



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE QUITO  
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

**ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE  
PITAHAYA (*Hylocereus megalanthus*), PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS  
COMPLETAS.**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:  
Ingeniero Biotecnólogo**

**AUTORES: ROMEO ISRAEL LOJA ROMERO,**

**RONNY DAVID VILLALBA JÁCOME**

**TUTOR: IVONNE DE LOS ÁNGELES VACA SUQUILLO**

**Quito-Ecuador**

**2024**

## CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Romeo Israel Loja Romero con documento de identificación N° 0350182077 y Ronny David Villalba Jácome con documento de identificación N°1727549154; manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Quito, 31 de julio del año 2024

Atentamente,



-----  
Romeo Israel Loja Romero  
0350182077



-----  
Ronny David Villalba Jácome  
1727549154

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE  
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Romeo Israel Loja Romero con documento de identificación No. 0350182077 y Ronny David Villalba Jácome con documento de identificación No. 1727549154 , expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: **“Establecimiento de un protocolo de propagación *in vitro* de pitahaya (*Hylocereus megalanthus*), para la obtención de plantas completas”**, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniero Biotecnólogo, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 31 de julio del año 2024

Atentamente,

-----  
Romeo Israel Loja Romero  
0350182077

-----  
Ronny David Villalba Jácome  
1727549154

## CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Ivonne de los Ángeles Vaca Suquillo con documento de identificación N° 1714726906, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE PITAHAYA (*HYLOCEREUS MEGALANTHUS*), PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS COMPLETAS**, realizado por Romeo Israel Loja Romero con documento de identificación N° 0350182077 y por Ronny David Villalba Jácome con documento de identificación N° 1727549154 , obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Quito, 31 de julio del año 2024

Atentamente,



Ing. Ivonne De Los Ángeles Vaca Suquillo M.Sc.

1714726906

## **DEDICATORIA**

Dedico desde mi corazón este trabajo de titulación a mi familia quien me ha apoyado durante toda mi carrera y lo siguen haciendo; a mi padre Romeo Antonio Loja Suarez, mi madre Rosa Victoria Romero Niveló, por enseñarme el valor del trabajo, del sacrificio, de la honestidad, la humildad y la rectitud en el camino de la vida, valores que los veo reflejados en mis hermanos Abraham Ismael Loja Romero y José David Loja Romero. Todos los sacrificios, todas sus luchas constantes y sus esfuerzos me han permitido culminar con otra etapa de mi vida, con otro peldaño más en mi carrera profesional. Sus valores y enseñanzas no serán olvidadas, mi esfuerzo y sacrificio es para ustedes. Queridos padres estoy a punto de aventurarme a la realidad de la vida, estoy seguro de que con su apoyo lograré llegar tan lejos como ustedes lo han logrado.

Dedico también este trabajo a todas las personas que fueron un apoyo en esta etapa de mi vida, brindándome su amistad, su cariño y su hombro cuando lo necesité.

***Romeo Israel Loja Romero***

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Cesar Patricio Villalba Tufiño y Elvia Patricia Jácome Zapata, por su amor incondicional, apoyo constante y por enseñarme el verdadero valor del esfuerzo y la dedicación. Gracias por creer en mí y por estar siempre a mi lado, alentándome a seguir adelante.

A mis hermanos, Mishell Patricia Villalba Jácome y Alexis Sergio Villalba Jácome, por ser mi fuente de inspiración y motivación. Su compañía y apoyo han sido fundamentales en mi vida y en este logro.

A mis tías y tíos, quienes siempre estuvieron pendientes de mi progreso y bienestar, brindándome su cariño y apoyo incondicional. Gracias por estar presentes en cada paso de este camino.

Esta tesis es un reflejo del esfuerzo colectivo y del amor que me han brindado. A todos ustedes, dedico este trabajo con gratitud y cariño.

*Ronny David Villalba Jácome*

## **Agradecimientos**

Agradezco primero a Dios por haberme bendecido durante toda mi vida, por acompañarme y guiarme en el camino del bien. Agradezco a mis padres por haber sacrificado tanto para permitirme alcanzar una meta más, ustedes son fuente de admiración e inspiración en mi vida, les agradezco de todo corazón por los esfuerzos, por las malas noches, por las correcciones, gracias a ustedes soy la persona que soy; el hogar que ustedes formaron permitió a mis hermanos y a mi ser buenas personas, que conocen el valor del trabajo, el valor del sacrificio y sobre todo la humildad.

Agradezco a mis hermanos por apoyarme en todas las decisiones que eh tomado a lo largo de mi carrera, por estar conmigo en los duros momentos y enseñarme a luchar en la vida y sobre todo, nunca desmayar frente a las adversidades tal como nos enseñaron nuestros padres. Sus consejos y enseñanzas siempre las llevo en mi corazón.

Agradezco a mi novia Jasmín Azacata por ser un gran apoyo en esta etapa de mi vida, mi compañera, mi amiga, mi ayudante. Por confiar en mi y mostrarme que en verdad existen buenas personas en el mundo, en verdad muchas gracias por permitirme ser parte de su vida.

Agradecemos a nuestra tutora Ing. Ivonne De Los Ángeles Vaca Suquillo M.Sc., por su paciencia, esfuerzo y sacrificio, además de incentivarnos a seguir el camino de la investigación siendo un ejemplo para nosotros.

Agradezco a mis mejores amigos, Danilo Naranjo, Andrés Pilataxi, a mi compañero de tesis Ronny Villalba y a todos aquellos que brindaron su amistad gracias, por enseñarme el valor de la fraternidad, amistad y lealtad.

Este logro es tanto de ustedes como mío, gracias por todo.

***Romeo Israel Loja Romero***

## **Agradecimientos**

Deseo manifestar mi más profundo agradecimiento a todas las personas que han contribuido a la realización de esta tesis y que han sido un soporte esencial en mi vida.

A mis padres, Cesar Patricio Villalba Tufiño y Elvia Patricia Jácome Zapata, por su amor, respaldo y sabiduría. Su dedicación y sacrificio me han proporcionado las herramientas necesarias para alcanzar este objetivo. Gracias por su confianza y por estar siempre conmigo.

A mis hermanos, Mishell Patricia Villalba Jácome y Alexis Sergio Villalba Jácome, por su constante apoyo y por ser una fuente de inspiración para mí. Sus palabras de aliento y su presencia han sido vitales en este camino.

A mis tías y tíos, quienes han estado pendientes de mi bienestar y desarrollo. Su cariño, consejos y apoyo incondicional han sido una parte fundamental de mi vida y de este logro académico.

A todos ustedes, les agradezco de todo corazón por su amor y apoyo. Esta tesis es tanto suya como mía, y sin ustedes, este sueño no habría sido posible.

***Ronny David Villalba Jácome***

## **Resumen**

La pitahaya amarilla se ha convertido en uno de los principales productos de exportación del Ecuador, representando una gran fuente de ingreso para el país. Se propone al cultivo *in vitro* como una opción para solucionar los problemas fitosanitarios, la irregularidad en el cultivo y la latencia en semillas de esta especie. En la presente investigación se estableció un protocolo de propagación *in vitro* de *H. megalanthus* (Pitahaya amarilla) partiendo desde la semilla hasta la obtención de plantas completas; se evaluaron sales basales Murashige & Skoog (MS) y Gamborg (B5) en concentraciones del 50 y 100 % para la fase de introducción al cultivo, MS al 50 % fue efectivo para inducir el proceso de germinación; mientras que, para el desarrollo del tallo y favorecer la germinación temprana, las sales basales B5 a concentraciones de 50 % y 100 % fueron efectivas. Para la fase de multiplicación se usó B5 al 50 % suplementado con reguladores de crecimiento (BAP y AIA), en esta fase se evaluaron concentraciones de Nanopartículas de Óxido de Zinc (NPsZnO), obteniendo como resultado que dosis desde 0,5 hasta 2 ppm de NPsZnO favorecen la elongación del tallo de la pitahaya, así como la generación de nuevos brotes, dependiendo del explante. Para la fase de aclimatación se evaluaron sustratos conformados por turba y cascarilla de arroz en diferentes proporciones, se obtuvo una supervivencia del 100 % en todos los tratamientos.

**Palabras clave:** micropropagación, sales basales, nanopartículas, óxido de Zinc (NPsZnO)

## **Abstract**

Yellow pitahaya has become one of Ecuador's main export products, representing a great source of income for the country. *In vitro* cultivation is proposed as an option to solve phytosanitary problems, irregular cultivation and dormancy in seeds of this species. In the present research, an *in vitro* propagation protocol for *H. megalanthus* (Yellow Pitahaya) was established, starting from the seed until obtaining complete plants; Basal salts Murashige & Skoog (MS) and Gamborg (B5) were evaluated in concentrations of 50 and 100 % for the introduction phase to the crop, 50 % MS was effective in inducing the germination process; while, for stem development and promoting early germination, basal salts B5 at concentrations of 50 % and 100 % were effective. For the multiplication phase, 50 % B5 supplemented with growth regulators (BAP and AIA) was used. In this phase, concentrations of Zinc Oxide Nanoparticles (NPsZnO) were evaluated, resulting in doses from 0,5 to 2 ppm of NPsZnO. They favor the elongation of the pitahaya stem, as well as the generation of new shoots, depending on the explant. For the acclimatization phase, substrates made up of peat and rice husks in different proportions were evaluated; 100 % survival was obtained in all treatments.

**Keywords:** micropropagation, basal salts, Zinc oxide nanoparticles (NpsZnO)

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	1
1. MARCO TEÓRICO .....	3
1.1 Generalidades .....	3
1.2 Taxonomía.....	3
1.3 Distribución.....	3
1.4 Morfología.....	4
1.4.1 Tallo .....	4
1.4.2 Semillas .....	5
1.4.3 Raíces .....	5
1.5 Plagas y enfermedades .....	5
1.6 Tipos de propagación .....	8
1.6.1 Propagación sexual.....	8
1.6.2 Propagación asexual.....	8
1.6.3 Micropropagación .....	9
1.7 Cultivo <i>in vitro</i> .....	9
1.7.1 Fase I: Introducción al medio de cultivo .....	10
1.7.1.1 Medios de cultivo.....	10
1.7.2 Fase II: Multiplicación .....	11
1.7.2.1 Nanopartículas de Óxido de Zinc .....	11
1.7.3 Fase III: Aclimatación ex vitro.....	12
2. METODOLOGÍA .....	14
2.1 Ubicación del experimento.....	14
2.2 Obtención del material vegetal.....	14

2.3 Preparación de semillas y protocolo de desinfección.....	14
2.4 Fase I: Introducción de explantes y evaluación de medios de cultivo .....	15
2.4.1 Medios de cultivo .....	15
2.4.2 Unidad experimental .....	15
2.4.3 Variables dependientes.....	15
2.4.3.1 Porcentaje de germinación .....	15
2.4.3.2 Longitud de raíz y tallo .....	16
2.4.3.3 Días a la germinación nivel 5 .....	17
2.4.3.4 Porcentaje de contaminación.....	17
2.5 FASE II: MULTIPLICACIÓN Y EVALUACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC	17
2.5.1 Medios de cultivo .....	18
2.5.1.2 Nanopartículas de Óxido de Zinc (NPsZnO) .....	18
2.5.1.3 Explantes .....	19
2.5.2 Unidad experimental .....	20
2.5.3 Variables dependientes.....	20
2.5.3.1 Longitud de la raíz.....	20
2.5.3.2 Longitud de tallo .....	20
2.5.3.3 Número de brotes .....	20
2.6 FASE III: ACLIMATACIÓN <i>EX VITRO</i> Y EVALUACIÓN DE SUSTRATOS .....	21
2.6.1 Sustratos .....	21
2.6.2 Unidad experimental .....	21
2.6.3 Variables dependientes.....	22
2.6.3.1 Supervivencia .....	22
2.6.3.2 Longitud de raíz y longitud de tallo .....	22
2.6.4 Diseño experimental.....	22

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
3.1 Fase I: Introducción al medio de cultivo .....	22
3.1.1 Porcentaje de germinación .....	22
3.1.2 Longitud de raíz y tallo .....	24
3.1.3 Días a la germinación de nivel 5 .....	25
3.1.4 Porcentaje de contaminación.....	26
3.2 Fase II: Multiplicación .....	26
3.2.1 Explante apical .....	27
3.2.1.1 Longitud de raíz .....	27
3.2.1.2 Longitud de tallo .....	27
3.2.2 Explante basal .....	28
3.2.2.1 Longitud de raíz .....	28
3.2.2.2 Número de brotes .....	29
3.3 Fase III: Aclimatación.....	30
3.3.1 Supervivencia .....	30
3.3.2 Longitud de raíz y longitud de tallo .....	30
4. CONCLUSIONES .....	32
6. BIBLIOGRAFÍA.....	33
ANEXOS.....	43

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 A. Fase inicial de la infección, B y C desarrollo de la enfermedad, D-F fase final.....	6
Figura 2 Mancha clorótica extendida a lo largo del tallo (Izquierda), etapa final de la enfermedad (Derecha).....	7
Figura 3 Esquema de los niveles de germinación de la semilla de pitahaya.....	16
Figura 4 Tallo y raíz para medición en las plántulas de pitahaya .....	17
Figura 5 Diluciones de nanopartículas de óxido de Zinc, según Tabla 3 en los medios de cultivo.....	18
Figura 6 A) Corte transversal para separar los cotiledones y las raíces, B) Corte transversal en el tallo obteniendo explantes provenientes de la zona basal o apical.....	19
Figura 7 Porcentaje de germinación (nivel 5) entre tratamientos. ....	23
Figura 8 A) Medio MS (50%), B) Medio MS (100%), C) Medio B5 (50%) y D) Medio (100%).....	24
Figura 9 Contaminación observada en la Fase de introducción al medio de cultivo. A) Contaminación bacteriana presente en el medio de cultivo, B) Contaminación bacteriana en el explante. ....	26
Figura 10 A) Explantes apicales engrosados por interacción con NPsZnO, B) Generación de nuevos brotes en explantes basales por la interacción con NPsZnO.....	28

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Clasificación taxonómica de la pitahaya.....	3
Tabla 2 Concentración de sales MS y B5 evaluadas durante la fase de establecimiento in vitro .....	15
Tabla 3 Concentraciones de NPsZnO evaluadas durante la fase de multiplicación .....	19
Tabla 4 Sustratos evaluados durante la fase de aclimatación.....	21
Tabla 5 Medias $\pm$ error estadístico para las variables longitud de tallo, longitud de raíz y días a la germinación (nivel 5). .....	25
Tabla 6 Medias $\pm$ desviación estándar para las variables longitud de raíz y longitud de tallo en explantes apicales. ....	27
Tabla 7 Medias $\pm$ error estadístico para las variables longitud de raíz y número de brotes en explantes basales. ....	29
Tabla 8 Medias para las variables de longitud de raíz y longitud de tallo en la fase de adaptación a sustrato. ....	30

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Composiciones de las sales basales Murashige&Skoog (MS) y Gamborg B5 .....	43
--	----

## Introducción

La pitahaya o fruta dragón (*Hylocereus megalanthus*), es una planta originaria de regiones subtropicales y tropicales de América Latina (Santarrosa, 2013), es una fruta de gran valor, consumida en todo el mundo debido a sus propiedades fisicoquímicas y nutricionales, así también como a su exótico sabor (Nabor, 2020). En el Ecuador el cultivo de pitahaya ha incrementado en los últimos años, convirtiéndose en uno de los principales productos de exportación; para el 2019 se exportaron 7499 toneladas hacia Estados Unidos y Hong Kong generando ingresos por 44 millones de dólares; para el 2023 las exportaciones alcanzaron ingresos de 171,7 millones de dólares; actualmente más de 15 mil familias ecuatorianas dependen del cultivo de esta especie (INIAP, 2022; MPCEIP, 2023).

El cultivo de pitahaya presenta problemas fitosanitarios, ocasionados por hongos, como *Fusarium oxysporum* (Salazar et al., 2016), *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria* spp., que son responsables de importantes pérdidas económicas en el cultivo (Suárez et al., 2019), obligando al sector agrícola a hacer uso de pesticidas y fungicidas afectando la calidad del producto y a los agricultores (MAG, 2017; C. Suárez et al., 2019). La propagación vegetativa aumenta el riesgo de enfermedades (Millones y Vásquez, 2023), en busca de solucionar los problemas planteados, Zeledón y Arauz (2020), proponen investigar la propagación *in vitro* para superar la baja viabilidad de las semillas, la obtención de plantas homogéneas y libres de microorganismos patógenos, traducándose en un mejor rendimiento y manejo de enfermedades (Navarro y Canales, 2021).

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general, establecer un protocolo de propagación *in vitro* de *Hylocereus megalanthus*, para la producción de plantas completas; mediante la evaluación de distintas concentraciones de sales basales en el medio de cultivo, durante la fase de introducción; la selección de la concentración óptima de nanopartículas de

óxido de Zinc en el medio de cultivo para la multiplicación; y, finalmente el establecimiento de un sustrato óptimo para la adaptación *ex vitro* de las plántulas.

Para el cultivo *in vitro* los medios basales a evaluarse fueron Murashige y Skoog (MS) y Gamborg (B5), los cuales generan diferentes tipos de respuesta morfogénica, han sido utilizados en monocotiledóneas y dicotiledóneas, reportando resultados positivos permitiendo la regeneración vegetal (Gamborg et al., 1976; Phillips y Garda, 2019). Además, el uso de nanopartículas de óxido de Zinc puede modificar la expresión de los caracteres generando mayor longitud de vástago y radícula, obteniendo explantes más grandes en poco tiempo (Calderón, 2018). Para la fase de aclimatación los sustratos como turba y cascarilla de arroz, son comúnmente conocidos por su fácil acceso, bajo costo y la versatilidad al momento de usarlos con plantas, siendo aplicados en el cultivo de una amplia gama de especies vegetales (Ortiz, 2020; Quintero et al., 2013).

## 1. Marco teórico

### 1.1 Generalidades

La especie *Hylocereus megalanthus*, conocida comúnmente como “fruta del dragón” o pitahaya, que significa “fruta escamosa”, es una planta cactácea mundialmente reconocida por sus peculiares características y beneficios nutricionales (Verona et al., 2020). Tradicionalmente, la parte comestible ha sido el fruto, aunque también se consumen las flores como legumbre, y los brotes como hortaliza fresca (Suárez et al., 2014). A lo largo de los años, diversos estudios han abordado sus propiedades nutricionales y potencial agrícola, resaltando su relevancia dentro del ámbito de la agricultura (Pérez, 2011).

### 1.2 Taxonomía

La pitahaya, miembro de la familia Cactaceae, ha sido sometida a revisión taxonómica, resultando en cambios en la denominación de algunos géneros y especies. Su nombre científico ha pasado de ser *Selenicereus megalanthus* a *Hylocereus megalanthus*, ambos términos son aceptados como sinónimos válidos en la literatura científica (Suarez, 2017). La taxonomía actualizada se presenta detalladamente en la Tabla 1.

Tabla 1 Clasificación taxonómica de la pitahaya

Reino	Plantae
División	Magnoliophita
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllale
Familia	Cactaceae - cactácea
Género	<i>Hylocereae</i>
Especie	<i>Hylocereus megalanthus</i>

Fuente: (Teisher J, 2024; Verona et al., 2020).

### 1.3 Distribución

El género *Hylocereus*, es originario de América tropical y América central, presenta una extensa distribución geográfica en áreas tropicales y subtropicales, particularmente en México y regiones adyacentes, a lo largo de Centroamérica y el norte de Sudamérica. Sus hábitats

naturales incluyen países como Venezuela, Colombia, Costa Rica, Brasil y Ecuador (Santarrosa, 2013). Estos cactus trepadores, que cuentan con tallos trialados ligeramente ondulados, raíces aéreas y flores aromáticas nocturnas (Pérez, 2011), son notables por su capacidad para adaptarse y prosperar en una variedad de condiciones ambientales, desde zonas áridas hasta regiones de clima templado y semiárido (García et al., 2015).

La introducción de *Hylocereus* spp. en Ecuador ha mostrado su habilidad para colonizar nuevos entornos, evidenciada por su expansión en provincias como Pichincha, Santo Domingo de los Tsáchilas e Imbabura, durante los últimos 16 años (Suarez, 2017). No obstante, a pesar de su notable adaptabilidad, la supervivencia de estas especies se ve amenazada por factores tanto naturales como antrópicos, haciendo esencial su conservación y el desarrollo de técnicas de cultivo sostenibles (Santarrosa, 2013; Suarez, 2017).

## **1.4 Morfología**

La pitahaya se distingue por su forma de crecimiento trepador, tallos trialados, más o menos ondulados, con raíces aéreas y flores aromáticas de apertura nocturna (García et al., 2015). En cuanto a su apariencia, *H. megalanthus* es un cactus que puede crecer colgante o trepador debido a sus raíces adventicias, se caracteriza por sus tallos de color verde y con una estructura denominada filocladio, a menudo glaucos, que suelen ser teretes o triangulares (Tuanama, 2021).

### **1.4.1 Tallo**

Los tallos o filocladodios son carnosos y de color verde, capaces de realizar la fotosíntesis, y se distinguen por las aristas anchas que los atraviesan de manera longitudinal (Paredes, 2021; Pérez, 2011). Los tallos poseen areolas que son brotes altamente especializados, crecen aproximadamente tres espinas por areola extendidas y esbeltas, de forma casi cilíndrica y bien separadas (Castillo et al., 2005; Cevallos, 2022).

Los atributos físicos del tallo pueden estar relacionados con la adaptabilidad y las estrategias de supervivencia de la planta. Pérez (2011), menciona que algunas plantas son más adecuadas para entornos áridos, mostrando tallos con una epidermis gruesa y estomas hundidos.

#### **1.4.2 Semillas**

Las semillas de la pitahaya son pequeñas, de color negro y brillante, con una forma oblonga y una textura lisa (Pérez, 2011). Estas semillas son abundantes, están presentes en el interior y se encuentran dispersas en la pulpa translúcida del fruto, y se pueden comer con facilidad, al ser agradables al paladar, aunque no son digeribles por el contenido de aceite que puede tener, su peso oscila entre 50 y 400 gramos (Cevallos, 2022).

#### **1.4.3 Raíces**

La morfología de las raíces de la pitahaya es fundamental para comprender cómo esta planta se adapta y sobrevive en su entorno. En ambientes áridos donde a menudo se encuentra *Hylocereus*, el sistema de raíces es un determinante crítico de la capacidad de la planta para prosperar en condiciones propensas a la sequía (Tuanama, 2021).

La pitahaya desarrolla dos tipos de raíces: las raíces primarias, responsables principalmente de la absorción de nutrientes y agua (Tuanama, 2021), son delgadas y suelen alcanzar entre 5 y 10 cm desde la superficie del suelo (Paredes, 2021); y las raíces secundarias o adventicias, que emergen de la parte aérea de la planta y desempeñan un papel crucial en el soporte y anclaje, permitiendo que la pitahaya se adhiera a diversas estructuras y se expanda (Cevallos, 2022; Paredes, 2021). Estas raíces también pueden absorber humedad y nutrientes directamente del aire o de las superficies a las que se adhieren (Pérez, 2011).

### **1.5 Plagas y enfermedades**

Las cactáceas son afectadas por alrededor de 324 especies de insectos, causantes de daños graves en la planta, volviéndolas más susceptibles al ataque de hongos y bacterias (Segovia

et al., 2024; Vitela, 2019). En el caso de *H. megalanthus* los problemas fitosanitarios se deben a su reproducción asexual (mediante esquejes), donde el material vegetativo funciona como transporte o vector de transmisión de hongos y bacterias representando pérdidas económicas de hasta el 44 % para los productores (Verona et al., 2020); por ejemplo, el hongo *Fusarium oxysporum* es causante de la enfermedad “pudrición basal”, disminuye el volumen de producción hasta en un 50 % (Restrepo et al., 2012). El hongo *Neoscytalidium dimidiatum* es causante de la enfermedad Cáncer de tallo o “El chancro” (Peña, 2022), puede llegar a provocar la muerte del tejido (Figura 1) (Kim et al., 2016; Retana et al., 2018).



La pudrición del tallo causada por *Erwinia carotovora* es una de las enfermedades más agresivas (Figura 2) ocasionando manchas cloróticas, el tejido se vuelve blando y finalmente se seca ocasionando pérdida total de la planta (Retana et al., 2019).

### Pudrición del tallo causado por *Erwinia carotovora*



Figura 2 Mancha clorótica extendida a lo largo del tallo (Izquierda), etapa final de la enfermedad (Derecha).  
Elaborado por: (Sánchez et al.,2019).

En el Ecuador una de las enfermedades con mayor incidencia en la industria productora es la “Sarna” producida por el hongo *Alternaria* spp. ocasionando una pérdida del 80 % por daños en la planta; el patógeno afecta a diferentes órganos, como tallos, flores, frutos (Vargas, 2009); los frutos pueden verse afectados a pesar de no haber llegado a su etapa madura (Jiménez, 2022).

Azanza (2022), menciona en su investigación las diferentes medidas de prevención y control de estos patógenos, partiendo desde el control cultural, incinerando el tejido ya que está completamente infectado, así también como el control de humedad que facilita la proliferación de microorganismos. Otra de las medidas de control es mediante el uso de agentes químicos; sin embargo, se debe considerar que estos pueden causar contaminación del suelo y agua, la eliminación de aquellos insectos benéficos para la plantación y una mayor resistencia de las plagas (Kondo et al., 2013).

El control genético se presenta como una opción mediante la utilización de nuevas variedades de especies vegetales resistentes a las enfermedades debido a su mejoramiento genético, esta tecnología incorpora genes de resistencia al patógeno (Vargas, 2009), sin embargo, la adquisición de plantas genéticamente modificadas representa un gasto mayor para los agricultores (Rebollar, 2016).

El cultivo *in vitro* se presenta como una solución a los problemas fitosanitarios, rompiendo la latencia de semillas, permitiendo el control de todas las condiciones de crecimiento en cada una de las etapas de desarrollo, garantizando la genética deseada lo que se traduce en la obtención de individuos completamente homogéneos y libres de patógenos (Navarro y Canales, 2021). Según Pérez (2011), las técnicas biotecnológicas, como la multiplicación *in vitro* son fundamentales para ampliar el cultivo y mejorar la diversidad genética.

## **1.6 Tipos de propagación**

### **1.6.1 Propagación sexual**

Debido a la explotación a gran escala y su expansión como cultivo comercial, la reproducción sexual se ve complicada por variables como: época del año, edad de la planta, humedad, viento, temperatura, correcta polinización, mano de obra, dinero, control sobre cada uno de las plántulas (Verona et al., 2020; Zambrano y Guillen, 2022); además Montiel y colaboradores (2016), reportan los problemas de latencia en semillas durante su proceso de germinación, este tipo de propagación no garantiza individuos homogéneos al final del proceso.

### **1.6.2 Propagación asexual**

Los métodos tradicionales de propagación implican esquejes, que permiten el mantenimiento de la fidelidad clonal y garantizan la uniformidad de los rasgos deseables (Suarez, 2017). Cevallos (2022), menciona que este método asexual ha sido ampliamente adoptado debido a su sencillez. Esta técnica consiste en el uso de estacas, sin embargo, el cultivo no está libre de

ciertos problemas como: el estado de salud y edad de la planta madre o donadora, las condiciones ambientales, el suelo, época del año, además de la susceptibilidad a hongos y bacterias (Aguilar, 2015). Esta forma de multiplicación permite la obtención más rápida de yemas foliares, considerando el uso de esquejes con una longitud entre 20 - 30 cm siendo un método sencillo, rápido y de bajo costo (Vallejo y Estrada, 2002).

### **1.6.3 Micropropagación**

La micropropagación vía cultivo *in vitro* consiste en la multiplicación masiva de plantas a partir de explantes, que se encuentran en un medio de cultivo en condiciones controladas, obteniendo al final plantas, uniformes y genéticamente idénticas, consiguiendo plantas libres de patógenos con el fenotipo y genotipo deseado (Renneberg, 2023), el uso de esta técnica permite la preservación del espécimen de mejores características mejorando a nivel de producción el número de plántulas aptas garantizando el cultivo y la producción de frutos (Lalelo y Corella, 2023).

### **1.7 Cultivo *in vitro***

El cultivo *in vitro* consiste en un conjunto de técnicas que permiten cultivar o mantener un explante de interés (segmentos de tallo, hojas, células, protoplastos, etc) en un medio de cultivo libre de contaminantes (hongos o bacterias), suplementado con diferentes compuestos que provean de los nutrientes necesarios para la supervivencia de la planta, además, mantenerlo bajo condiciones controladas de luz, temperatura o humedad (Mroginski y Roca, 1991).

Melgarejo y colaboradores (2014), dividen al cultivo *in vitro* de forma general en 3 fases: I) Fase de introducción o establecimiento *in vitro*, II) Fase de multiplicación y III Fase de adaptación o aclimatación; todos aquellos explantes que deseen ser cultivados con esta técnica deben ser previamente sanitizados con su respectivo protocolo de desinfección, recordemos que esta técnica es utilizada con la finalidad de obtener plantas genéticamente idénticas con las

características deseadas de la planta madre, o de igual forma dar solución a las dificultades que enfrentan ciertas especies vegetales en su propagación de forma natural.

### **1.7.1 Fase I: Introducción al medio de cultivo**

Según Castillo (2004), los explantes (tallos, yemas, semillas) se introducen en un medio de cultivo después de seleccionar la planta madre o donadora, y aplicar un protocolo de desinfección del explante, para asegurar que esté libre de microorganismos antes de introducirlo en el medio de cultivo estéril. Para la planta donadora, se sugiere un periodo de cuarentena antes de seleccionar los explantes, con cuidados y monitoreo constantes para garantizar su salud. Desde esta etapa inicial, se seleccionan los medios de cultivo según los requerimientos nutricionales de la planta.

#### **1.7.1.1 Medios de cultivo**

Los medios de cultivos son sustancias que proporcionan sales minerales, carbohidratos, vitaminas, reguladores de crecimiento y otros nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo óptimo de las plantas fuera de un entorno natural (Phillips y Garda, 2019).

Entre los medios basales más utilizados están Murashige y Skoog (MS), Gamborg (B5), medio para plantas leñosas (WPM), entre otros, que provocan diferentes formas de desarrollo en las plantas. El medio MS es ampliamente utilizado con monocotiledóneas y dicotiledóneas, permitiendo la regeneración vegetal debido los altos niveles de nitrógeno (Gamborg et al., 1976; Phillips y Garda, 2019). Pérez y Dávila (2002), recomiendan el uso de MS ya que generan brotación a partir de plántulas germinadas *in vitro* en *Pelecypora aselliformis*. El medio B5 contiene sales inorgánicas, sulfatos y vitaminas; estas últimas intervienen en los ciclos metabólicos, permitiendo en conjunto con la fuente de nitritos y sulfatos el correcto desarrollo vegetal (Phillips y Garda, 2019).

Las sales basales proveen de los nutrientes necesarios para el desarrollo de las plantas, acelerando el proceso de desarrollo siempre y cuando las concentraciones no inhiban por completo el crecimiento (Álvarez y Pozo, 2021; Castilla, 2005). Es así como las sales basales permiten un óptimo desarrollo de los explantes, provocando la elongación del tallo y facilitando la morfogénesis *in vitro* (Gusmiaty et al., 2023).

Se ha encontrado que MS en algunos casos puede ser perjudicial para el crecimiento por el alto contenido de iones de amonio (Gamborg et al., 1976; Phillips y Garda, 2019). Por ello varios autores recomiendan reducir la concentración de sales y evaluar el uso de reguladores de crecimiento que favorezcan el crecimiento vegetal (Roca et al., 1991).

### **1.7.2 Fase II: Multiplicación**

En esta fase son usados todos aquellos explantes sobrevivientes de la primera etapa, es importante mencionar que nunca se debe romper la cadena de esterilidad del cultivo, realizando las siembras siempre apoyadas por una cámara de flujo laminar; se pueden agregar aditivos al medio de cultivo, como reguladores de crecimiento ya sea BAP o AIA que permitan obtener cierta respuesta morfológica por lo que su estudio es importante para la identificación de concentraciones y formulaciones óptimas (Cañal et al., 2001). En los últimos años ha tomado fuerza la adición de ciertos compuestos como las nanopartículas (NPs) convirtiéndose en un implemento clave en la nanotecnología agrícola, proporcionando soluciones innovadoras y ecológicas con el medio ambiente para mejorar el rendimiento y la calidad comercial de los cultivos y los alimentos (Rivera et al., 2021).

#### **1.7.2.1 Nanopartículas de Óxido de Zinc**

Las nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) han demostrado tener un impacto significativo en la agricultura y en tecnologías en ciencias agrarias, especialmente en el cultivo *in vitro* de plantas, gracias a sus propiedades antifúngicas y su capacidad para estimular el crecimiento

vegetal, en diversos estudios se ha evaluado su efectividad como agente antifúngico, destacando su capacidad para controlar patógenos y estimular el desarrollo de las plantas (Corrales, 2014; Esparza, 2015).

El zinc es un microelemento esencial para el crecimiento y desarrollo general de las plantas, influye positivamente en la síntesis de hormonas clave para su desarrollo, como auxinas, citoquininas y giberelinas (Méndez, 2021). Calderón (2018), llevó a cabo un estudio sobre el efecto de las NPsZnO en la germinación de semillas de pepino, observando mejoras significativas en el vigor de germinación y el crecimiento de plántulas a concentraciones específicas, resaltando que concentraciones de 5 ppm incrementaron tanto la germinación como el crecimiento radicular y del vástago. Además, González (2020), investigó su eficacia contra *Fusarium oxysporum* en tomate bajo condiciones controladas, demostrando una reducción significativa en el crecimiento del patógeno. Esparza (2015), destaca la efectividad de las NPsZnO contra patógenos como *Alternaria alternata*, así como su potencial uso de crecimiento y agente de control de enfermedades.

### **1.7.3 Fase III: Aclimatación *ex vitro***

En la última fase del cultivo *in vitro*, el control de las condiciones de adaptación y monitoreo de los explantes juegan un papel importante en la supervivencia de las plántulas previas a su paso a campo, se debe considerar que las plantas vienen de un cultivo con condiciones de temperatura, humedad, concentración de nutrientes y luz controladas, resultando susceptibles a cualquier tipo de cambio en su entorno, por lo que se recomienda un proceso de aclimatación, por ejemplo la humedad relativa debe ir disminuyendo de manera progresiva en relación al tiempo que la plántula pase en aclimatación, el cambio brusco podría llevar a la desecación de la planta (Castillo, 2004).

La turba es un sustrato orgánico que permite un mayor crecimiento en altura de tallo y obtención de hojas más largas en plantas establecidas, además es esencial para el desarrollo temprano de las raíces, posee una buena capacidad de retención de humedad y aireación (Gavilán, 2015). Por otro lado, la cascarilla de arroz actúa como un complemento que potencia la estructura del sustrato y aumenta la porosidad, favoreciendo un drenaje adecuado y evitando el exceso de humedad (Quintero et al., 2013).

## **2. Metodología**

### **2.1 Ubicación del experimento**

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Biotecnología Vegetal en la Universidad Politécnica Salesiana campus el Girón, cantón Quito, provincia de Pichincha. La investigación se realizó bajo el auspicio del grupo de investigación “BIOARN”.

### **2.2 Obtención del material vegetal**

Los frutos pertenecientes a la variedad Palora fueron recolectados en una hacienda productora de pitahaya, ubicada en el Km 19 vía Calacalí-La independencia, en el cantón Pedro Vicente Maldonado, en la provincia del Pichincha. La recolección de la fruta coincidió con la última cosecha del año 2023, los frutos se encontraban maduros y listos para el consumo.

### **2.3 Preparación de semillas y protocolo de desinfección**

Se lavaron los frutos con agua y jabón, retirando los restos de tierra y suciedad, se realizó un corte longitudinal del fruto exponiendo la pulpa y semillas, estas se pasaron por un colador grueso eliminando los excesos de pulpa, posteriormente se retiró el mucílago que envuelve a las semillas sin romper la testa. Se enjuagaron las semillas con agua y se las dejó secar por 2 días.

Posteriormente se realizaron lavados con dos soluciones desinfectantes, la primera solución fue detergente al 20 % p/v, las semillas tuvieron un tiempo de inmersión de 5 minutos, se enjuagó con agua destilada estéril y se procedió a sumergir a las semillas por 10 minutos en una solución de cloro al 10 % v/v, el último enjuague se realizó dentro de la cámara de flujo laminar previo la siembra de los explantes.

## 2.4 Fase I: Introducción de explantes y evaluación de medios de cultivo

### 2.4.1 Medios de cultivo

Para la fase de introducción se evaluaron medios de cultivo conformados por sales basales MS y Gamborg (B5) a diferentes concentraciones (Tabla 2), para todos los tratamientos se adicionó carbón activado, sacarosa, y el pH fue ajustado a 5,8. Los explantes sembrados en el medio de cultivo fueron colocados en un área de incubación bajo condiciones controladas a una temperatura de  $26 \pm 2$  °C, con un fotoperiodo de 16 horas.

Tabla 2 Concentración de sales MS y B5 evaluadas durante la fase de establecimiento *in vitro*

Tratamiento	Código	Medios de cultivo	Porcentaje de sales (%)
1	MS 1	Murashige & Skoog (MS)	50 %
2	MS 2	Murashige & Skoog (MS)	100 %
3	B5-1	Gamborg (B5)	50 %
4	B5-2	Gamborg (B5)	100 %

Elaborado por: (Los autores., 2023).

### 2.4.2 Unidad experimental

Se usaron tubos de ensayo con una altura de 15 cm, un diámetro de 2,5 cm y un volumen de 50 mL con 26 repeticiones; en cada tubo de ensayo se colocaron 15 mL de medio de cultivo y se sembraron 2 semillas de pitahaya.

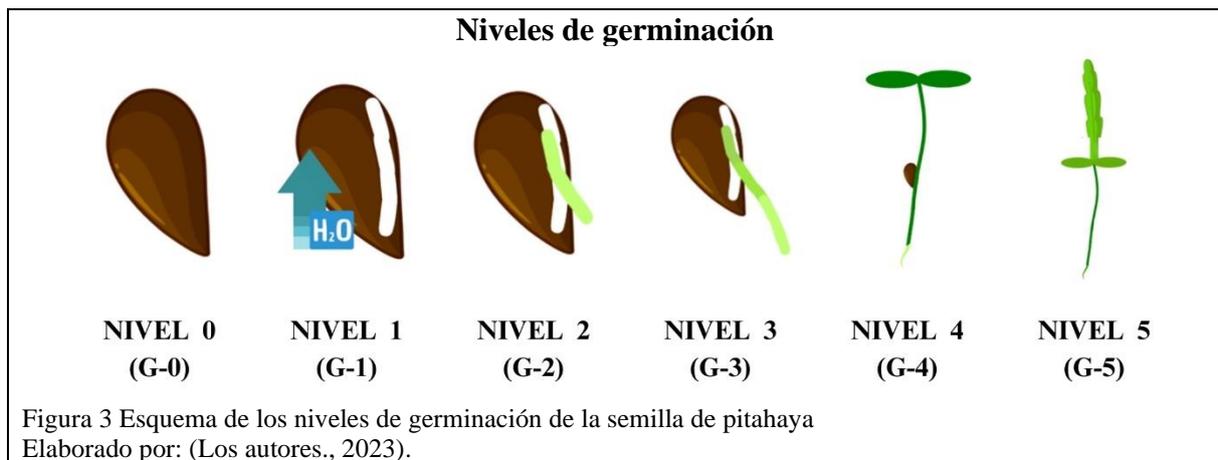
Los datos se obtuvieron semanalmente mediante observación y medición para las variables porcentaje de germinación, longitud de raíz, longitud de tallo y días a la germinación nivel 5.

### 2.4.3 Variables dependientes

#### 2.4.3.1 Porcentaje de germinación

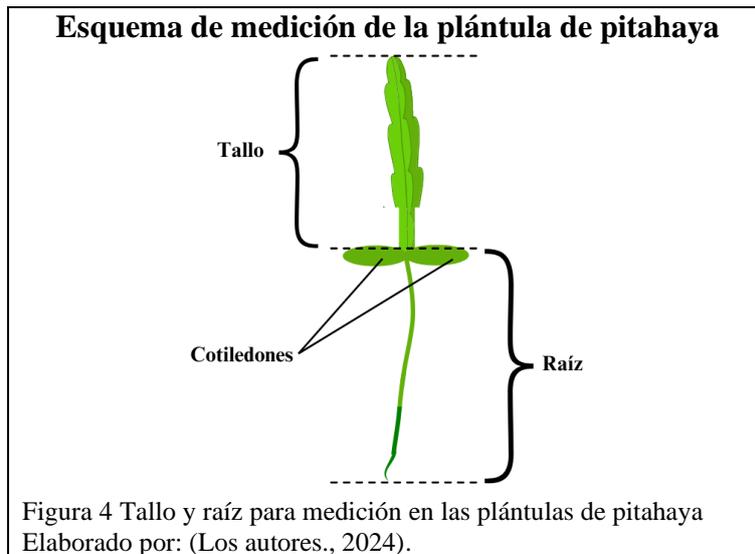
Se planteó una escala de germinación (Figura 3) partiendo desde el Nivel 0 donde la semilla se encuentra en estado de latencia y permanece sin cambios desde la fecha de siembra; el nivel 1 de germinación, se considera cuando la semilla presenta turgencia causada por la cantidad de agua absorbida desde el medio de cultivo; cuando la radícula emerge de la semilla se considera un nivel de germinación 2, presenta una longitud de raíz menor a los 2 mm; desde los 2 mm

hasta los 2,5 cm se considera un nivel 3; el crecimiento y desarrollo de los cotiledones, considerándose todos aquellos explantes que superen los 2,6 cm conforman el nivel 4 de germinación; y finalmente aquellos explantes que desarrollaron el tallo sobre los cotiledones fueron considerados como nivel 5. Aquellos tratamientos que no superaron el nivel de germinación 5, no fueron evaluados para las variables de longitud de tallo, longitud de raíz y días a la germinación de nivel 5.



### 2.4.3.2 Longitud de raíz y tallo

Los datos de longitud fueron tomados mediante observación y medición con ayuda de un calibrador pie de rey. Para la medición de la plántula, esta se dividió en dos partes (Figura 4), se consideró como raíz desde los cotiledones hasta la cofia de la raíz principal, y para el tallo se consideraron todos aquellos brotes que parten desde los cotiledones hacia arriba.



#### **2.4.3.3 Días a la germinación nivel 5**

Los datos obtenidos resultantes de la continua observación de longitud de raíz y tallo permitieron definir los días que les tomo a las semillas alcanzar el nivel de germinación 5 (Figura 3) en cada uno de los tratamientos.

#### **2.4.3.4 Porcentaje de contaminación**

Para determinar contaminación se evaluó mediante la observación de diferentes características, como la licuefacción del medio de cultivo, presencia de colonias alrededor del explante, en el medio de cultivo o en las paredes de ensayo; en caso de tener presencia de contaminación fúngica o bacteriana se cuantificó como 1; mientras que, 0 indicó la ausencia de cualquier tipo de contaminación. El porcentaje de contaminación fue calculado dividiendo el número de tubos contaminados para el total de tubos de cada tratamiento multiplicados por 100; aquellos tubos contaminados no pasaron a la siguiente fase.

### **2.5 Fase II: Multiplicación y evaluación de las nanopartículas de óxido de Zinc**

Finalizada la Fase I se consideraron solamente aquellos explantes que desarrollaron el tallo (germinación nivel 5), para pasar a la fase de multiplicación.

### 2.5.1 Medios de cultivo

El mejor medio resultante de la fase de establecimiento *in vitro* fue utilizado en esta etapa. Se suplementó el medio con 30 g/L de sacarosa y reguladores de crecimiento, como 6-Bencil adenina (BAP) a una concentración de 1 mg/L y Ácido indolacético (AIA) a una concentración de 0,50 mg/L.

#### 2.5.1.2 Nanopartículas de Óxido de Zinc (NPsZnO)

En la fase de multiplicación se evaluaron diferentes concentraciones de nanopartículas de óxido de zinc (NPsZnO) (Tabla 3), con la finalidad de favorecer un mayor índice de multiplicación, longitud y altura del tallo.

Se partió de una solución madre de NPsZnO a una concentración de 100 ppm, realizando diluciones en los diferentes medios de cultivo (Figura 5) conforme los tratamientos planteados (Tabla 3).

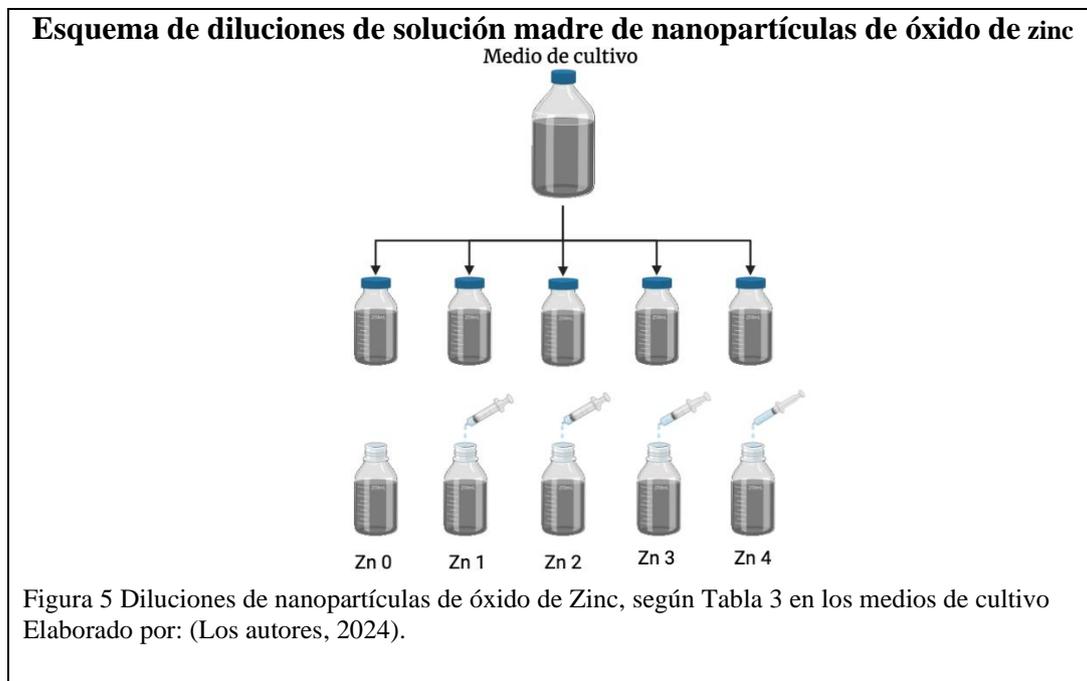


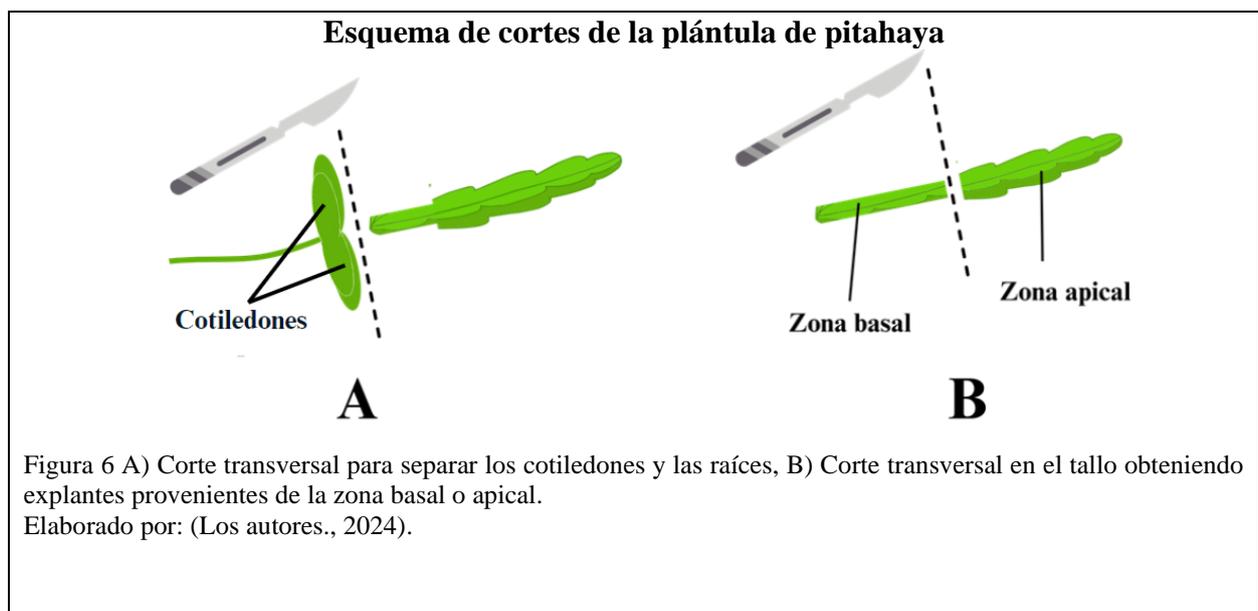
Tabla 3 Concentraciones de NPsZnO evaluadas durante la fase de multiplicación

Tratamiento	Concentración de NPsZnO (ppm)
Zn 0	0
Zn 1	0,5
Zn 2	1
Zn 3	1,5
Zn 4	2

Elaborado por: (Los autores, 2024).

### 2.5.1.3 Explantes

Los explantes seleccionados para la fase de multiplicación fueron aquellos que lograron alcanzar un nivel 5 de germinación. En la cámara de flujo laminar, se realizaron varios cortes (Figura 6): el primer corte se efectuó sobre los cotiledones, con la intención de separar la raíz del tallo; y el siguiente corte se hizo sobre el tallo, para dividir la parte apical y basal del tallo de la pitahaya. Al realizar estos cortes en el tallo se obtuvieron dos explantes: explante basal y explante apical. Las raíces resultantes de la germinación fueron eliminadas, para garantizar la uniformidad de todos los explantes que ingresaron a la fase de multiplicación.



## **2.5.2 Unidad experimental**

Se usaron cajas magenta, de 9,6 cm de alto por 6,7 cm de ancho, dispensadas con 40 mL de medio de cultivo, se sembraron 4 explantes, realizando 5 repeticiones para cada tratamiento.

## **2.5.3 Variables dependientes**

En ambos explantes se evaluó la longitud de la raíz; mientras que, para el explante apical se evaluó la longitud del tallo, y para el explante basal, la generación de nuevos brotes (índice de multiplicación, IM).

### **2.5.3.1 Longitud de la raíz**

Con ayuda de un calibrador de pie de rey se midió la raíz principal, desde la base del explante hasta la zona apical de la raíz, no se consideraron las raíces adventicias, ni aéreas.

### **2.5.3.2 Longitud de tallo**

Esta variable se evaluó exclusivamente en el explante apical, considerando que este contiene el meristema apical del tallo, responsable de la elongación y el engrosamiento de este (Chuncho et al., 2019), la medición se realizó desde la base de explante (región donde se realizó el corte inferior) hasta el ápice del brote (Figura 6).

### **2.5.3.3 Número de brotes**

El número de brotes fue evaluado únicamente en los explantes basales, los cortes tanto en el extremo superior como en el extremo inferior del explante permiten romper la dominancia apical provocando la activación de yemas laterales y producir mayor número de brotes (Nuñez, 2014). Se consideró como brote aquellos tallos emergentes de yemas laterales y que superaron los 2 mm de longitud, esta medición se realizó desde la base de la yema hasta el ápice del nuevo brote.

## 2.6 Fase III: Aclimatación *ex vitro* y evaluación de sustratos

Las vitroplantas con raíces y tallos provenientes de la fase de multiplicación, fueron enjuagadas con agua destilada estéril a una temperatura de  $18 \pm 3$  °C para eliminar los restos de medio de cultivo, dejándolas limpias y listas para ser trasplantadas rápidamente al sustrato, evitando la deshidratación del explante. Se eliminaron aquellas raíces aéreas presentes en el tallo, y no se realizaron nuevos cortes en la plántula. Los cultivos se mantuvieron en incubación bajo condiciones controladas a una temperatura de  $25 \pm 1$  °C, con un fotoperiodo de 16 horas.

### 2.6.1 Sustratos

La turba y la cascarilla de arroz fueron evaluados como sustratos en diferentes proporciones (Tabla 4), se colocaron los sustratos en fundas de esterilización y posteriormente fueron autoclavados por 15 minutos a 121 °C y 1,2 kg/cm<sup>2</sup>; los contenedores fueron esterilizados por separado, con una solución de cloro al 10 % v/v por 10 minutos, y posteriormente se los expuso a luz UV durante 15 minutos.

Tabla 4 Sustratos evaluados durante la fase de aclimatación

Código	Sustratos
T1	Turba (100 %)
T2	Turba (75 %) + Cascarilla de arroz (25 %)
T3	Turba (50 %) + Cascarilla de arroz (50 %)

Elaborado por: (Los autores., 2023).

### 2.6.2 Unidad experimental

Se usaron contenedores plásticos con capacidad de 1 L, cuyas medidas fueron 18 cm de alto y un diámetro de 13 cm; se colocó sustrato en el contenedor hasta alcanzar una altura de 3,5 cm equivalente a  $63,5 \pm 0,2$  g de sustrato por contenedor, realizando 7 repeticiones para cada tratamiento.

## **2.6.3 Variables dependientes**

### **2.6.3.1 Supervivencia**

La supervivencia fue evaluada mediante observación semanal, se verificó la tonalidad normal y uniforme en los tallos; además se evidenció su turgencia, como un indicativo de salud y actividad fotosintética de la planta.

### **2.6.3.2 Longitud de raíz y longitud de tallo**

Se realizó la medición de la longitud de raíz y longitud de tallo, al iniciar y al finalizar el proceso de adaptación a sustrato, estas mediciones se realizaron con ayuda de un calibrador de pie de rey.

## **2.6.4 Diseño experimental**

El diseño experimental fue un diseño completamente al azar. Se utilizó el programa estadístico INFOSTAT versión 2020, se realizaron pruebas de normalidad y de análisis funcional para determinar diferencias significativas entre los tratamientos.

## **3. Resultados y discusión**

### **3.1 Fase I: Introducción al medio de cultivo**

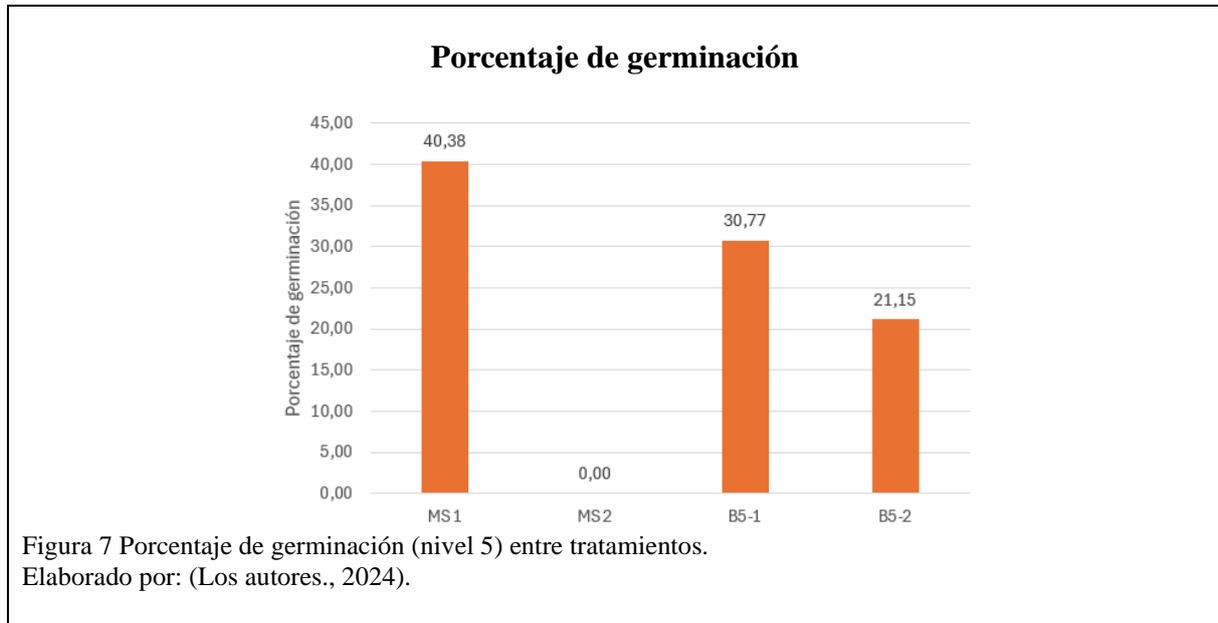
#### *Variables en función de los tratamientos completos*

A continuación, se presentan los resultados de la variable porcentaje de germinación, evaluada sobre los cuatro tratamientos descritos en la metodología (Tabla 2). Se observó una diferencia significativa en el porcentaje de germinación entre los tratamientos ( $p \leq 0,05$ ).

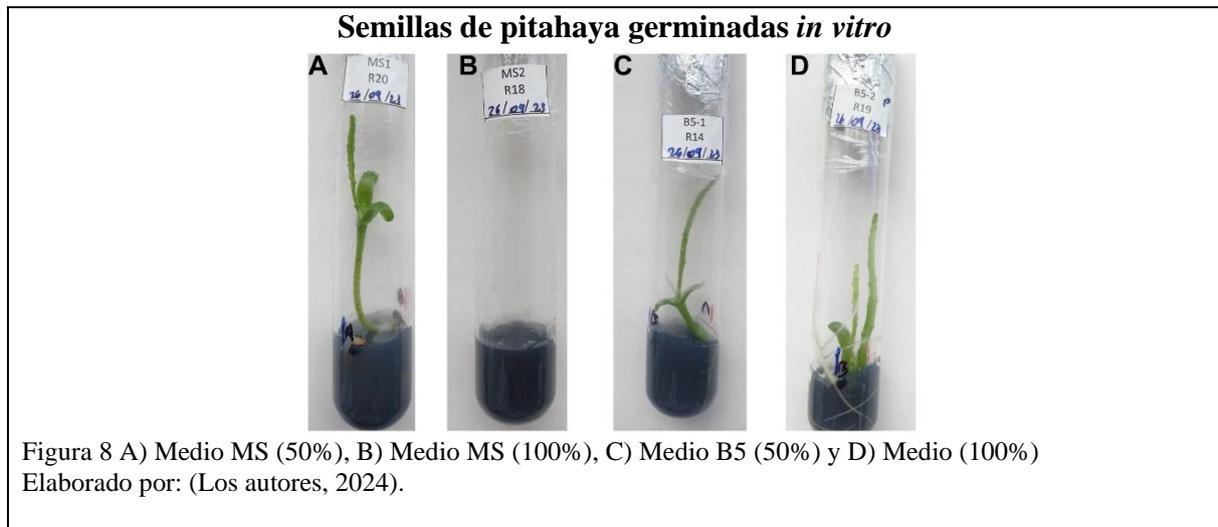
#### **3.1.1 Porcentaje de germinación**

El tratamiento MS 1 (50 %) fue el más efectivo, seguido de los tratamientos B5-1 (50 %) y B5-2 (100 %) (Figura 7 y Figura 8). El tratamiento MS 1 (50 %) presentó el mayor porcentaje de germinación alcanzando el 40,38 % de semillas germinadas en nivel 5. El alto contenido de nitrógeno en forma de nitratos como el amonio actúan como inductores de germinación,

haciendo de MS uno de los medios más comúnmente usados para germinación en el cultivo *in vitro* vegetal (Phillips y Garda, 2019). Los resultados reportados por Mállap y colaboradores (2021), concuerdan con la presente investigación pues obtuvieron su mayor porcentaje de germinación en su experimentación a concentraciones de MS al 50 %.



El tratamiento MS 2 (100 %) fue el peor, mostrando inhibición total del crecimiento ya que, ninguna semilla superó el nivel 1 de germinación (Figura 8 y Figura 3), lo que puede deberse al bajo potencial hídrico causado por las altas cantidades de sales en el medio de cultivo MS (Tombion et al., 2023), las elevadas concentraciones de solutos generan un desequilibrio en el potencial osmótico de la semilla, haciendo que los medios de cultivo con altas cantidades de sales sean comparables a suelos con escasez de agua (Lamz y González, 2013), por tanto terminan inhibiendo la germinación.



El tratamiento MS 2 fue excluido del posterior análisis estadístico, para las demás variables dependientes planteadas, ya que ningún explante de este tratamiento superó el nivel 1 de germinación, mostrando inhibición de crecimiento a altas concentraciones de sales MS.

#### ***Variables en función de tratamientos germinados (nivel 5)***

Para las variables longitud de tallo, longitud de raíz y días a la geminación de nivel 5 se encontró diferencia significativa entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ); mientras que, la variable de contaminación no presentó diferencia significativa entre los tratamientos evaluados (Tabla 5).

#### **3.1.2 Longitud de raíz y tallo**

Los resultados obtenidos en esta fase muestran que el tratamiento MS 1 (50 %) es el más efectivo en el desarrollo radicular, la longitud de raíz muestra una diferencia de 1,42 cm entre los tratamientos con mayor (MS 1) y menor longitud de raíz (B5-2) (Tabla 5). El nitrato de potasio como fuente de nitrógeno y potasio, contenido tanto en las sales MS como en B5 favorecen el desarrollo de raíces, sin embargo, el exceso de estas puede perjudicar la absorción de nutrientes (Mállap et al., 2021). Los resultados obtenidos muestran que concentraciones más altas de sales y por tanto de nitrato de potasio, puede llegar a inhibir o frenar el crecimiento de

la raíz; en la composición de los medios de cultivo, se observa el mayor contenido de nitrato de potasio en B5 en comparación a MS (Anexo 1), lo que concuerda con lo observado en las medias obtenidas de los tratamientos MS 1, B5-1 y B5-2.

Tabla 5 Medias  $\pm$  E.E. para las variables longitud de tallo, longitud de raíz y días a la germinación (nivel 5).

Tratamiento	Concentración de sales basales	Longitud (cm)		Días a la germinación de nivel 5
		Raíz	Tallo	
MS 1	MS 50 %	4,61 $\pm$ 0,24 <sup>b</sup>	2,57 $\pm$ 0,19 <sup>b</sup>	75,15 $\pm$ 3,15 <sup>b</sup>
B5-1	B5 50 %	3,71 $\pm$ 0,28 <sup>ab</sup>	3,79 $\pm$ 0,22 <sup>a</sup>	53,96 $\pm$ 3,75 <sup>a</sup>
B5-2	B5 100 %	3,19 $\pm$ 0,34 <sup>a</sup>	4,14 $\pm$ 0,26 <sup>a</sup>	49,70 $\pm$ 4,10 <sup>a</sup>

**Nota:** Análisis de varianza (ANOVA). Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).

**E.E.** Error estándar.

Elaborado por: (Los autores., 2024).

Los tratamientos suplementados con B5 mostraron una mayor elongación del tallo (3,79 – 4,14 cm) a diferencia de aquellos complementados con MS, el tratamiento MS 1 (50 %) obtuvo una media de 2,57 cm (Tabla 5), siendo los explantes con menor longitud de tallo reportados. Los bajos niveles de sulfatos de amonio de las sales B5 en comparación a las sales MS, favorecen el desarrollo de las plantas, pues un alto contenido de sales puede llegar a detener el crecimiento (Phillips y Garda, 2019), lo que explica la efectividad del medio de cultivo B5 en el desarrollo del tallo de pitahaya.

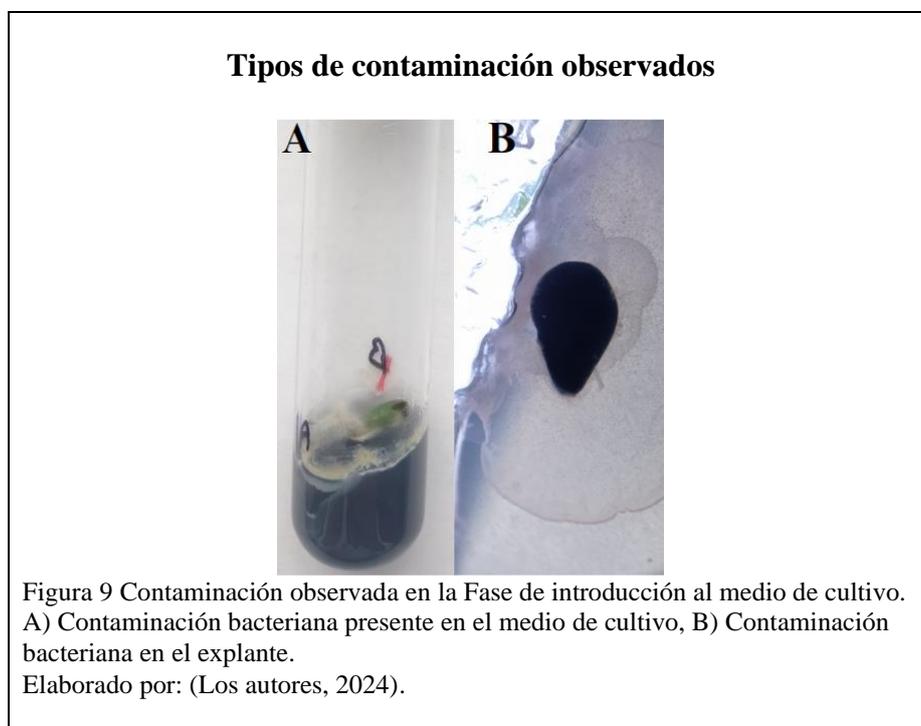
### 3.1.3 Días a la germinación de nivel 5

Los resultados indican que existe diferencia significativa entre los tratamientos MS 1 en comparación con B5-1 y B5-2 (Tabla 5), presentando una diferencia promedio de 23,32 días para alcanzar la germinación de nivel 5; siendo MS 1 el medio con la germinación más tardía (75,15 días). MS fue efectivo para favorecer la germinación, sin embargo su alto contenido de nitratos y su alteración en el equilibrio osmótico de la planta juegan un rol importante en la velocidad de crecimiento, afectando el desarrollo del órgano vegetal de interés (tallos),

provocando una baja elongación del tallo en función del tiempo; a diferencia del medio B5, que debido a sus concentraciones de vitaminas, macro y micronutrientes favorecen el desarrollo vegetal, obteniendo tallos más largos en menos tiempo (Ledea et al., 2020).

### 3.1.4 Porcentaje de contaminación

Los datos obtenidos de contaminación no fueron significativamente diferentes entre tratamientos, alcanzando un máximo de 1,75 % de tubos contaminados (Figura 9). Los explantes contaminados fueron descartados.



### 3.2 Fase II: Multiplicación

A continuación, se presentan los resultados de exponer explantes de pitahaya a diferentes concentraciones de nanopartículas de óxido de Zinc (NPZnO), en función de los dos explantes evaluados: apical y basal.

### 3.2.1 Explante apical

Se obtuvo que, para la longitud de raíz y tallo, los tratamientos Zn 4, Zn 3 y Zn 2 fueron significativamente diferentes en comparación a Zn 0 y Zn 1 ( $p \leq 0,05$ ).

#### 3.2.1.1 Longitud de raíz

Para el enraizamiento, los tratamientos Zn 4, Zn 3 y Zn 2, es decir los medios de cultivo adicionados con NPsZnO 2, 1,5 y 1 ppm, respectivamente, fueron los mejores, presentando una longitud de raíz entre 5,10 y 3,60 cm; mientras, que los tratamientos sin nanopartículas Zn 0 (control) y su menor concentración Zn 1 (0,5 ppm), obtuvieron raíces de menor longitud (Tabla 6). Los resultados obtenidos mostraron que las concentraciones más altas de nanopartículas promueven la formación y la elongación de las raíces en los explantes apicales. Calderón (2018) y Ortiz (2022), mencionan que las NPsZnO pueden actuar como un fertilizante, favoreciendo el crecimiento de las raíces y la salud en general de la planta debido a su papel como micronutriente esencial.

Tabla 6 Medianas para las variables longitud de raíz y longitud de tallo en explantes apicales.

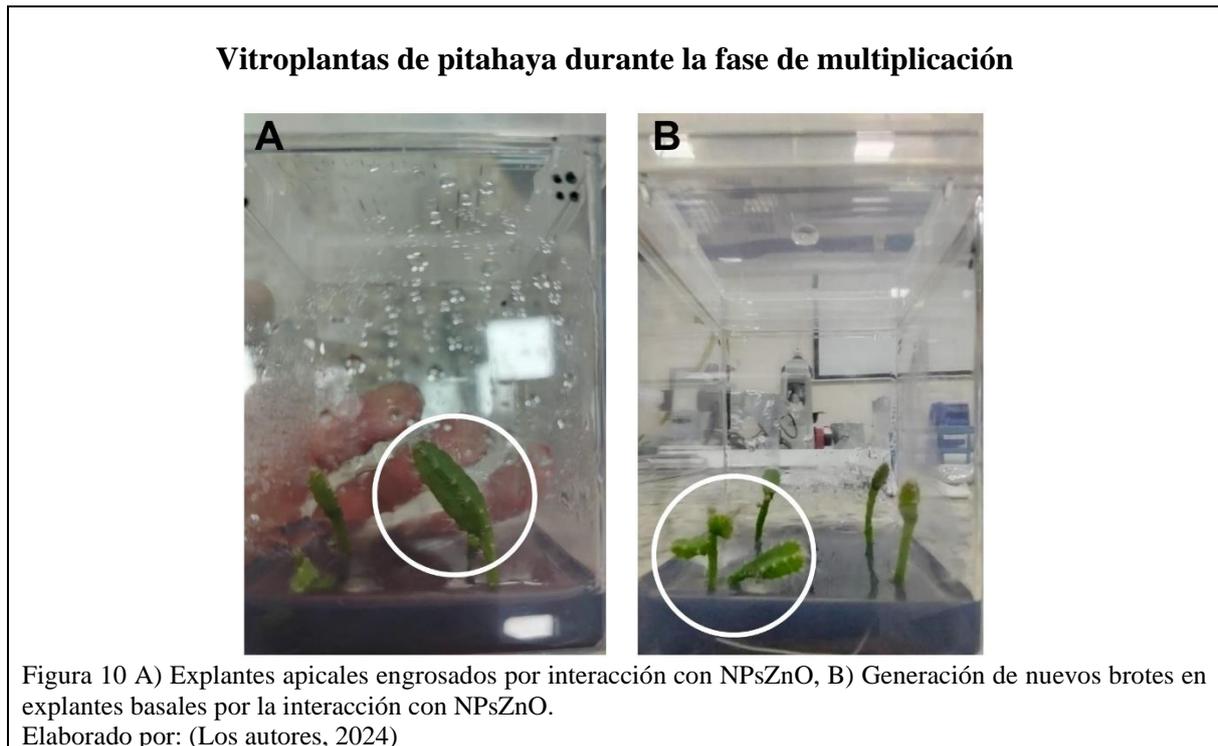
Tratamientos	Concentración de NPsZnO (ppm)	Medianas	
		Longitud de Raíz (cm)	Longitud de Tallo (cm)
Zn 0	0	0,30 <sup>a</sup>	1,60 <sup>a</sup>
Zn 1	0,5	0,30 <sup>a</sup>	1,70 <sup>a</sup>
Zn 2	1	4,50 <sup>b</sup>	3,00 <sup>b</sup>
Zn 3	1,5	3,60 <sup>ab</sup>	2,40 <sup>b</sup>
Zn 4	2	5,10 <sup>b</sup>	3,70 <sup>b</sup>

**Nota:** Prueba de Kruskal-Wallis. Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
Elaborado por: (Los autores, 2024)

#### 3.2.1.2 Longitud de tallo

El análisis de la longitud de los tallos en explantes apicales mostró que los tratamientos Zn 4, Zn 3 y Zn 2 son similares entre sí (Tabla 6). El tratamiento Zn 4 con 2 ppm de NPsZnO presentó una mediana de 3,70 cm, seguido por los tratamientos Zn 3 y Zn 2, con medianas de longitud de tallo de 2,40 cm y 3,00 cm, respectivamente. Según lo reportado por Méndez y colaboradores

(2016), a mayores concentraciones de NPsZnO se obtiene mayor longitud y grosor de tallos, lo que evidencia que el uso de concentraciones específicas de nanopartículas puede influir en el crecimiento y la generación de tallo. Se observó que a niveles más altos de nanopartículas se produce mayor elongación tanto de raíz como de tallo, siendo Zn 1 y Zn 0 los peores tratamientos en esta fase.



### 3.2.2 Explante basal

La variable número de brotes generados, presentó diferencia significativa entre tratamientos ( $p \leq 0,05$ ); mientras que, para la variable de longitud de raíz no se observa diferencia significativa entre los tratamientos.

#### 3.2.2.1 Longitud de raíz

La generación de raíces fue uniforme alcanzando longitudes similares (

Tabla 7), lo que indica que los tratamientos no son estadísticamente diferentes para esta variable.

Tabla 7 Medias  $\pm$  E.E. para las variables longitud de raíz y número de brotes en explantes basales.

Tratamientos	Concentración de NPsZnO (ppm)	Medias $\pm$ E.E.	
		Longitud de Raíz (cm)	Número de brotes
Zn 0	0	2,41 $\pm$ 0,68 <sup>a</sup>	1,40 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>
Zn 1	0,5	3,34 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	2,73 $\pm$ 0,29 <sup>b</sup>
Zn 2	1	4,56 $\pm$ 0,72 <sup>a</sup>	2,11 $\pm$ 0,32 <sup>ab</sup>
Zn 3	1,5	3,09 $\pm$ 0,60 <sup>a</sup>	2,62 $\pm$ 0,27 <sup>b</sup>
Zn 4	2	4,35 $\pm$ 0,65 <sup>a</sup>	2,18 $\pm$ 0,29 <sup>ab</sup>

**Nota:** Análisis de varianza (ANOVA). Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
**E.E.** Error estándar.

Elaborado por: (Los autores, 2024).

### 3.2.2.2 Número de brotes

En cuanto a la generación de brotes en explantes basales, los tratamientos Zn 4, Zn 3, Zn 2 y Zn 1 (2, 1,5, 1 y 0,5 ppm) presentaron la mayor cantidad de brotes generados (Tabla 7, Figura 10). El tratamiento Zn 0 (0 ppm) presentó el menor índice de multiplicación (IM= 1,4). El uso de nanopartículas de óxido de zinc en la agricultura puede aumentar el rendimiento de los cultivos (Méndez et al., 2016; Soriano et al., 2018).

Tomando como ejemplo la pitahaya amarilla, las investigaciones muestran que concentraciones más altas de óxido de zinc no solo promueven el crecimiento del tallo, sino que también promueven la persistencia y la fuerza estructural de la planta (Rivera et al., 2021). Calderón (2018), menciona que este efecto puede estar relacionado con la interacción de las nanopartículas y las concentraciones con el sistema de transporte de nutrientes en las plantas, lo que aumenta la eficiencia de absorción y transporte de elementos esenciales; además, González (2020) y Urbina (2018), en sus estudios comentan que las nanopartículas de óxido de zinc tienen propiedades antifúngicas y antibacterianas que protegen a las plantas de patógenos y enfermedades y promueven su salud general.

Cabe mencionar que, respecto a la fuente de los explantes, aquellos de origen apical no generan nuevos brotes, pero tienden a elongar y engrosar su tallo; mientras que, los explantes basales

tienden a generar nuevos brotes (Figura 10), lo que concuerda con los resultados reportados por Chuncho y colaboradores (2019).

### 3.3 Fase III: Aclimatación

Las variables evaluadas en esta fase no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.

#### 3.3.1 Supervivencia

Se registró una supervivencia del 100 % de las plántulas que pasaron a la fase *ex vitro*, todos los sustratos evaluados mostraron resultados positivos. Los resultados obtenidos concuerdan con Llerena (2020), quien reporta haber evidenciado la capacidad de adaptación de la pitahaya, ya que es adaptable a cualquier tipo de sustrato. La naturaleza suculenta del tallo de la pitahaya permite superar fácilmente la fase de aclimatación en comparación a otras especies; las cactáceas provenientes de un cultivo *in vitro* pueden alcanzar un porcentaje de supervivencia entre el 50 y 100% en la fase de adaptación *ex vitro* (Pérez, 2011).

#### 3.3.2 Longitud de raíz y longitud de tallo

Se evidencia la efectividad de todos los sustratos en el desarrollo de las plántulas. La longitud de raíz muestra una diferencia de 0,44 cm entre los tratamientos (T1) y (T2); mientras que, la longitud de tallo tuvo una diferencia de 1,64 cm entre los tratamientos (T1) y (T2) (Tabla 8).

Tabla 8 Medias  $\pm$  E.E. para las variables de longitud de raíz y longitud de tallo en la fase de adaptación a sustrato.

Tratamientos	Proporciones de sustratos	Medias $\pm$ E.E.	
		Longitud de Raíz (cm)	Longitud de Tallos (cm)
T1	Turba 100 %	3,28 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>	6,93 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>
T2	Turba 75 % + Cascarilla 25 %	2,84 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>	5,29 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>
T3	Turba 50 % + Cascarilla 50 %	3,08 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>	6,70 $\pm$ 0,54 <sup>a</sup>

**Nota:** Análisis de varianza (ANOVA). Valores con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0,05$ ).  
**E.E.** Error estándar.

Elaborado por: (Los autores, 2024).

La utilización de esta combinación de sustratos ha demostrado ser eficaz para mejorar la longevidad de las plantas durante esta fase crucial de adaptación. Según Gavilán (2015), la turba promueve a la elongación de tallo y según Quintero y colaboradores (2013), la cascarilla de arroz beneficia el drenaje favoreciendo la formación de la raíz.

#### 4. Conclusiones

Las sales basales MS a una concentración del 50 % presentaron el mayor porcentaje de germinación en comparación con los demás tratamientos, alcanzando el 40,38 %. Sin embargo, las sales B5-1 (50 %) y B5-2 (100 %) fueron mejores ya que su germinación fue precoz (49,70 a 53,96 días) y, presentaron la mayor longitud de tallo alcanzando medias de 3,79 cm y 4,14 cm, respectivamente.

Durante la fase de multiplicación, los explantes apicales presentaron resultados favorables en el medio de cultivo Gamborg (B5) adicionado con NPsZnO. El tratamiento Zn 4 (2 ppm) alcanzó medianas de 5,10 cm para la longitud de raíz y 3,70 cm para longitud de tallo; mientras que, para los explantes basales el tratamiento Zn 2 (1 ppm) obtuvo medias de 4,56 cm de longitud de raíz y alcanzó un índice de multiplicación de 2,73 brotes.

Para los explantes basales los tratamientos suplementados con NPsZnO presentaron mayor generación de brotes nuevos. Los tratamientos Zn 1, Zn 2, Zn 3 y Zn 4 alcanzaron un índice de multiplicación entre 2,11 y 2,73 brotes por explante; mientras que, para la longitud de raíz no se observó diferencia significativa.

Para la fase de adaptación *ex vitro* no se encontró diferencias significativas entre tratamientos. Se observó una supervivencia del 100 % de las plántulas en todos los sustratos, evidenciando plantas sanas de color característico. La longitud de raíz y tallo fueron similares en todos los tratamientos.

## 6. Bibliografía

- Aguilar, G. (2015). *Evaluación de tres enraizantes y dos tamaños de cladodios en la propagación asexual de pitahaya amarilla Cereus triangularis (L.) haw., en Yantzaza*. Universidad Nacional de Loja.
- Alvarez, J. and Pozo, M. (2021). *DESARROLLO DE UN PROTOCOLO PARA EL CULTIVO IN VITRO DE Rosa chinensis*. Universidad Politécnica Salesiana.
- Azanza, J. (2022). *Efectos del hongo Alternaria sp. en el cultivo de pitahaya (Hylocereus spp.) en el Ecuador*. Universidad Técnica de Babahoyo.
- Calderón Ramírez, S. (2018). *Nanopartículas de Óxido de zinc (NPsZnO) y su Efecto en el Vigor de Germinación y otros Parámetros determinados en Plántulas de Pepino (Cucomis sativus L.)* [Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/43491>
- Cañal, M., Rodríguez, R., Fernández, B., Sánchez, R. and Majada, J. (2001). Fisiología del cultivo in vitro. *Biotecnología Vegetal, 1*.
- Castilla, Y. (2005). CULTIVO DE TEJIDOS DE ROSAS (Rosa sp): UN ACERCAMIENTO A INVESTIGACIONES RECIENTES. *Cultivos Tropicales, 26*, 43–47. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193216160006>
- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*.
- Castillo-Martínez, R., Livera-Muñoz, M. and Márquez-Guzmán, G. (2005). *Colegio de Postgraduados. 39*, 183–194. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30239206>
- Cevallos, K. (2022). *Caracterización morfológica en el cultivo de pitahaya (Hylocereus spp) en el Ecuador*.

- Chuncho, G., Chuncho, C. and Aguirre, Z. (2019). Anatomía y morfología vegetal. *Universidad Nacional de Loja*, 1(134), 2012–2019.
- Corrales, J. (2014). *Nanopartículas de Cobre y de Óxido de Zinc como Antifúngicos contra Botrytis cinerea in vitro e in vivo en Frutos de Tomate durante Poscosecha*.
- Esparza, E. L. (2015). *Actividad Antimicrobial de Nanopartículas de Cobre y Óxido de Zinc contra Hongos y Bacterias Fitopatógenas*.
- Gamborg, O. L., Murashige, T., Thorpe, T. A. and Vasil, I. K. (1976). Plant tissue culture media. *In Vitro*, 12(7), 473–478. <https://doi.org/10.1007/BF02796489/METRICS>
- García-Rubio, L. A., Vargas-Ponce, O., Ramírez-Mireles, F. D. J., Munguía-Lino, G., Corona-Oceguera, C. A. and Cruz-Hernández, T. (2015). Distribución geográfica de *Hylocereus* (Cactaceae) en México. *Botanical Sciences*, 93(4), 921–939. <https://doi.org/10.17129/botsci.282>
- Gavilán, M. U. (2015). *Manual práctico del cultivo sin suelo e hidroponía*. <https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=5NE9CwAAQBAJ&oi=fnd&pg=P1&dq=Manual+de+cultivo+sin+suelo&ots=VefZFQAYwL&sig=Cecxe6yEmq6XhiUE3d7zeCykFuM>
- González, A. M. (2020). *ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC EN EL PATOSISTEMA *Fusarium oxysporum*-*Solanum lycopersicum* BAJO CONDICIONES CONTROLADAS*.
- Gusmiaty, Syamsinar, Restu, M., Iswanto, Aida, N. and Larekeng, S. H. (2023). Effectiveness of media B5 (Gamborg) for multiplication of *Sengon* (*Paraserianthes falcataria* L. Nielsen) in vitro. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1253(1), 012048. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1253/1/012048>

INIAP. (2022). *INFORME ANUAL DE GESTIÓN 2021*.

Jiménez, J. (2022). *EVALUACIÓN IN VITRO DE AISLADOS DE Trichoderma spp. SOBRE EL CRECIMIENTO DE Alternaria sp., EN Selenicereus sp. (PITAHAYA), EN LA JOYA DE LOS SACHAS*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Kim, J.-S., Park, C.-Y., Nam, Moon, Lee, J., Kim, H. and Lee, S.-H. (2016). First Report of Cactus virus X Infecting *Hylocereus undatus* in Korea. *Plant Disease*, 100. <https://doi.org/10.1094/PDIS-06-16-0889-PDN>

Kondo, T., Martínez, M., Medina, J. A., Rebolledo Roa, A. and Cardozo Burgos, C. (2013). *Tecnología para el manejo de pitaya amarilla Selenicereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia* Comité editorial. [www.corpoica.org.co](http://www.corpoica.org.co)

Lalelo, Liliana and Corella, J. (2023). *Evaluación de sistemas biotecnológicos de pitahaya (Hylocereus megalanthus) como sustituto alimentario*. Universidad Técnica de Ambato.

Lamz, A. and González, M. (2013). La salinidad como problema en la agricultura: la mejora vegetal una solución inmediata. *Cultivos Tropicales*, 34(4), 31–42. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362013000400005&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362013000400005&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Ledeá, J., Reyes, J., Castellanos, T., Angulo, C., Reynoso, T. and Alcaraz, L. (2020). Evaluación de la germinación, desarrollo y multiplicación in vitro de *Moringa oleifera* Lam en diferentes medios de cultivos. *SERBILUZ*.

Llerena, Á. (2020). *Agricultura digital en el cultivo de Pitahaya*. 26–27.

MAG. (2017). *Boletín situacional de pitahaya*. <http://sipa.agricultura.gob.ec>

- Mállap, G., Vilca, N. C., Meléndez-Mori, J. B., Huaman-Huaman, E. and Oliva, M. (2021). Multiplicación in vitro de pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*) a partir de plántulas obtenidas in vitro. *Agronomía Mesoamericana*, 45472. <https://doi.org/10.15517/am.v33i1.45472>
- Melgarejo, P., Romagosa, I. and Duran, N. (2014). Biotecnología agrícola. *Arbor*, 190(768), a152. <https://doi.org/10.3989/arbor.2014.768n4006>
- Méndez Argüello, B., Vera Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L. A., Puente-Urbina, B. A., Lira-Saldívar, R. H., Méndez-Argüello, B., Vera-Reyes, I., Mendoza-Mendoza, E., García-Cerda, L. A., Puente-Urbina, B. A. and Lira-Saldívar, R. H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annuum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Nova Scientia*, 8(17), 140–156. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-07052016000200140&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-07052016000200140&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
- Méndez, B., Vera, I., Mendoza, E., García, L., Puente, B. and Lira, R. (2016). *Promoción del crecimiento en plantas de Capsicum annuum por nanopartículas de óxido de zinc.*
- Méndez Mota, R. (2021). *Actividad Antifúngica in vitro de Nanopartículas de Óxido de Zinc como Alternativa de Control de Alternaria alternata.*
- MERCK. (2024). *Gamborg's B-5 Basal Salt Mixture.*
- Millones Chanamé, C. E. and Vásquez Castro, E. R. (2023). Intensidad de la luz y sacarosa en la respuesta morfo-fisiológica in vitro de plántulas *Selenicereus megalanthus* (Haw.). *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 25(3), 140–147. <https://doi.org/10.18271/ria.2023.528>

- Montiel, L., Enríquez, J. and Cisneros, A. (2016). *Propagación in vitro de Hylocereus monacanthus (Lem.) Britton y Rose*.  
[https://www.researchgate.net/publication/346793860\\_Propagacion\\_in\\_vitro\\_de\\_Hylocereus\\_monacanthus\\_Lem\\_Britton\\_y\\_Rose](https://www.researchgate.net/publication/346793860_Propagacion_in_vitro_de_Hylocereus_monacanthus_Lem_Britton_y_Rose)
- MPCEIP. (2023). *Pitahaya rompe récord en exportaciones con más de USD 172 millones, en 2023*. Ministerio de Producción Comercio Exterior Inversiones y Pesca.
- Mroginski, L. A. and Roca, W. M. (1991). Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales in vitro. *Cultivo de Tejidos En La Agricultura: Fundamentos y Aplicaciones*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia, 19–40.
- Nabor, A. (2020, February). *Qué es la pitahaya y cuáles son sus beneficios para la salud*. El Universo.
- Navarro, B. and Canales, E. (2021). Efecto de diferentes concentraciones de benzilaminopurina (BAP) sobre el establecimiento in vitro de pitahaya (*Hylocereus guatemalensis*). *REVISTA DE INNOVACIÓN Y TRANSFERENCIA PRODUCTIVA*, 2(1), e002. <https://doi.org/https://doi.org/10.54353/ritp.v2i1.e002>
- Núñez, A. (2014). *Edad adecuada de cosecha de brotes obtenidos mediante la eliminación de dominancia apical en cormos de banano isal (musa acuminata x musa balbisiana) ABB en la zona de Satipo*.
- Ortiz, H. (2022). *PROPAGACIÓN DE PITAHAYA AMARILLA (Hylocereus megalanthus)*.
- Ortiz, L. (2020). Efecto de tres mezclas de sustrato en la propagación de pitahaya amarilla (*selenecereus megalanthus*) por estacas bajo condiciones de invernadero en el distrito de Independencia - provincia de Huaraz – departamento de Ancash-2019.

*Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo.*

<http://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/4080>

Paredes, S. (2021). *FENOLOGÍA REPRODUCTIVA DE DOS ESPECIES DE PITAHAYA: ROJA (Hylocereus undatus Britt et Rose) Y AMARILLA (Hylocereus megalanthus), EN EL CANTÓN ROCAFUERTE.*

Peña, A. (2022). *Enfermedades que afectan al cultivo de pitahaya (Selenicereus undatus).* Universidad Técnica de Babahoyo.

Pérez, E. and Dávila, C. (2002). In vitro propagation of *Pelecypora aselliformis* Ehrenberg and *P. strobiliformis* Werdermann (Cactaceae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 38(1), 73–78.  
<https://doi.org/10.1079/IVP2001248/METRICS>

Pérez, J. (2011a). *MICROPROPAGACIÓN DE Hylocereus megalanthus (K. SCHUM. EX VAUPEL) RALF BAUER E Hylocereus undatus (HAWORTH) BRITTON Y ROSE, Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BROTES MEDIANTE RAPDs.*

Pérez, J. (2011b). *MICROPROPAGACIÓN DE Hylocereus megalanthus (K. SCHUM. EX VAUPEL) RALF BAUER E Hylocereus undatus (HAWORTH) BRITTON Y ROSE, Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE BROTES MEDIANTE RAPDs.*

Phillips, G. C. and Garda, M. (2019). Plant tissue culture media and practices: an overview. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 55(3), 242–257.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>

Quintero, M., Guzmán, J. and Valenzuela, J. (2013). Evaluación de sustratos alternativos para el cultivo de miniclavel (*Dianthus caryophyllus* L.). *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 6(1), 76–87. <https://doi.org/10.17584/rcch.2012v6i1.1281>

- Rebollar, Á. (2016). *Cultivo de la pitaya (Stenocereus sp): una alternativa para el trópico seco del estado de Michoacán* (2nd ed.).
- Renneberg, R. (2023). Green Biotechnology. In *Biotechnology for Beginners* (pp. 241–290). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85569-3.00017-9>
- Restrepo, J., Sánchez, R., Gallego, J., Beltrán, C., Soto, C. and Nieto, F. (2012). *Manejo fitosanitario del cultivo de la pitahaya Hylocereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer. Medidas para la temporada invernal.*
- Retana Sánchez, K., Blanco Meneses, M. and Castro Zúñiga, O. (2018). Etiología del cáncer del tallo provocado por *Neoscytalidium dimidiatum* (penz) en *Hylocereus costaricensis*, en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. <https://doi.org/10.15517/rac.v43i1.35646>
- Retana Sánchez, K., Castro Zúñiga, O., Blanco Meneses, M. and Quesada González, A. (2019). Etiología de las pudriciones en el tallo de *Hylocereus costaricensis*, provocadas por *Enterobacter hormaechei*, en Costa Rica. *Agronomía Costarricense*. <https://doi.org/10.15517/rac.v43i2.37949>
- Rivera, R. G., Preciado, P., Fortis, M., Betancourt, R., Yescas, P. and Orozco, J. (2021). *Nanopartículas de óxido de zinc y su efecto en el rendimiento y calidad de melón.*
- Roca, W. M., Mroginski, L. A., Krikorian, A. D., Szabados, L., Núñez, V. M., Roa, J. and Mafla, G. (1991). *Cultivo de Tejidos en la Agricultura* (W. M. Roca and L. A. Mroginski, Eds.). CIAT.
- Salazar, C., Serna, L. and Gómez, E. (2016). Caracterización molecular de *Fusarium* asociado a pudrición basal del fruto en pitahaya (*Selenicereus megalanthus*). *Agronomía Mesoamericana*, 27(2), 277. <https://doi.org/10.15517/am.v27i2.21269>

- Santarrosa, V. P. (2013). *EVALUACIÓN NUTRICIONAL COMPARATIVA DE PITAHAYA (Hylocereus triangularis) DESHIDRATADA EN DESHIDRATADOR DE BANDEJAS CON LA LIOFILIZADA.*
- Segovia, C. P., Gaona, E. G., Peñuelas-Rubio, O., Covarrubias, J. M., Aguilar, L. P. and Argente-Martínez, L. (2024). *El Nopal: principales plagas y enfermedades del nopal en México.* Pantanal Editora. <https://doi.org/10.46420/9786585756204>
- Soriano Melgar, L., López-Guerrero, A., Cortéz-Mazatan, G., Mendoza-Mendoza, E. and Peralta-Rodríguez, R. (2018). *NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC y ÓXIDO DE ZINC/GRAFENO EMPLEADAS EN SOLUCIONES FLOREO DURANTE LA VIDA POSCOSECHA DE LISIANTHUS (Eustoma grandiflorum)* (Vol. 11).
- Suárez, C., Pico, J. T., Caicedo V., C. and Delgado, A. (2019). Poster: Prospección de enfermedades fúngicas sobre pencas de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) en el cantón Palora. *INIAP*. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5390>
- Suárez, C. W., Pico, J. T., Delgado, A. G. and Caicedo V., C. (2019). Poster: Identificación del agente causal de la pudrición del pie de pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*) en el cantón Palora. *Memorias Del II Simposio Internacional Producción Integrada de Frutas*. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5413>
- Suarez, M. J. (2017). *“ESTABLECIMIENTO Y CALLOGÉNESIS IN VITRO DE PITAHAYA AMARILLA HYLOCEREUS MEGALANTHUS (K. SCHUM. EX VAUPEL) RALF BAUER Y PITAHAYA ROJA HYLOCEREUS UNDATUS. (HAW.) BRITTON & ROSE”.*
- Suárez, R., Caetano, C., Ramírez, H. and Morales, J. (2014). *Multiplicación de Selenicereus megalanthus (pitahaya amarilla) e Hylocereus polyrhizus (pitahaya roja) vía organogénesis somática Multiplication of Selenicereus megalanthus (yellow*

*pitahaya) and Hylocereus polyrhizus (red dragon fruit) by somatic organogenesis view.*

Teisher J, S. H. (2024). *Datos de muestras de Tropicos MO. Pitman - 594 - Ecuador.* Gfi

Tombion, L., Coviella, M. A., Pannunzio, M. J., Soto, M. S. and Bologna, P. (2023).

Germinación in vitro de Calibrachoa thymifolia y Calibrachoa missionica nativas de la Argentina. *Revista Tecnología En Marcha.*

<https://doi.org/10.18845/tm.v36i3.6142>

Tuanama, K. (2021a). *Propagación asexual de dos especies de pitahaya (Hylocereus undatus (Haw.) Britton & Rose, Hylocereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Ralf Bauer), haciendo uso de tres sustratos en condiciones de vivero.*

Tuanama, K. (2021b). *UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO CONCURSO DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN PARA TESIS A NIVEL DE PREGRADO 2020 Tesis para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo Kirchen Lleli Tuanama Shupingahua ASESOR.*

Urbina, J. E. (2018). *INFLUENCIA DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC SOBRE LA CALIDAD FISIOLÓGICA Y SANITARIA DE LA SEMILLA DE MAÍZ NATIVO (Zea mays L.) TESIS QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE: INGENIERO AGRÓNOMO PRESENTA.*

Vallejo, F. and Estrada, E. (2002). *Mejoramiento Genético de Plantas (Vol. 1).* DIPAL.

- Vargas, A. (2009). *Alternativas naturales para el control de A{fernaria chrysanthemi Simmons & CTosier*. Centro de investigación científica de Yucatán.
- Verona-Ruiz, A., Urcia-Cerna, J. and Paucar-Menacho, L. (2020). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Culture, physicochemical characteristics, nutritional composition, and bioactive compounds. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 439–453. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.16>
- Vitela, M. (2019). *EVALUACIÓN DE ACEITES VEGETALES COMO ALTERNATIVA DE CONTROL PARA ARAÑA ROJA (Tetranychus urticae Koch, 1836) EN CACTÁCEAS ORNAMENTALES*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Zambrano, J. and Guillen, S. (2022). *Propagación asexual en pitahaya roja (Hylocereus Undatus) y amarilla (Selenicereus megalanthu) en el valle del rio carriza*. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí.
- Zeledón Matute, E. E. and Arauz Andino, B. A. (2020). *Micropropagación de pitahaya amarilla (Hylocereus undatus) a partir de semilla botánica*.

## Anexos

<b>Composiciones de sales basales</b>		
Componente	Cantidad (mg/L)	
	Murashige & Skoog (MS)	Gamborg (B5)
Nitrato de amonio	1650.0	-
Sulfato de amonio	-	134.0
Ácido Bórico	6.2	3.0
Cloruro de calcio anhidro	332.2	113.24
Cloruro de cobalto	0.025	0.025
Sulfato cúprico	0.025	0.025
Na <sub>2</sub> -EDTA	37.26	37.25
Sulfato ferroso	27.8	27.8
Sulfato de magnesio	180.7	122.09
Sulfato de manganeso	16.9	10.0
Ácido molibdico	0.25	0.25
Yoduro de potasio	0.83	0.75
Nitrato de potasio	1900.0	2500.0
Fosfato de sodio monobásico	-	13.05
Fosfato de potasio monobásico	170.0	-
Sulfato de Zinc	8.6	2.0

Anexo 1 Composiciones de las sales basales Murashige&Skoog (MS) y Gamborg B5  
Fuente: MERCK (2024).