces (cm)**
H. megalanthus	S1	T10	4,50 ± 1,2 b	3,30 ± 0,6
	S2	T11	3,70 ± 1,0 b	2,70 ± 0,6
	S3	T12	5,20 ± 1,2 b	3,20 ± 0,5
H. undatus	S1	T13	6,20 ± 1,4 a	3,90 ± 0,9
	S2	T14	5,50 ± 1,2 b	4,70 ± 0,8
	S3	T15	7,20 ± 1,3 a	4,60 ± 0,9
H. purpusii	S1	T16	5,10 ± 0,8 b	4,00 ± 0,9
	S2	T17	7,00 ± 1,1 a	5,70 ± 1,1
	S3	T18	6,40 ± 1,1 a	6,70 ± 1,3

Medio	Segmento	Tratamiento	Número de raíces	Longitud de raíces (cm)
M1	(S1)	T19	5,60 ± 1,2 b	5,50 ± 1,1
	(S2)	T20	5,60 ± 1,2 b	6,00 ± 1,2
	(S3)	T21	6,00 ± 1,2 a	6,40 ± 1,3
M2	(S1)	T22	6,20 ± 1,2 a	3,13 ± 0,7
	(S2)	T23	6,10 ± 1,3 a	3,90 ± 0,7
	(S3)	T24	6,40 ± 1,2 a	4,00 ± 0,8
M3 (testigo)	(S1)	T25	4,50 ± 1,1 c	2,53 ± 0,4
	(S2)	T26	4,90 ± 1,2 c	3,40 ± 0,4
	(S3)	T27	4,50 ± 1,1 c	3,73 ± 0,4
ANOVA				
Especie* Medio			0,0001	0,0001
Especie* Segmento			0,0416	0,194
Medio* Segmento			0,0017	0,9921

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)
Media ± error estándar de la muestra.

Sydney et al. (2000) determinaron que 1 mg/L^{-1} de AIB es apropiado para la fase de enraizamiento *in vitro* de *Limonium latifolium* (KUNTZE) y Huang et al. (2000) reportaron en *Limonium wrightii* (Hance) Ktze, que el enraizamiento *in vitro* de brotes adventicios se logró exitosamente con AIB a 1,2 mg/L^{-1}. El Finti et al. (2010) estudiaron la micropropagación *in vitro* de *Opuntia ficus-indica* y observó enraizamiento tanto en medios que contienen reguladores de crecimiento como en medios sin reguladores, detectando el 100% de enraizamiento en todos los medios, y la mejor formación de raíces en medio que contenían ácido indolbutírico (AIB) y ácido indolacético (AIA).

En el análisis de varianza realizado sobre los efectos simples de los factores en estudio, en especie se mostró significancia estadística (P≥0,05) para ambas variables (Tabla 11). La especie *H purpusii* obtuvo el mejor promedio en número de raíces (5,50) mientras que las especies *H. megalanthus* e *H. undatus*, obtuvieron (3,10 y 4,40) respectivamente, por otro lado, en longitud de raíces las especies *H. undatus* e *H. purpusii* obtuvieron los mejores promedios entre 6,30 cm y 6,20 cm respectivamente, mientras que la especie *H. megalanthus* obtuvo un menor promedio con 4,50 cm. Sin embargo, la especie *H. purpusii* obtuvo los mejores promedios para ambas variables.

En el factor (medio), se mostró significancia estadística en número de raíces, mostrando que los medios M2 y M3 obtuvieron los mejores promedios 4,40 y 4,80 respectivamente, mientras que el menor promedio (3,70) fue para el medio M1. El segmento apical (S1) fue superior con un promedio de 6,00 raíces (Tabla 11).

Zeledón & Arauz (2020) mediante la micropropagación de pitahaya amarilla, en números de raíces encontraron diferencias estadísticas significativas que favorecieron a los tratamientos que se adicionaron 0,50-0,75 y 1 mg/L^{-1} de AIA con medias respectivas de 11,16-10,00 y 10,36

Martínez & Martínez (2019) demostraron en la propagación *in vitro* de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) que las variables número de brotes y número de raíces no presentaron diferencias entre los tratamientos con 0,50-0,75 y 1 mg/L^{-1} de AIA. La síntesis de auxina ocurre en el ápice de la planta y presenta un movimiento unidireccional en los tejidos parenquimatosos hacia el ápice de la raíz (Taiz y Zeiger, 2013).

Tabla 11. Efecto de las interacciones simples (especie, medios y segmento) sobre el número de raíces y longitud de raíces en tres especies de pitahaya enraizadas *in vitro*.

Especie	**Número de Raíces**	**Longitud de raíces (cm)**
H. megalanthus	3,10 ± 0,3 c	4,50 ± 0,7 b
H. undatus	4,40 ± 0,5 b	6,30 ± 0,8 a
H. purpusii	5,50 ± 0,7 a	6,20 ± 0,6 a
Medios	**Número de Raíces**	**Longitud de raíces (cm)**
M1	3,70 ± 0,5 b	5,30 ± 0,7
M2	4,40 ± 0,5 a	5,40 ± 0,7
M3	4,80 ± 0,6 a	6,30 ± 0,7
Segmento	**Número de Raíces**	**Longitud de raíces (cm)**
S1	6,00 ± 0,7	5,70 ± 0,7
S2	3,80 ± 0,4	6,20 ± 0,7
S3	3,20 ± 0,2	5,00 ± 0,7
ANOVA		
Especie	0,0001	0,0013
Medios	0,0001	0,0745
Segmento	0,0241	0,1232

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)
Media ± error estándar de la muestra.

5.4. Aclimatación *ex vitro*

En la variable presencia y ausencia de raíces, todas las plántulas a las cuatro semanas después del trasplante (DDT) presentaban sistema radicular.

El análisis de varianza realizado para la interacción especie x segmento x medio, no mostró significancia estadística (P≥0,05) en ninguna de las variables (Tabla 12). Sin embargo, con el tratamiento T24 se obtuvieron los mejores resultados en porcentaje de sobrevivencia (100%) y longitud del brote (11,64 cm). En términos generales la mayoría de los tratamientos con testigo, obtuvieron los mejores valores (Tabla 12).

Tabla 12. Efecto de la interacción triple (especie x segmento x medio) sobre el porcentaje de sobrevivencia y longitud del brote en tres especies de pitahaya aclimatadas *ex vitro*.

Especie	Segmento	Medio	Tratamiento	Porcentaje de sobrevivencia	Longitud del brote (cm)
H. megalanthus (E1)	Apical (S1)	M1	T1	68,00 ± 4,3	3,46 ± 1,0
		M2	T2	78,00 ± 2,5	9,52 ± 1,1
		M3 (testigo)	T3	96,00 ± 2,0	10,10 ± 1,2
	Central (S2)	M1	T4	68,00 ± 4,3	2,80 ± 1,0
		M2	T5	72,00 ± 2,5	9,34 ± 1,0
		M3 (testigo)	T6	94,00 ± 1,8	8,72 ± 1,9
	Basal (S3)	M1	T7	66,00 ± 4,5	2,50 ± 1,0
		M2	T8	74,00 ± 2,5	10,20 ± 1,0
		M3 (testigo)	T9	96,00 ± 1,9	8,38 ± 1,2
H. undatus (E2)	Apical (S1)	M1	T10	100,00 ± 3,9	5,40 ± 0,7
		M2	T11	100,00 ± 2,8	7,68 ± 0,9
		M3 (testigo)	T12	100,00 ± 2,0	4,34 ± 1,1
	Central (S2)	M1	T13	92,00 ± 4,0	5,50 ± 0,7
		M2	T14	84,00 ± 3,0	9,16 ± 0,9
		M3 (testigo)	T15	86,00 ± 1,9	4,62 ± 1,1
	Basal (S3)	M1	T16	94,00 ± 4,0	5,50 ± 0,7
		M2	T17	96,00 ± 2,9	6,70 ± 0,9
		M3 (testigo)	T18	88,00 ± 1,9	4,92 ± 1,1
H. purpusii		M1	T19	90,00 ± 3,8	4,04 ± 0,9

(E3)	Apical (S1)	M2	T20	90,00 ± 2,8	5,30 ± 0,9
		M3 (testigo)	T21	96,80 ± 1,8	9,68 ± 1,1
		M1	T22	100,00 ± 3,2	4,84 ± 0,9
	Central (S2)	M2	T23	100,00 ± 2,9	6,18 ± 0,9
		M3 (testigo)	T24	100,00 ± 1,7	11,64 ± 1,1
		M1	T25	94,00 ± 2,5	7,30 ± 0,9
	Basal (S3)	M2	T26	100,00 ± 2,8	8,60 ± 0,9
		M3 (testigo)	T27	98,00 ± 1,8	11,50 ± 1,1
ANOVA					
Especie*Segmento*Medio				0,6852	0,3731

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)

Media ± error estándar de la muestra.

En el análisis de varianza realizado para la interacción especie x medio, mostró significancia estadística (P≥0,05) en ambas variables (Tabla 13). En porcentaje de sobrevivencia se obtuvo valores promedios entre 91,30 % y 98,00 % para los tratamientos T3, T4, T5, T6, T7, T8 y T9. En longitud de brote, los mejores tratamientos fueron T2, T3 y T9 con promedios entre 9,20 y 10,90 cm. Sin embargo, las combinaciones de con explantes de *H. purpusii* con el medio testigo (M3) presentaron los mejores valores en ambas variables.

En la interacción especie x segmento los tratamientos T13, T15, T16, T17 y T18, mostraron los mejores promedios en porcentaje de sobrevivencia que varían entre 92,00 % y 100 % mientras que en longitud de brote los mejores tratamientos fueron los tratamientos T10, T17 y T18 con promedios entre 7,60 cm y 9,10 cm y en la interacción medio x segmento no hubo significancia estadística (Tabla 13). En términos generales las combinaciones de *H. purpusii* con M3 (testigo) presentaron los mejores valores en todas las variables

De acuerdo con Jieming, et al. (2017), la formulación óptima del medio MS suplementado con 5,5 mg/L^{-1} 6-BA y 0,10 mg/L^{-1} NAA proporciona una regeneración de brotes abundante, mientras que Martínez-Montiel, et al. (2011) demostraron que la mayor altura del brote (22,3 cm), se consiguió a los 35 días después del trasplante de cereza del Perú (*Physalis peruviana*). Según Pérez Molphe-Balch y Dávila Figueroa (2002), los porcentajes de sobrevivencia de los explantes generados *in vitro* para diferentes especies de cactáceas varían de 50 a 100%.

Tabla 13. Efecto de las interacciones dobles (especie x medio), (especie x segmento), (medio x segmento) sobre el porcentaje de sobrevivencia y longitud del brote en tres especies de pitahaya aclimatadas *ex vitro*.

Especie	Medio	Tratamiento	Porcentaje de sobrevivencia	Longitud de brote (cm)
H. megalanthus	M1	T1	67,30 ± 2,3 c	3,00 ± 0,4 d
	M2	T2	74,70 ± 10,4 b	9,70 ± 1,3 a
	M3 (testigo)	T3	94,40 ± 2,1 a	9,20 ± 0,5 a
H. undatus	M1	T4	95,30 ± 1,7 a	5,50 ± 0,5 d
	M2	T5	93,30 ± 3,3 a	7,90 ± 0,4 b
	M3 (testigo)	T6	91,30 ± 3,1 a	4,60 ± 0,9 d
H. purpusii	M1	T7	94,70 ± 2,1 a	5,40 ± 0,5 d
	M2	T8	96,70 ± 2,1 a	6,70 ± 0,6 c
	M3 (testigo)	T9	98,00 ± 1,4 a	10,9 ± 0,6 a
Especie	**Segmento**	**Tratamiento**	**Porcentaje de sobrevivencia**	**Longitud del brote (cm)**
H. megalanthus	S1	T10	80,70 ± 4,4 b	7,90 ± 1,5 a
	S2	T11	78,00 ± 4,4 c	7,00 ± 1,1 b
	S3	T12	78,70 ± 4,9 c	7,00 ± 1,2 b
H. undatus	S1	T13	100,00 ± 0,0 a	5,80 ± 0,7 b
	S2	T14	87,30 ± 2,7 b	6,40 ± 1,0 b
	S3	T15	92,70 ± 2,7 a	5,70 ± 0,6 b
H. purpusii	S1	T16	92,00 ± 2,3 a	6,40 ± 0,9 b
	S2	T17	100,00 ± 0,0 a	7,60 ± 1,1 a
	S3	T18	97,30 ± 1,5 a	9,10 ± 0,7 a
Medio	**Segmento**	**Tratamiento**	**Porcentaje de sobrevivencia**	**Longitud del brote (cm)**
M1	(S1)	T19	86,00 ± 4,8	4,50 ± 0,6
	(S2)	T20	86,67 ± 4,8	4,60 ± 0,6
	(S3)	T21	85,50 ± 4,8	4,70 ± 0,6
M2	(S1)	T22	88,50 ± 3,9	8,00 ± 0,9
	(S2)	T23	87,50 ± 4,1	8,10 ± 0,9
	(S3)	T24	88,70 ± 4,2	8,20 ± 0,8
M3 (testigo)	(S1)	T25	95,70 ± 2,2	8,30 ± 1,1
	(S2)	T26	94,50 ± 2,5	8,30 ± 1,2
	(S3)	T27	94,50 ± 2,4	8,30 ± 1,2
ANOVA				
Especie* Medio			0,0001	0,0001
Especie* Segmento			0,0001	0,0019
Medio* Segmento			0,1665	0,8

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)

Media ± error estándar de la muestra.

Por otro lado, Díaz-Lezcano et al. (2016) mencionan que durante el proceso de aclimatación observaron una supervivencia del 100% de los explantes de banana (*Musa* spp.), recalcando que en el momento en que se extraen los explantes, están poco adaptados a crecer en un invernadero, ya que éstos han enraizado y crecido en ambientes con una humedad relativa muy elevada y generalmente tienen estomas que no son completamente funcionales frente a descensos de la humedad relativa, y por lo tanto demasiado lentos para evitar la desecación del explante.

Mizrahi & Nerd (1999) y Nerd et al. (2002) sugieren que el cultivo protegido con malla sombra, es una buena opción para la aclimatación de plantas fuera de la cámara bioclimática porque mejora su desarrollo radicular en plántulas *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* "violeta africana''.

En análisis de varianza realizado para la interacción simple (especie) y (medios), mostró significancia estadística ($P \geq 0,05$) en porcentaje de sobrevivencia y longitud del brote, mientras que en (segmento) no mostró significancia (Tabla 14). En porcentaje de sobrevivencia la especie *H. purpusii* obtuvo mayor promedio (96,40 %), mientras que las especies *H. megalanthus* e *H. undatus* mostraron 79,10 % y 93,30 % respectivamente. En longitud del brote las especies *H. megalanthus* e *H. purpusii* obtuvieron los mejores promedios 7,30 cm y 7,70 cm respectivamente, mientras que la especie *H. undatus* obtuvo un promedio de 6,00 cm.

En la interacción (medios) en porcentaje de sobrevivencia el medio testigo (M3) obtuvo el mejor promedio (94,90 %) mientras que los medios M1 y M2 obtuvieron promedios de 85,80 % y 88,20 % respectivamente. En longitud de brote el medio M2 y M3 obtuvieron los mayores promedios 8,10 cm y 8,30 cm respectivamente mientras que el medio M1 obtuvo el menor promedio con 6,00 cm (Tabla 14). En términos generales las combinaciones de *H. purpusii* con el medio testigo (M3) presentaron los mejores valores en todas las variables. Este efecto positivo sobre esta especie en particular se debe principalmente a que las condiciones endógenas (contenido natural de hormona) y exógenas (ambiente y sustrato), fueron las óptimas, y que su potencial genético es de gran expresión, por la respuesta positiva que se observó en el establecimiento *in vitro*.

Según Balaraju et al. (2011) la combinación de suelo y vermicompostación (v/v 3: 1) resultó en una supervivencia de 80 % de las plántulas de *Azadirachta*

indica A. Juss después de 30 días de aclimatación. La supervivencia promedio fue 73 % en las plántulas *de Pterocarpus santalinus* L. durante la aclimatación, en una combinación de estiércol orgánico y arena (v/v 1: 1). No obstante González (2013), menciona que en altura de explantes de la especie *Rosa canina* se determinó que el tratamiento con 50 ppm de AIB presentó una altura mayor que los otros tratamientos, pero dada la baja sobrevivencia este valor no es representativo. De acuerdo con Martínez-Montiel, et al. (2011) la mejor altura del brote (10, 20 cm), se consiguió a los 35 días después del trasplante en (*Physalis peruviana* L.)

Para Viñas et al. (2012) la formulación óptima del medio MS suplementado con 5,5 mg/L^{-1} 6-BA y 0,10 mg/L^{-1} ANA proporcionó una regeneración de brotes abundante y de alto porcentaje, en este estudio de supervivencia observada de más del 75% de *Hylocereus costaricensis* obtenida mediante el cultivo *in vitro* en plántulas después de 60 días en invernadero. Los explantes cultivadas en medio libre de hormonas dieron como resultado 98,25% de supervivencia en la porción distal y 98% en la porción proximal.

Tabla 14. Efecto de las interacciones simples (especie, medios y segmentos) sobre el porcentaje de sobrevivencia y longitud del brote en tres especies de pitahaya aclimatadas *ex vitro*.

Especie	**Porcentaje de sobrevivencia**	**Longitud del brote (cm)**
H. megalanthus	79,10 ± 2,6 c	7,30 ± 0,7 a
H. undatus	93,30 ± 1,6 b	6,00 ± 0,5 b
H. purpusii	96,40 ± 1,1 a	7,70 ± 0,6 a
Medios	**Porcentaje de sobrevivencia**	**Longitud del brote (cm)**
M1	85,80 ± 2,8 b	4,60 ± 0,4 b
M2	88,20 ± 2,4 b	8,10 ± 0,5 a
M3	94,90 ± 1,3 a	8,30 ± 0,7 a
Segmento	**Porcentaje de sobrevivencia**	**Longitud del brote (cm)**
S1	90,90 ± 2,2	6,70 ± 0,6
S2	88,40 ± 2,4	7,00 ± 0,6
S3	89,60 ± 2,4	7,30 ± 0,6
ANOVA		
Especie	0,0001	0,0001
Medios	0,0001	0,0001

Segmento	0,1433	0,3334

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes (P > 0,05)

Media ± error estándar de la muestra.

En general, se obtuvieron porcentajes de sobrevivencia, similares a los alcanzados por Sánchez-Morán y Pérez- Molphe-Balch (2007), quienes lograron 86 % de aclimatación de plantas de Browningia candelaria. Este proceso de aclimatación resultó efectivo debido a que se logró un 100% de sobrevivencia y no se presentó el “shock” hídrico o de desecación que se presenta durante el primer día de aclimatación, que en algunas especies puede ser superado por la naturaleza suculenta del cuerpo de la plántula (Malda et al. 1999).

6. CONCLUSIONES

1. En el establecimiento *in vitro* las semillas de *H. purpusii* respondieron de manera óptima a la desinfección y siembra en el medio MS, presentando el mejor comportamiento con relación a la germinación y a la contaminación, en contraste con *Hylocereus megalanthus* e *H. undatus.*
2. La mejor respuesta de *Hylocereus megalanthus* en la multiplicación *in vitro* se logró con Kin 2 ppm + AIA 0,1 ppm, en *H. undatus* con BAP 3 ppm + AIA 1 ppm, mientras que en *H. purpusii* el comportamiento de las vitroplantulas fue variado.
3. En la fase de enraizamiento se determinó que el tratamiento T25, que contiene MS 50% en combinación con AIB al 0,1 ppm fue ideal para desarrollar el mayor de número y longitud de raíces.
4. En la aclimatación *ex vitro*, la supervivencia de *H. undatus* e *H. purpusii*, fue similar, las cuales obtuvieron los mayores valores en relación con *Hylocereus megalanthus*. Las diferencias observadas en estas especies, para la sobrevivencia y la longitud del brote fueron mínimas, sin embargo, el resultado de los patrones de crecimiento de cada materia vegetal, dio lugar a una expresión independiente durante la fase de aclimatación.

7. RECOMENDACIONES

1. Probar otros niveles de auxinas y citoquininas en materiales de pitahaya, en combinación con los tres tipos de segmentos tomando como base los resultados obtenidos en esta investigación.
2. Evaluar otras vías morfogenéticas con las especies de pitahayas estudiadas, especialmente con *H. purpusii*, que no había sido considerada en trabajos de multiplicación *in vitro*, sin embargo, ha mostrado un buen comportamiento *in vitro* y *ex vitro*, y serviría como aporte científico para la comunidad frutícola en futuras investigaciones.
3. Disponer de un banco de germoplasma con los materiales de pitahaya empleados y determinar su comportamiento en condiciones de campo.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrajim, A., Arciniegas, P., & Torres, J. (2014). Estudio de factibilidad para la exportación de pitahaya amarilla al mercado de Japón, como uno de los países líderes de la Cuenca del Pacífico. *Trabajo de Grado. Universidad del Rosario. Bogotá-Colombia.*, 92.

Albán, S. P., & Alencastri, A. D. (2015). Plan de exportación de pulpa de pitahaya al mercado de Berlín en Alemania a través del comercio justo. *Universidad Politécnica Salesiana Ecuador*.

Aliyu, B., & Mustapha, Y. (2007). Effect of different media on the *in vitro* growth of cactus (*Opuntia ficus-indica*) explants. *Afr J Biotechnol*, 1330-1331.

Alvarado- Capó, Y. (2015). *Mycosphaerella fijiensis* en presencia de filtrado de cultivo de *Bacillus pumilus* CCIBP-C5 Differential response of Musa plants inoculated with *Mycosphaerella fijiensis* in the presence. *Protección Vegetal*, 30, 4697.

Amin, A. A., Gharib, F. A., Abouziena, H. F., & Dawood, M. G. (2013). Role of indole-3-butyric acid or/and Putrescine in Improving Productivity of Chickpea (*Cicer arientinum* L.). *Plants. Pakistan J. Bio. Sc.*, 1894-1903.

Andrade, M. F. (2009). Pitahaya una delicia tropical. *Revista Ciencia*, 8.

Anwaar, A., Heng, Z., Wengling, W., & Sticklen, M. B. (2002). Shoot Apical Meristem: *In vitro* Regeneration and Morphogenesis in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant*, 163-167.

Araujo, J. (2008). Reconocimiento de patógenos asociados al cultivo de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* Haw.) en el departamento del Valle del Cauca. *Valledupar*, 148.

Balaraju, K., Agastian, P., Ignacimuthu, S., & Park, K. (2011). A rapid *in vitro* propagation of red sanders (*Pterocarpus santalinus* L.) using shoot tip explants. *Acta Physiol. Plant*, 2501-2510.

Banco Central del Ecuador. (2020). Cuestiones económicas.

Baskaran, P., & Jayabalan, N. (2005). A simple approach to improve plant regeneration from callus culture of *Sorghum bicolor* for crop improvement. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 1(1): 179-192.

Bewley, J. D. (1997). Seed germination and dormancy. *The Plant Cell*.

Bonner, J., & Bandurski, R. (1952). ‘‘Studies of the Physiology, Pharmacology, and Biochemistry of the Auxins’’. *Annual Review of Plant Physiology*, 59-86.

Bottini, R., Cassán, F., & Piccoli, P. (2004). Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl Microbiol Biotechnol*, 497–503.

Caetano-Nunez, D., Escobar, R., Caetano, C., & Vaca, J. (2014). Estandarización de un protocolo de regeneración en pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran). *Acta Agronómica*, 41-51.

Carranza, M., Reyes, H., Mora, W., Cevallos, O., Escobar, A., & Cadme, M. (2013). Propagación clonal *in vitro* de *Swietenia macrophylla* King.

Castillo, A. (2010). Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace tiempo. *INIA Las brujas*.

Castillo-Martinez, R., Livera-Muñoz, M., & Marquez-Guzman, G. (2005). Caracterización morfológica y compatibilidad sexual de cinco genotipos de pitahayas (*Hylocereus undatus*). *Agrociencia*, 183-194.

Corres, A. (2009). Efecto del fertirriego en la propagación sexual y asexual de la pitahaya (*Hylocereus undatus*) bajo cultivo sin suelo. *Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Investigación y Desarrollo Integral*, 115.

Crane, J., & Balerdi, B. (2005). The pitaya (*Hylocereus undatus* and other spp.). *University of Florida*, 2,9.

Criollo, E. H., Insuasti, K., & Delgado, W. (2016). Regeneración *in vitro* de plántulas de tomate de árbol *Solanum betaceum* (Cav.) Sendt. *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 252-261.

Cuellar-Chávez, L., Morales, R. E., & Treviño, N. J. (2006). La germinación *in vitro* una alternativa para obtener explantes en Cactáceas. *Zonas Áridas*, 10: 129-133.

Dallos, M., & Garcia, A. (2010). *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. Ex Vaupel). *Moran (Cactaceae)*, 31.

Debergh, P., & Zimmerman, R. (1991). Micropropagation Technology and Application. *Ed. Kluwer Academic Publishers*, 484.

Díaz-Lezcano, M. I., Flor-Benítez, B. A., Enciso-Garay, C. R., & González-Segnana, L. R. (2016). El carbón activado y las condiciones de oscuridad en la micropropagación de banana variedad Nanicão. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 18 (2):140.

Drew, R., & Azimi, M. (2002). Micropropagation of red pitahaya (*Hylocereus undatus*). *Acta Horticulture*, 93-98.

El Finti, A., El Boullani, R., Belayadi, M., Ait Aabd, N., & El Mousadik, A. (2010). Micropropagation *in vitro* of *Opuntia ficus-indica* in Southern Morocco. *International Congress on Cactus Pear and Cochineal 995*, 93-98.

Erazo Orbe, J. R., & Parra Mera, J. P. (2015). Proyecto de siembra y cosecha de pitahaya en San Juan del Morro. *Statewide Agricultural Land Use Baseline*.

Estrada-Luna A, J. M.-H.-T.-M. (2008). *In vitro* micropropagation of the ornamental prickly pear cactus *Opuntia lanigera* Salm-Dyck and effects of sprayed GA3 after transplantation to *ex vitro* conditions. *Sci Hortic*, 378-385.

FAO. (2020). Principales frutas tropicales - Análisis del mercado. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación.

Figueroa, S., & Mollinedo, O. (2017). Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* “pitahaya” e identificación

de los fitoconstituyentes. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. *Universidad Norbert Wiener, Lima. Perú*, 64.

George, E., Hall, M., & Klerk, G. (2008). Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors. *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*, 1–501.

Gil, A., López, S., & López, A. (2017). Aclimatación de plántulas *in vitro* de *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. (Gesneriaceae) "violeta africana'' a condiciones de invernadero. *Arnaldoa*.

Gómez, J. J. (2004). Reproducción *in vitro* del garambullo, *Myrtillocactus gometrizans* (Mart.) Console. *Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.*

González, L. P. (2013). Enraizamiento *in vitro* y *ex vitro* y aclimatación de *Rosa canina* L. *Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Agronomía*.

Gutierrez-Rosati, A., & Patrick, G. B. (2019). Reguladores de crecimiento en el cultivo *in vitro* de tres cultivares portainjertos de vid (*Vitis vinifera* L.) para su uso en la industria del pisco. *Centro de Investigación en Recursos Genéticos, Biotecnología y Bioseguridad*.

Huamán, X., Ruiz-Sánchez, M.-E., Guerrero-Abad, J. C., García, R. P., García, L., & Solís, R. (2012). Propagación *In Vitro* De Segmentos Nodales De Cedro (*Cedrela Odorata* L.) Obtenidos A Partir De Semillas Botánicas. *Universidad Nacional de San Martín- Tarapoto*.

Huang, Q. (2002). *In vitro* culture of the prism of *Hylocereus undatus. J. Agric. Sci. 17(3)*, 186 – 189.

ICA. (2012). Instituto Colombiano Agropecuario.

Infante, R. (1997). Micropropagation of *Mediocactus coccineus* S.D. Micropropagation of *Mammillaria species* (Cactaceae). *Biotechnology in agriculture and forestry*, 206-213.

Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá INCAP. (2012). Tabla de composición de alimentos de Centro América. *UINCAP*.

ITIS, R. (2013). Cactaceae. *Taxonomic Serial*.

IUCN. (2019). *The IUCN Red List of Threatened Species.* Gland, Suiza: Nature.

Jamilh, B., Shu, C., Kharidah, M., &. Dzulkifly, M. (2011). Physicochemical characteristics of red pitaya (*Hylocereus polirhizus*) peel. *International Food Research Journal*, 279-286.

Jieming, Qin., Yue, Wang., Gongxiu, He., Lili, Chen., Hanjie, He., Xuexiang, Cheng., Keqin, Xu., Dangquan, Zhang. (2017). High-efficiency Micropropagation of Dormant Buds in Spine Base of Red Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) for Industrial Breeding. *Journal Of Agriculture & Biology*, 193–198.

Jiménez-Esparza, L. O., González-Parra, M. M., Yanez-Yanes, Á. W., Cruz-Tobar, S. E., & Villacís-Aldaz, L. A. (2017). Características organolépticas de frutas de pitahaya amarilla (*Cereus triangularis* Haw.) bajo dos condiciones de almacenamiento. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 160-167.

Jiménez-Terry, F., & Agramonte, D. (2013). Cultivo in vitro y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagación de especies forestales. *Biotecnología Vegetal*, 13(1).

Latsague, V. M. (2008). Inducción de enraizamiento en estacas de *Berberidopsis corallina* con ácido indolbutírico. *BOSQUE* 29: 227-230.

Le Bellec, F., Vailant, F., & Imbert, E. (2006). Pitahaya (*Hylocereus* spp.). *Fruits*, 238-245.

Leifert, C., Morris, C. E., & Waites, W. M. (1994). Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reason for contamination problems *in vitro*. *Critical Reviews in Plant Sciences*, p. 139-183.

Lema, R. J., & Kulus, D. (2014). Micropropagation of cacti – A review. *Haseltonia*, 19 (19).

Leveau, J. H., & Lindow, S. E. (2005). ‘‘Utilization of the Plant Hormone Indole-3-Acetic Acid for Growth by *Pseudomonas putida* Strain 1290’’. *Applied and Environmental Microbiology*, 2365-2371.

Lim, T. (2012). *Hylocereus megalanthus*. Edible Medicinal and non-Medicinal Plants. *Springer*, 640-642.

Lopes, C. A., Dias, G. d., Silveira, F. A., Rodrigues, F. A., Pio, L. A., & Pasqual, M. (2017). Propagação *in vitro* de pitaia vermelha. *plant Cell Culture & Micropropagation., Lavras*, 21-27.

Lozano Kretzschmar, G. (2014). Propagación *in vitro* de café (*Coffea arabica*) variedad Lempira- a partir de meristemas. *Escuela Agrícola panamericana*.

Machakova, I., Zazimalova, E., & George, E. (2008). Plant Growth Regulators I: Introduction; Auxins, their Analogues and Inhibitors. *Springer. Dordrecht*, 175-204.

Malda, G., Suzán, H., & Backhaus, R. (1999). *In vitro* culture as a potential method for the conservation of endangered plants possessing crassulacean acid metabolism. *Scientia Horticulturae*, 71-87.

Manzanero-Acevedo, L. A. (2014). Conservación de la pitahaya [*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose] en el estado de Campeche, México. *Foresta Veracruzana*, 9-16.

Martínez, V. M., & Martínez, F. C. (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. *Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua*.

Martínez, V., & Rubluo, A. (1989). *In vitro* mass propagation of the nearextinct *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mejorada. *J.Hort. Sci.*, 61(1):99-105.

Martínez-Montiel, Oscar; Pastelín-Solano, Miriam Cristina; Ventura-Zapata, Elsa; Castañeda-Castro, Odón; González-Arnao, María Teresa; Guevara-Valencia, Marina; Luna-González, Alfonso; Díaz-Ramos, Carlos. (2011). Alargamiento y enraizamiento de vitroplantas de cereza del Perú. *Agrosistemas tropicales y subtropicales*, 537-542.

Medina, J., Roa, A., Kondo, T., & Toro, J. (2013). Generalidades del cultivo. Tecnología para el manejo de pitaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia. Palmira, Valle del Cauca. *CO. CORPOICA*, 8-18.

Medina-Mendoza. (2011). Elaboración de Mermelada y Néctar a Partir de la Pulpa de Pitahaya y Determinación de Capacidad Antioxidante por el Método DPPH (1,1 Difenil-2-Picril Hidrazila). *Universidad de Guayaquil*.

Merten, S. (2002). *A Review of Hylocereus Production in The United States.* New York: J.PACD.

Mizrahi, Y., & Nerd, A. (1999). Climbing and columnar cacti new arid lands fruit crops. En: J. Janick (Ed.), Perspectives in New Crops and New Uses. *ASHS Press, Alexandria, VA*, 358–366.

Monteiro Do Rêgo, M., Rodrigues - Araújo, E., Ramalho Do Rêgo, E., & Pereira De Castro, J. (2009). *In vitro* seed germination of mandacaru (*Cereus jamacaru* DC.). *Revista Caatinga*, 34-38.

Montesinos, J., Rodriguez, L., Ortiz, R., Fonseca, M., Ruíz, G., & Guevara, F. (2015). Pitahaya (*Hylocereus* spp,) un recurso fitogenético con historia y futuro para el trópico seco mexicano. *Redalyc. org*.

Montiel, L. (2017). Conservación *in vitro* de pitahaya (*Hylocereus* spp.) mediante el cultivo de mínimo crecimiento.

Morales, R. M. (2000). Inducción de germinación, crecimiento de plántula y cultivo *in vitro* de pitahaya *Hylocereus undatus* (Haworth) Britton y Rose. *Facultad de Ciencias Biológicas. UANL. México.*

Muñoz, V. (2014). Pitahaya, plagas, enfermedades y producción. *CEZA. Manejo de Pitahaya. Chile.*, 8.

Murashige, T. & Skoog. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*, 473-497.

Nerd, A., Tel-Zur, N., & Mizrahi, Y. (2002). Fruit of vine and columnar cacti. *P.S. Nobel (Ed.), Cacti: Biology and Uses. Univ. California Press, Berkeley.*, 185–197.

Nyffeler, R., & Eggli, U. (2010). A Farewell to Dated Ideas and Concepts: Molecular Phylogenetics and a Revised Suprageneric Classification of the Family Cactaceae. *Schumannia*, 109.

Ojeda, M., Vásquez, R., Santos, J., Moreno, G., Aguirre, V., Iracheta, L., López, P., Castellanos, M. (2012). Micropropagación de pitahaya, *Hylocereus undatus* (Haworth). *Revista Salud Pública y Nutrición*.

Ojeda-Zacarías, M. D., Rodríguez-Fuentes, H., Gutiérrez-Diéz, A. (2008). Micropropagación de cactáceas. Memorias VII Simposium-Taller Producción y aprovechamiento del nopal en el noreste de México. *Facultad de Agronomía, UANL. Nuevo León, México.*

Olmos, S., Luciani, G., & Galdeano, E. (2010). Micropropagación en especies leñosas. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. *Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina.*

Orea, C., & Medrano, A. (2007). Pitahaya (*Hylocereus undatus*) Acclimatization. *Pedagogical Model*.

Orrico, G. (2013). Respuesta de la Pitahaya amarilla (*Cereus triangularis* L.) a la aplicación complementaria de dos fertilizantes en tres dosis. Puerto Quito, Pichincha. Tesis de grado previo a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo. *Carrera de Ingeniería Agronómica. Quito. UCE*, 88.

Ortiz, H. Y., Livera, M. (1999). La pitahaya en la agrodiversidad. Seminario Internacional Sobre agrodiversidad campesina. *Toluca, Edo. de México.* 205-209.

Pelah, D., Kaushik, R., Mizrahi, Y., & Sitrit, Y. (2002). Organogenesis in the vine cactus *Selenicereus megalanthus* using Thidiazuron. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 81 – 84.

Pérez, J. (2004). Cultivo *in vitro* de plantas y sus aplicaciones en la agricultura. *Santa Cruz, Panamá: ARTE comunicación visual*.

Pérez, 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. *Universidad Autónoma De San Luis Potosí*.

Pérez-Molphe-Balch, E., & Dávila-Figueroa, C. (2002). Propagation in vitro of *Pelecyphora aselliformis* Ehrenberg and *P. strobiliformis* Werdermann (Cactaceae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant*, 73-78.

Pérez-Molphe-Balch, E., Dávila, F. C. A., Villalobos, A. E., Cañedo, O. B. O., Lizalde Viramontes, J.H., De la Rosa, C. M. L., Domínguez, R. M. S., Castro, G. I. A., Pérez-Reyes, E. M. (2008). Técnicas de cultivo de tejidos aplicados a la propagación y conservación de algunas especies forestales de las zonas semiáridas de México. *Mundi Prensa México*, 329-352.

Perween, T., Mandal, K., & Hasan, M. (2018). Dragon fruit: an exotic super future fruit of India. *J. Pharmacogn. Phytochem*, 7(2), 1022-1026.

Pierik, R. L. (1990). Cultivo *in vitro* de las Plantas Superiores. *Agricultural University Wageningen*, 29-36.

PROECUADOR. (2013). Guía comercial de Francia.

PROECUADOR. (2014). Instituto de promoción de exportaciones e inversiones.

Quiala, E. (2012). Efecto de la bencilaminopurina en la morfoanatomía y la fisiología de brotes de tectona grandis l. cultivados en sistemas de inmersión temporal. *Tesis de Grado*, 1-46.

Quiala, E.; Matos, J; Motalvo, G; De Feria, M; Chávez, M; Capote, A; Pérez, N; Barbón, R; Kowalski, B. (2009). *In vitro* propagation of *Pilosocereus robinii* (Lemaire) Byles et Rowley, endemic and endangered cactus. *Assoc Cactus Dev*, 18-25.

Rademacher, W. (2015). Plant Growth Regulators: Backgrounds and uses in plant production. *Springer Sciences & Business*, 845-872.

Remache, Y. L. (2011). Desarrollo de una técnica de micropropagación *in vitro* de cedro (*Cedrela montana*) a partir de ápices, hojas y entrenudos. *Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Recursos Naturales*, 10.

Rodríguez, M., Chacón, M., & Carrillo, R. (2014). Efecto de la concentración y de los componentes del medio de cultivo MS sobre la germinación *in vitro* de *Ugni molinae*. *Universidad Católica de Temuco* 35(1).

Rueda, D. (2015). Botánica sistemática. *Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE*. 10-15

Ruíz Obando, L. E. (2009). Estudio de medios de cultivo, explantes, frascos y sustratos en medio de pitahaya (*Hylocereus undatus* Britton et Rose) cv. Chocoya de Nicaragua en la fase de Micropropagación. *Universidad Nacional Agraria; Facultad de Agronomía*.

Ruvalcaba-Ruíz, D., Rojas-Bravo, D., & Valencia-Botín, A. J. (2010). Propagación *in vitro* de *Coryphantha retusa* (Britton y Rose) un cactus endémico y amenazado. Tropical and Subtropical Agroecosystems. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12: 139-143.

Sabinos, J. (2010). Relación con prácticas de manejo con la floración de la pitahaya (*Hylocereus undatus*). *Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral*.

Sánchez-Morán, M. R., & Pérez-Mophe-Balch, E. (2007). Propagación *in vitro* de *Browningia candelaria* (Cactaceae) usando metatopolina. *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas*, 16-18.

Santarrosa, V. (2013). Evaluación nutricional comparativa de pitahaya (*Hylocereus triangularis*) deshidratada en deshidratador de bandejas con liofilizada. . *Escuela superior Politécnica de Chimborazo*, 166.

Santner, A., Calderon-Villalobos, L., & Estelle, M. (2009). ‘‘Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth’’. *Nature chemical biology*, 301–307.

Sistema de Información Pública Agropecuaria. (2020). Datos nacionales de superficie plantada, cosechada y productiva de pitahaya en Ecuador.

Soltero, R., Portillo, L., & Santacruz, F. (2013). Manual de Biotecnología Vegetal (Segunda edición).

Stewart, C. (2008). Plant Biotechnology and Genetics: Principles, Techniques, and Applications. *University of Tennessee.*

Suaréz Román, R. S. (2011). Evaluación de métodos de propagación en pitahaya amarilla. Trabajo de grado para optar al título de Magíster en Ciencias Agrarias. *Fitomejoramiento, Colombia.*

Suárez-Román, R. S., Caetano, C. M., Ramírez, H., & Morales Osorio, J. G. (2014). Multiplication of *Selenicereus megalanthus* (yellow pitahaya) and *Hylocereus polyrhizus* by somatic organogenesis view. *Acta Agronómica*, 272-281.

Suman, K., Rani, A. R., & Reddy, P. V. (2017). Response of dragon fruit (*Hylocereus undatus*) explants on MS media with growth regulators under *in vitro* for mass multiplication. *Agric. Update*, 1-8.

Sunshine, C. (2007). Evaluación del ácido indolacético y la kinetina en la propagación *in vitro* de Boca de Dragón (*Antirrhinum majus* L.). *Rev. Fav. Agron. (LUZ). Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas del estado Lara (INIA Lara).*, 62-66.

Sydney, C., Rodrigues, L., & Kämpf, A. (2000). *In vitro* propagation of *Limonium latifolium* Kuntze (Plümbaginaceae). *Cienc. Rural. 30, 4.*

Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). Plant Physiology. *Sinahuer Associates*, 764.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2013). Fisiología vegetal. *Porto Alegre:Artemed*, 954.

Toro Yagual, Y. R. (2015). Plan de Negocios para la creación de una empresa exportadora de pitahaya hacia el mercado exterior del Ecuador. *Universidad de Guayaquil*.

Torres, E. (2015). Propagación asexual en Pitahaya (*Hylocereus undatus*) mediante estacas empleando enraizadores ANA y AIB en el cantón Quito. Tesis. *Universidad Técnica Estatal de Quevedo.*

Trivellini, Alice; Lucchesini, Mariella; Ferrante, Antonio; Massa, Daniele; Orlando, Matteo; Incrocci, Luca; Mensuali-Sodi, Anna. (2020). Pitaya, an Attractive Alternative Crop for Mediterranean Region. *Plant agronomy, Pisa Italy*.

Truskina, J., & Vernoux, T. (2018). The growth of a stable stationary structure: coordinating cell behavior and patterning at the shoot apical meristem. *Current opinion in plant biology*, 83-88.

Uribe, M., Ulloa, J., Delaveau, C., Sáez, K., Muñoz, F., & Cartes, P. (2012). Influencia de las auxinas sobre el enraizamiento *in vitro* de microtallos de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. *Gayana Bot.*, 105-112.

Vaughan, J., Geissler, C., Nicholson, B., Dowle, E., & Rice, E. (2009). Nex Oxford Book of Food Plants.

Veliz, R. (2017). Hormonas ANA y AIB para la propagacion asexual en esquejes de la pitahaya roja (*Hylocereos undatus*). *UTEQ*.

Vergara, L. (2018). "La producción y exportación de pitahaya como alternativa de desarrollo del cantón Palora, provincia de Morona Santiago". *Universidad De Guayaquil*, 36.

Viñas, M., Fernández-Brenes, M., Azofeifa, A., & Jiménez, V. (2012). *In vitro* propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis* [F. A. C. Weber] Britton & Rose). *In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 469-477.

Yong, J., Ge, L., Ng, Y., & Tan, S. (2009). The Chemical Composition and Biological Properties of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Water. *Molecules*, 14(12).

Zambrano-Forero, C., Ríos-Osorio, J., Beltrán-Pedroza, D., & Mesa-López, N. (2015). Evaluación de reguladores de crecimiento en la propagación *in vitro* de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya amarilla). *Revista Tumbaga, 1(10)*, 79.

Zeledón, M. E., & Arauz, A. B. (2020). Micropropagación De Pitahaya Amarilla (*Hylocereus undatus*) a partir de semilla botánica. *Universidad Nacional Agraria Facultad De Agronomía*.

Zhao, C., Zhang, G., Huang, Z., & Liu, M. (2005). Effects of media and IBA on stem cutting rooting of *Hylocereus undatus*. *Vietnam. Southwest China J. Agric. Sci.*, 370 – 372.