



“Por un Desarrollo
Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de Tesis

Micropropagación de pitahaya amarilla
(*Hylocereus undatus*) a partir de semilla
botánica

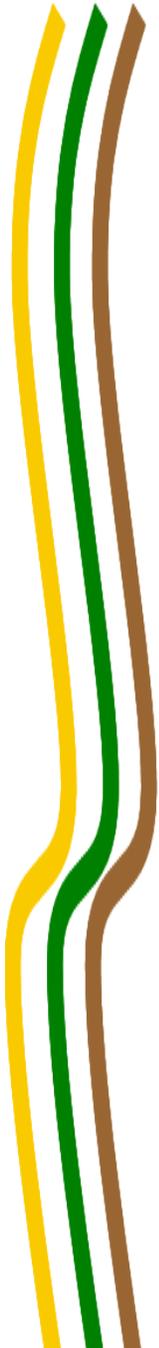
Autores

Br. Elvin Emilio Zeledón Matute
Br. Bernardino Antonio Arauz Andino

Asesores

Ing. MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga
Ing. Harlem Tania Ríos Peralta

Managua, Nicaragua
Octubre, 2020





“Por un Desarrollo
Agrario
Integral y Sostenible”

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

Trabajo de Tesis

Micropropagación de pitahaya amarilla
(*Hylocereus undatus*) a partir de semilla
botánica

Autores

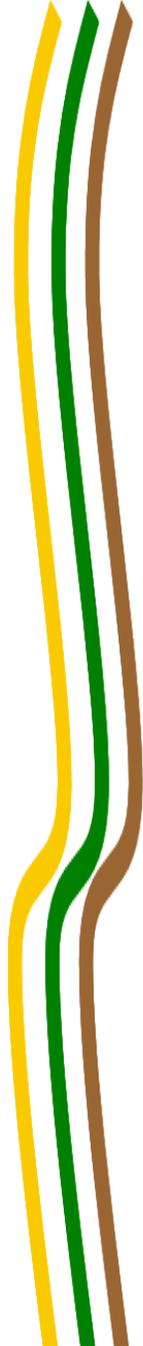
Br. Elvin Emilio Zeledón Matute
Br. Bernardino Antonio Arauz Andino

Asesores

Ing. MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga
Ing. Harlem Tania Ríos Peralta

Presentado a la consideración del honorable tribunal
examinador como requisito final para optar al grado
de Ingeniero Agrónomo

Managua, Nicaragua
Octubre, 2020



Hoja de aprobación del Tribunal Examinador

Este trabajo de graduación fue evaluado y aprobado por el honorable Tribunal Examinador designado por el Decanato de la Facultad de Agronomía como requisito final para optar al título profesional de:

Ingeniero Agrónomo

Miembros del Tribunal Examinador



Presidente (**MSc. Martha del Rosario Gutiérrez Castillo**)



Secretario (**MSc. Roxana Cruz Cardona**)



Vocal (**Ing. Luis Enrique Ruiz Obando**)

Lugar y Fecha: Managua 12 de octubre del 2020

DEDICATORIA

El presente trabajo de investigación, es dedicado a Dios por darme la sabiduría y haberme permitido culminar una de mis más grandes metas propuestas en mi vida.

A mi padre Tomas Emilio Zeledón Palacio y a mi madre Reyna Isabel Matute Chavarría; quienes me han brindado todo su apoyo y confianza durante momentos difíciles en el transcurso de mi carrera.

A mis asesores MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga e Ing. Harlem Tania Ríos Peralta, por el apoyo incondicional que nos han brindado durante la realización de la investigación.

Br. Elvin Emilio Zeledón Matute

A DIOS todo poderoso por su inmensa misericordia, el rey de reyes y señor de señores.

A Bernardino Arauz Benavidez y Dolores Centeno Tinoco, por brindarme consejos que me ayudaron a finalizar mi carrera.

A los asesores: Ing. MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga e Ing. Harlem Tania Ríos Peralta por ser parte en todo el proceso de la investigación.

Br. Bernardino Antonio Arauz Andino

AGRADECIMIENTO

Primeramente, le agradezco a Dios Todopoderoso por darme la vida, salud, entendimiento y por guiarme por el buen camino.

Agradezco a mis padres Tomas Emilio Zeledón Palacio y Reyna Isabel Matute Chavarría por estar siempre a mi lado en los buenos y malos momentos, por sus consejos los que me han permitido seguir adelante.

A nuestros asesores MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga e Ing. Harlem Tania Ríos Peralta por su apoyo constante en nuestro trabajo. Le agradezco a Ing. Roxana Yadira Cruz Cardona por apoyarnos en momentos que necesitamos de su colaboración.

A mis amigos con quienes compartí una amistad por más de cinco años en la UNA, a los docentes por habernos compartido sus conocimientos y formarnos como profesionales capaces de desempeñarnos en el ámbito laboral.

Br. Elvin Emilio Zeledón Matute

AGRADECIMIENTO

Agradezco a DIOS TODO PODEROSO por darme la sabiduría y entendimiento para salir adelante en mis estudios, por darme la fuerza en los momentos de dificultad.

Filipenses 4:13 Todo lo puedo en Cristo que me fortalece.

Gracias a los familiares que me brindaron su apoyo: Dolores Tinoco, Bernardino Arauz Benavidez, Evaristo José Arauz, Bernarda Arauz, Juana Arauz, Belkis Montenegro, Kamil Ali Portillo Arauz, Oscar Arauz Andino, Judith Antonia Urbina Andino, Rosa Sevilla, Hosman Arauz, Norlan Galo Arauz.

A todos mis compañeros de clases por la amistad brindada en todo el transcurso de la carrera por ser parte de la lucha constante y estar más cerca de la meta, donde unos se rinden otros triunfan; cada uno de ellos son triunfadores.

Los asesores: Ing. MSc. Marbell Danilo Aguilar Maradiaga e Ing. Harlem Tania Ríos Peralta por ser parte en todo el proceso de la investigación y el pilar fundamental para este trabajo investigativo. Agradezco a Ing. Roxana Yadira Cruz Cardona por ayudarnos en el proceso de la investigación y el apoyo incondicional brindado en el inicio del proceso investigativo.

Br. Bernardino Antonio Arauz Andino

INDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
INDICE DE CUADROS	vi
INDICE DE CUADROS	vii
INDICE DE FIGURAS	viii
INDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo general	3
2.2. Objetivos específicos	3
III. MARCO DE REFERENCIA	4
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	12
4.1. Ubicación del estudio	12
4.2. Esterilización de materiales y limpieza de cámara de flujo laminar	12
4.3. Pre-germinación de semillas	12
4.4. Fase de establecimiento	14
4.4.1. Diseño metodológico	15
4.4.2. Variables evaluadas	16
4.5. Fase de multiplicación	16
4.5.1. Diseño metodológico	17
4.5.2. Variables evaluadas	18
4.6. Fase de enraizamiento	18
4.6.1. Diseño metodológico	19
4.6.2. Variables evaluadas	20
4.7. Fase de aclimatación	20
4.7.1. Diseño metodológico	21
4.7.2. Variables evaluadas	22
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23

INDICE DE CONTENIDO

SECCIÓN	PÁGINA
5.1. Fase de establecimiento	23
5.2. Fase de multiplicación	24
5.2.1. Efecto de los medios de cultivo en segmentos apicales de cladodios	25
5.2.2. Efecto de los medios de cultivo en segmentos centrales de cladodios	26
5.2.3. Efecto de los medios de cultivos en el segmento basal del cladodio	27
5.3. Fase de enraizamiento	30
5.3.1. Efecto del AIA en el enraizamiento del segmento apical del cladodio	30
5.3.2. Efecto del AIA en el enraizamiento del segmento central del cladodio	31
5.3.3. Efecto del AIA en el enraizamiento del segmento basal del cladodio	32
5.4. Fase de aclimatación	34
5.4.1. Aclimatación de plantas formadas a partir del corte apical del cladodio	34
5.4.2. Aclimatación de plantas formadas a partir del corte central del cladodio	35
5.4.3. Aclimatación de plantas formadas a partir del corte basal del cladodio	37
5.4.4. Porcentaje de supervivencia de las plantas	39
VI. CONCLUSIONES	42
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. LITERATURA CITADA	44
IX. ANEXOS	49

INDICE DE CUADROS

CUADRO		PÁGINA
1.	Tratamientos de medios de cultivo en fase de establecimiento de plantas obtenidas de cladodios primarios provenientes de semillas pre germinadas <i>in vitro</i>	16
2.	Tratamientos de medios de cultivos en la fase de multiplicación por segmento de cladodio apical, central y basal	18
3.	Medios de cultivos en la fase de enraizamiento por segmento de cladodio apical, central y basal	19
4.	Efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA en cinco variantes de medios de cultivo en pitahaya amarilla, en la fase de establecimiento a las seis semanas	23
5.	Efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA en siete variantes de medios de cultivos en el segmento apical del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de multiplicación a las seis semanas	26
6.	Efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA en siete variantes de medios de cultivos en el segmento central del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de multiplicación a las seis semanas	27
7.	Efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA en siete variantes de medios de cultivos en el segmento basal del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de multiplicación a las seis semanas	28
8.	Efecto de diferentes concentraciones de AIA en cinco variantes de medios de cultivos en el segmento apical del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de enraizamiento a las seis semanas	31
9.	Efecto de diferentes concentraciones de AIA en cinco variantes de medios de cultivos en el segmento central del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de enraizamiento a las seis semanas	32
10.	Efecto de diferentes concentraciones de AIA en cinco variantes de medios de cultivos en el segmento basal del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de enraizamiento a las seis semanas	33
11.	Aclimatación de plantas de pitahaya amarilla, formadas a partir del segmento apical del cladodio a las seis semanas	35

INDICE DE CUADROS

CUADRO	PÁGINA
12. Aclimatación de plantas de pitahaya amarilla, formadas a partir del segmento central del cladodio a las seis semanas	36
13. Aclimatación de plantas de pitahaya amarilla, formadas a partir del segmento basal del cladodio a las seis semanas	38

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. a) Fruto de pitahaya b) Corte diametral del fruto, c) Semillas contenidas en pulpa mucilaginosa, d) Semillas en agua estéril, e) Semillas limpias de mucilago, f) Semillas sobre medio de cultivo en frascos de 220 ml.	14
2. Semillas pre germinadas de pitahaya amarilla en frascos de vidrio de 220 ml.	15
3. a) Cladodio completo. b) Segmento apical. c) Segmento central. d) Segmento basal.	17
4. Cladodios formados en la fase de enraizamiento.	19
5. Plantas de pitahaya amarilla después de la siembra en la fase de aclimatación.	22
6. Fase de multiplicación de pitahaya amarilla a las seis semanas a partir de segmentos de cladodios. a: segmento apical. b: segmento central. c: segmento basal.	30
7. Plantas de pitahaya en la fase de enraizamiento <i>in vitro</i> a las seis semanas. T _n : Tratamientos. a: segmento apical. c: segmento central. b: segmento basal.	34
8. Plantas de pitahaya en fase de aclimatación a las seis semanas.	39
9. Porcentaje de supervivencia de plantas formadas a partir de segmentos apicales, centrales y basales de cladodios de pitahaya amarilla a las seis semanas de aclimatadas.	40

INDICE DE ANEXOS

ANEXO		PÁGINA
1.	Análisis químico del compost utilizado en la fase de aclimatación.	49
2.	Plantas de pitahaya amarilla desarrolladas en la fase de establecimiento.	50

RESUMEN

El estudio de micropropagación en Pitahaya Amarilla (*Hylocereus undatus*), se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos de la Universidad Nacional Agraria (UNA) en el período comprendido entre los meses de septiembre del año 2019 y mayo del 2020. En la fase de establecimiento se utilizaron plántulas provenientes de semillas pre germinadas *in vitro*, para evaluar su respuesta al efecto de cinco tratamientos constituidos por concentraciones de 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA y de 6-BAP adicionadas sin combinación; en la fase de multiplicación se evaluó la respuesta de segmentos de cladodios apicales, centrales y basales a siete tratamientos conformados por concentraciones de 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA y 6-BAP adicionadas solas o combinadas; en la fase de enraizamiento se analizó el efecto de los tratamientos 0.00, 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA en el crecimiento de tres segmentos de cladodios y en la fase de aclimatación se evaluó el efecto residual de los tratamientos empleados durante la fase de enraizamiento. Los experimentos se establecieron en un DCA, se realizó análisis de varianza y para determinar las diferencias entre las medias, la prueba de Duncan para $p \leq 0.05$. En la fase de establecimiento, las medias resultaron superiores en el medio sin reguladores de crecimiento y con adiciones de 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA. En la fase de multiplicación los segmentos apicales y centrales, respondieron mejor a las adiciones de 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP combinado con 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA y los segmentos basales a la adición de 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP combinado con 0.50 mg L⁻¹ de AIA. En la fase de enraizamiento, el número de raíces fue superior con la adición de 0.50, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA en los tres segmentos. En la fase de aclimatación los efectos residuales en segmentos apicales fueron superior en el tratamiento con 1.00 mg L⁻¹ de AIA; con segmentos centrales resultó mejor el tratamiento con 0.50 y 1.00 mg. L⁻¹ de AIA y con segmentos basales la concentración de 0.50 mg L⁻¹ AIA.

Palabras claves: Segmentos de cladodios, medios de cultivo, efecto residual, reguladores de crecimiento.

ABSTRACT

The micropropagation study in Yellow Pitahaya (*Hylocereus undatus*) was carried out in the tissue culture laboratory of the National Agrarian University (UNA) in the period between the months of September 2019 and May 2020. In the phase of In the establishment, seedlings from pre-germinated seeds were used in vitro to evaluate their response to the effect of five treatments consisting of concentrations of 0.50 and 1.00 mg L⁻¹ of IAA and 6-BAP added without combination; In the multiplication phase, the response of apical, central and basal cladode segments to seven treatments conformed by concentrations of 0.50 and 1.00 mg L⁻¹ of IAA and 6-BAP added alone or in combination was evaluated; In the rooting phase, the effect of treatments 0.00, 0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 mg L⁻¹ of IAA on the growth of three cladode segments was analyzed and in the acclimatization phase the residual effect of the treatments used was evaluated. during the rooting phase. The experiments were established in a DCA, analysis of variance was performed and to determine the differences between the means, Duncan's test for $p \leq 0.05$. In the establishment phase, the means were superior in the medium without growth regulators and with additions of 0.50 or 1.00 mg L⁻¹ of IAA. In the multiplication phase, the apical and central segments responded better to the additions of 1.00 mg L⁻¹ of 6-BAP combined with 0.50 or 1.00 mg L⁻¹ of IAA and the basal segments to the addition of 1.00 mg L⁻¹ of 6-BAP combined with 0.50 mg L⁻¹ of IAA. In the rooting phase, the number of roots was higher with the addition of 0.50, 0.75 and 1.00 mg L⁻¹ of IAA in the three segments. In the acclimatization phase, the residual effects in apical segments were higher in the treatment with 1.00 mg L⁻¹ of IAA; with central segments, treatment with 0.50 and 1.00 mg was better. L⁻¹ AIA and with basal segments the concentration of 0.50 mg L⁻¹ AIA.

Keywords: Cladode segments, culture media, residual effect, growth regulators.

I. INTRODUCCIÓN

Montesinos *et al.*, (2015, p. 67-68) refiriéndose al género *Hylocereus*, mencionan que:

Cuenta con 16 especies reconocidas, siendo el cactus trepador de mayor distribución a nivel mundial, presentando gran polimorfismo en el ADN, que permite encontrar una gran variación que probablemente corresponden a una misma especie. Se distribuye geográficamente en sitios donde las condiciones ecológicas son limitantes. El origen de este género se atribuye a las regiones boscosas del trópico y subtrópicos de México, Centro y Sur América.

Castillo *et al.*, (2003) citados por Ortiz, Livera, Carrillo, Valencia y Castillo (2012, p. 362) “en Yucatán México clasificaron clones de *Hylocereus undatus* principalmente basado en el color de la epidermis del fruto, uno presenta color de cascara rosada y otro con epidermis de color amarillo claro con pulpa de fruta mucho más dulce”.

Cáliz de Dios (2004) mencionado por Montesinos *et al.*, (2015, p. 68) destaca que “el principal uso de la pitahaya es alimenticio, sobre todo el fruto, también se informa el consumo de las flores como legumbre y el de los brotes tiernos como hortaliza fresca”. Argueta *et al.*, (1994) citado por Ortiz *et al.*, (2012, p. 360) describen que “los mayas conocían las propiedades hipoglucémicas, diuréticas y curativas de su fruto, brote, raíz y flor, que fueron ocasionalmente mezclado con otras plantas”.

En Nicaragua actualmente no se reporta la existencia de plantaciones comerciales de pitahaya amarilla, siendo las posibles causas la alta preferencia por el consumo de pitahaya roja, la inexistente promoción para insertar los frutos de pitahaya amarilla en el mercado nacional y la carencia de material de propagación.

Montesinos *et al.*, (2015) señalan que la principal forma de propagación de la pitahaya:

Es vegetativa, por medio de tallos, esquejes o cladodios, de forma natural mediante la división de los tallos y en el caso de plantas cultivadas, a través de trasplante directo en el terreno definitivo o su colocación en bolsas con sustrato hasta la formación de nuevos tallos (párr. 27).

Montiel, Enríquez y Cisneros (2016, párr. 1) concluyeron que “la aplicación del cultivo de tejidos contribuye a la propagación rápida y masiva de especies con importancia económica y sirve como plataforma básica de las estrategias de producción”. Ojeda *et al.*, (2012, p. 121) mencionan que “la multiplicación *in vitro* permite la conservación del germoplasma y el incremento de la diversidad genética”.

De acuerdo a lo descrito por Avalos (2010, p. 1-2) “los cultivos *in vitro* pueden iniciarse a partir de cualquier parte de la planta (tallo, hoja, semillas, fruto, embrión, cotiledones, raíz, etc.); comúnmente se seleccionan aquellas partes de las plantas que se encuentran en división activa, como las regiones meristemáticas”.

Aunque en Nicaragua la pitahaya amarilla se localiza en áreas de siembra reducidas, es importante que se realicen estudios a partir de plantas obtenidas de semilla sexual, siendo la vía en que se logra expresar la variabilidad genética existente, permitiendo la selección de plantas con características genéticas superiores.

El presente estudio de micropropagación de pitahaya amarilla a partir de semilla sexual, realizado en el laboratorio de cultivo de tejido de la Universidad Nacional Agraria (UNA, 2019-2020), permitirá obtener plantas que expresen la variabilidad genética, garantizando que se mantenga mediante la propagación clonal con segmentos apicales, centrales y basales de cladodios producidos por plantas *in vitro*.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la micropropagación de pitahaya amarilla (*Hylocereus undatus*), en las fases de establecimiento, multiplicación por cladodios, enraizamiento y aclimatación.

2.2. Objetivos específicos

Evaluar en la fase de establecimiento el efecto de concentraciones de 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA y de 6-BAP adicionadas sin combinación en plantas obtenidas de cladodios primarios provenientes de semillas pre germinadas *in vitro*.

Definir los mejores tratamientos conformados por variantes de medios de cultivo en las fases de multiplicación y enraizamiento, de acuerdo a la respuesta de las variables evaluadas en los segmentos apicales, centrales y basales de cladodios.

Evaluar en la de fase de aclimatación después de seis semanas, el efecto residual en plantas formadas durante la fase de enraizamiento.

III. MARCO DE REFERENCIA

Vallecillos (2015, p. 6), destaca que en Nicaragua las primeras plantaciones del cultivo de pitahaya:

Se originaron en la comunidad de San Ignacio, municipio de la Concepción, departamento de Masaya y a pesar de las emanaciones de gases sulfurosos del volcán Santiago no es afectada en su crecimiento y desarrollo. Por esta razón, desplazó a varios cultivos desde hace más de 30 años.

En una investigación realizado por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) según lo expuesto por Sánchez (2012) sostuvo que “los suelos de toda la meseta de Carazo, Masaya, Managua y el occidente del país son adecuados para producir pitahaya, por lo que se podría llegar a sembrar 397 mil hectáreas y actualmente solo se cultivan aproximadamente 491.82 hectáreas” (párr. 5).

En cuanto a comercialización a nivel mundial de la pitahaya, (Betancourt *et al.*, 2010 y Rojas *et al.*, 2008) citado por Paredes (2014, p. 1) afirman que:

Los tipos de pitahaya que más se comercializan son: cáscara roja con pulpa roja (*Hylocereus undatus*), cáscara roja con pulpa blanca (*Hylocereus costarricensis*) y cáscara amarilla con espinas y pulpa blanca (*Selenicereus megalanthus*). Las especies del género *Hylocereus* se cultivan actualmente en México, Nicaragua, Vietnam, Tailandia, Malasia, Israel y Brasil, y La especie del género *Selenicereus* se cultiva en Colombia, Israel, Brasil y Ecuador.

Mizrahi (2014, párr. 6) destaca que “es muy importante distinguir entre los clones amarillos de la especie *Hylocereus undatus*, y la pitahaya amarilla real *Selenicereus megalanthus*. Después de visitar Nicaragua descubrió que también hay clones amarillos de la especie *Hylocereus costarricensis* que llaman pitahaya amarilla”.

Una ventaja que presenta la pitahaya amarilla de la especie *Hylocereus undatus* localizada en Nicaragua en comparación a la pitahaya amarilla *Selenicereus megalanthus* que se produce en Colombia y en Ecuador; es que el fruto no tiene espinas lo que hace más fácil su manipulación durante la cosecha y post-cosecha. Benega *et al.*, (2009) citado por (Avalos, 2010, p. 29) describen que “las especies de *Hylocereus* presentan frutas grandes con un sabor pobre, en cambio la fruta espinosa de *Selenicereus megalanthus* tiene un sabor superior, pero es inferior en tamaño, producción y apariencia”.

Orellana (1998, p. 158) relata que “uno de los factores de gran importancia para lograr una adecuada tasa de propagación es el genotipo a propagar, ya que el índice de propagación es diferente para cada una de las especies y para las distintas variedades o clones dentro de la misma especie”. (Centurión, 1999; Lichtenzveig *et al.*, 2000; Grimaldo *et al.*, 2001) citado por Pérez (2011, p. 2) refiriéndose a las características genéticas de la pitahaya, indican que “*Hylocereus megalanthus* se distingue por ser tetraploide ($2n=4x=44$) y autocompatible, a diferencia de *Hylocereus undatus* e *Hylocereus monacanthus* que son diploides ($2n=2x=22$) y en su mayoría autoincompatibles”.

En un estudio con siete clones de *Hylocereus* realizado en Nicaragua por Martínez y Llana (2003, p. 34) encontraron que “la pitahaya amarilla tiene un rango de 10.87 Grados Brix, con longitud del fruto de 8.06 y diámetro de 7.38 cm, los tamaños de las semillas para este fruto fue de un promedio de 21 semillas sobre gramos”.

Las cactáceas son plantas suculentas que normalmente tienen espinas en lugar de hojas. (Heather, 2018, párr. 3-4) afirma que “tienen un tejido epidérmico grueso y encerado que cubre el exterior de la planta en el cual realizan la fotosíntesis, causa por la cual la planta entera es verde”. Schulze (2004, p. 8) describe que “las cactáceas en un medio natural, los estomas son abierto solamente de noche conservando el agua, debido a que la pérdida de vapor de agua es menor durante las horas frías de la noche”.

Refiriéndonos a la eficiencia del agua en las cactáceas, (Esquivel, 2004) mencionado por Avalos (2010, p. 22) describe:

La eficiencia del agua es de cinco a diez veces mayores que los cultivos convencionales, lo que ocasiona que el requerimiento de agua sea bajo; estas características, se debe a la vía fotosintética de esta familia, denominada la vía del metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM).

Los tallos de las cactáceas durante los estados juveniles son suculentos de coloración verde y al alcanzar el estado adulto se lignifican. Según lo escrito por (Hoffmann, 1989) citado por (Rocha, 2013, p. 20) “las cactáceas en su totalidad están recubiertos por una cutícula cerosa, gruesa, la cual es una adaptación para acumular agua al disminuir la transpiración”. Según lo mencionado por (Rocha, 2013, p. 30), “en los cactus la succulencia resulta ser una ventaja, ya que la pérdida de agua durante el trasplante no representa un estrés hídrico debido a que esta es lenta durante el primer día de acondicionamiento al medio ambiente”.

Refiriéndonos a los tipos de raíces que presentan las especies de *Hylocereus*, (Gunasena *et al.*, 2007) mencionado por (Montiel, 2017, p. 7) afirman que:

Tienen dos tipos de raíces: las primarias que se encuentran en el suelo y las secundarias o adventicias, que se desarrollan fuera del suelo. Las raíces adventicias se generan cuando la planta sufre de estrés hídrico y sus funciones son fijar y sostener las plantas a su tutor y absorber sustancias nutritivas y agua del ambiente.

En relación a la propagación de la pitahaya, Janiek (1997) citado por Ruíz (2009, p. 1) describe que:

La pitahaya se reproduce sexual y asexualmente, aunque la propagación sexual tiene el inconveniente que las descendencias presentan alto grado de heterocigosis y la fase reproductiva se da después de dos años de siembra, por esto se prefiere la reproducción vegetativa a través de estructuras conocidas como cladodios o vainas.

Al referirse a la forma de propagación de interés comercial, Balaguera-López, Morales, Almanza y Balaguera (2010) mencionan que:

La pitahaya es propagada asexualmente por medio de estacas o cladodios, sin embargo, los estudios y las técnicas al respecto, que garanticen la obtención de plantas con un sistema radical abundante, uniforme y de buena calidad, son muy pocos, por lo tanto, se presentan problemas como bajo prendimiento en campo, retardo en la producción, baja producción y corta vida útil de las plantas (p. 34).

Las plantas provenientes de campo están expuestas a contaminaciones por hongos virus y bacterias, estos microorganismos son capaces de proliferar rápidamente en los medios de cultivo, ya que contienen azúcares y nutrientes favorables para su desarrollo. Según Soltero, Portillo y Santacruz (2013. p, 21) “el establecimiento en forma aséptica es una de las etapas cruciales y más difíciles en la micropropagación de plantas, esta consiste en la desinfección externa (en algunas ocasiones sistémica) del material vegetativo que se pretende establecer *in vitro*”.

En el uso de la biotecnología vegetal, retomamos el enunciado de Ojeda-Zacarías *et al.*, (2010) citado por Padrón (2012) destacan que:

La biotecnología vegetal ofrece una alternativa para la resolución de problemas relacionados con el aprovechamiento de las cactáceas. Todas las especies tienen diferente potencial de regeneración incluso entre la misma especie, por lo que es necesario establecer técnicas de propagación que permitan incrementar la disponibilidad del material vegetal (p. 50).

Jiménez (1998, p.13) describe “el cultivo de tejidos vegetales *in vitro* puede entenderse como el conjunto de técnicas y procedimientos que permiten el cultivo en células, tejidos y órganos empleando medios nutritivos artificiales con el objetivo de regenerar una planta”. (Krikorian, 1991) citado por (Jiménez, 1998, p. 45) menciona en la propagación comercial “pueden identificarse cinco etapas bien definidas, cada una con sus objetivos específicos: fase 0: Preparativa, Fase I: Establecimiento o Iniciación de los cultivos, Fase II: Multiplicación, Fase III: Enraizamiento y Fase IV: Aclimatación”.

El objetivo de la micropropagación según (Hartmann y Kester, 1997) citados por Navarro, (2019, p. 1), “es producir plantas a partir de porciones pequeñas de ellas, tejidos o células cultivadas asépticamente en tubos de ensayo o en otro recipiente que se puedan controlar estrictamente las condiciones de ambiente y nutrición”.

La micropropagación de pitahaya en la actualidad, Roca y Mroginski (1993) citados por Suárez (2011) consideran que:

Es muy común, comprende en su acepción amplia, un heterogéneo grupo de técnicas mediante las cuales un explante (parte separada de un vegetal, por ejemplo: protoplasto, célula, tejido, órgano) se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas (p. 40).

En un estudio realizado en *H. megalanthus* por Zambrano, Ríos, Beltrán y Mesa (2015, p. 78), “evaluaron el efecto en el crecimiento *in vitro* por organogénesis directa de dos citoquininas 6-Bencilaminopurina (6-BAP) y Kinetina (Kin) y una auxina el ácido indolacético (AIA), utilizando diferentes concentraciones hormonales”.

En nuestro estudio la micropropagación de pitahaya amarilla, se realizó mediante la organogénesis directa, descrita así, por Gisbert (2010, p. 2-3):

La organogénesis es una de las vías morfogénicas en la cual se diferencian meristemas a partir de las células o tejidos cultivados. La regeneración es directa cuando los tallos se producen a partir de los tejidos iniciales formándose una planta con tallos, raíces u otras estructuras.

El éxito de micropropagación de plantas, depende en gran medida del medio de nutriente empleado y del origen del tejido. Según lo reportado por Rodríguez, Quintero, Torres y Fundora (2004, p. 23), “El medio Murashige-Skoog (MS) reúne los requerimientos nutricionales necesarios para la mayoría de las especies vegetales y ha sido ampliamente utilizado en la preparación de mezclas comerciales”.

La demanda nutricional de los tejidos establecidos *in vitro*, deben de ser similares a los que se presentan en las plantas bajo condiciones naturales. Según Avalos (2010, p. 8) “el medio (Murashige-Skoog, 1962) contiene macro y micronutrientes, además es suplementado con vitaminas, myo-inositol, reguladores de crecimiento, entre otros componentes”.

En cultivo *in vitro* los reguladores de crecimiento son indispensables para el desarrollo de la planta, según Alcántara, Godoy y Sánchez (2019, p. 109) describen:

Las fitohormonas son compuesto producido internamente por una planta, que ejerce su función en bajas concentraciones y su principal efecto se produce a nivel celular. Los reguladores vegetales son sintetizados químicamente u obtenidos de otros organismos y en general, mucho más potentes que los análogos naturales.

Lo expuesto por (Pérez-Molphe *et al*, 1990) citado por Avalos (2010, p. 9-10) “Los reguladores de crecimiento más utilizados son los pertenecientes a los grupos de las auxinas y de las citoquininas, son los que regulan en gran medida los procesos de crecimiento y desarrollo organizado en los cultivos de tejidos vegetales”. Lallana (2001. p, 48) menciona que “las auxinas se sintetizan en el meristemo apical y hojas en crecimiento y las citocininas en los ápices radicales. Así, las auxinas tienen un traslado polar basípeta y las citocininas se transportan por vía xilema hacia los ápices en forma acrópeta”.

Entre las hormonas de crecimiento en las plantas, Lallana (2001. p, 48) describe que:

Las auxinas son encontradas en pequeñas cantidades en las plantas, con mayores concentraciones en los meristemos caulinares, laterales, yemas en actividad y órganos en activo crecimiento. Regulan el alargamiento celular, formación de raíces adventicias, dominancia apical, gravitropismo, diferenciación de xilema y regeneración de tejido.

Haciendo énfasis en la formación de brotes en cactáceas, Soltero *et al.*, (2013, p. 29), “la dominancia apical es frecuente en las cactáceas, para su micropropagación se requiere la adición de citoquininas al medio de cultivo, inducen el desarrollo de brotes múltiples a partir de las areolas que contienen los meristemos axilares”. Según Jordán y Casareto (2006, p. 19, 23) afirman que “las citoquininas son hormonas esenciales en el accionar de procesos vinculados al crecimiento y desarrollo de la planta; estimulan la división celular, activan la brotación de yemas, inducen organogénesis y retardan la senescencia”.

Refiriéndonos a concentraciones de citoquininas y auxinas, (Skoog y Miller, 1965) citado por Jordán y Casareto (2006, p. 19) describen que:

Pueden inducir un tipo determinado de expresión morfológica de acuerdo a los niveles relativos entre sí. Un alto nivel de citoquinina versus auxina, provocan la formación de brotes en tejidos derivados de explante, mientras que con niveles bajos de citoquininas conjuntamente con niveles altos de auxinas, se observa la formación de masas celulares no organizadas (callos) y la formación de raíces con gradientes mayores de auxinas.

Zambrano *et al.*, (2015, p. 78) describen en el cultivo *in vitro* de *H. megalanthus*, “las siembras se realizaron en condiciones de asepsia, en cabina de flujo laminar y con instrumentación previamente esterilizada en autoclave; asimismo, se implementaron todas las normas de bioseguridad establecidos para este tipo de procedimientos”. Este proceso se realiza con el propósito de evitar contaminaciones y pérdidas del material genético dentro del cuarto de crecimiento.

Rodríguez, Chacón y Carrillo (2014, p. 119) 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”. En un estudio realizado por Rodríguez *et al.*, (2014) sobre la germinación *in vitro* de *Ugni molinae* “los medios de cultivo a base de sales MS consistieron en agua destilada gelificada con 7 g L⁻¹ de agar microbiológico, ajustando el pH a 5,8 con hidróxido de potasio (KOH) y ácido clorhídrico (HCl)” (p. 120).

Según Padilla y Encina (2003) citado por Suárez (2011, p.102), “la demanda mineral y hormonal durante los procesos de germinación en condiciones *in vitro* depende de las especies y está probablemente relacionado con la cantidad de reservas en las semillas”.

En un estudio realizado por Carrillo, Domínguez, Pérez-Reyes y Pérez-Molphe (2012) en cactáceas del género *Turbinicarpus* describen que:

Los materiales vegetales utilizados fueron plántulas germinadas *in vitro*, plantas que sirvieron como fuente de explante para la proliferación *in vitro* a través de la activación de areolas, la porción apical fue inoculada en medio MS pH 5,7 adicionado con $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ sacarosa, $10\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ agar y $4,44\ \mu\text{M}$ de 6-BAP, con el fin de inducir la germinación de brotes a partir de las areolas (p, 115-116).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del estudio

En el periodo comprendido entre septiembre del 2019 y mayo 2020, se realizó la presente investigación en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Facultad de Agronomía (FAGRO) perteneciente a la Universidad Nacional Agraria (UNA), ubicado en el km 12 ½ carretera Norte, Managua, Nicaragua.

4.2. Esterilización de materiales y limpieza de cámara de flujo laminar

El lavado de la cristalería se inició sumergiendo los frascos (con capacidad 200 ml) durante 24 horas en hipoclorito de sodio (NaClO_3) al 1%. Posteriormente se procedió a efectuar al lavado con detergente y abundante agua del grifo para eliminar los residuos de hipoclorito de sodio; finalizado el procedimiento los frascos se dejaron escurrir boca abajo durante 30 minutos sobre bandejas plásticas con dimensiones de 27 cm x 50 cm.

Los medios de cultivo una vez distribuidos en los frascos de vidrio, se esterilizaron en la autoclave a 120°C a una atmósfera de presión durante 15 minutos. Los beaker, platos de aluminio, pinzas, espátula, escalpelos y las hojas de escalpelo, se esterilizaron en el horno a temperatura de 180°C durante una hora. Previo a la siembra de los tejidos se procedió a la limpieza y desinfección del área de trabajo de la cámara de flujo laminar con (NaClO_3) al 0.5 %, además de exponerla a luz ultravioleta durante 30 minutos.

4.3. Pre-germinación de semillas

El material biológico que se utilizó para desarrollar el estudio de micropropagación en pitahaya amarilla, fueron dos frutos fisiológicamente maduros. Previo a la fase de establecimiento se procedió a la pre-germinación de las semillas. En las fases de multiplicación, enraizamiento y aclimatación, se utilizaron los cladodios de las plantas formadas.

Los frutos de pitahaya se colocaron individualmente dentro de un beaker de 200 ml agregándosele detergente, posteriormente se ubicaron bajo el flujo de agua del grifo durante 20 minutos. El fruto se colocó sobre un plato de aluminio dentro de la cámara de flujo laminar, asperjándose cada fruto con alcohol al 70% para procederlo a flamear durante 10 segundos, asegurando con este procedimiento una mejor desinfección al momento de cortarlo diametralmente por la parte central con la hoja del escalpelo.

Una vez cortado el fruto en dos partes, con ayuda de una espátula se extrajeron pequeñas porciones de la pulpa y se depositaron dentro de un colador de malla plástica previamente esterilizado. El colador se colocó sobre la boca de un beaker de 200 ml e inmediatamente se procedió a agregarle porciones de pulpa que se apretujaron cuidadosamente contra la superficie del colador, facilitándole el desprendimiento y separación de las semillas del mucílago, procedimiento que se facilitó agregándole agua estéril.

Finalizado el proceso de separación de las semillas, se les agregó agua para depositarlas en un beaker de 1000 ml, después de cinco minutos las semillas se sedimentaron procediéndose a decantarlas en un beaker de 1000 ml. Posteriormente se realizó el proceso de traslado de las semillas a frascos de 220 ml, agregándoles 10 ml de agua estéril conteniendo aproximadamente entre 50 y 60 semillas. Los frascos empleados en todas las fases del estudio, se le adicionaron a cada uno 20 ml de medio de cultivo semisólido y el proceso de siembra de las semillas se observan en la Figura 1.



Figura 1. a) Fruto de pitahaya b) Corte diametral del fruto, c) Semillas contenidas en pulpa mucilaginosa, d) Semillas en agua estéril, e) Semillas limpias de mucilago, f) Semillas sobre medio de cultivo en frascos de 220 ml.

4.4. Fase de establecimiento

Después de 20 días de germinadas las semillas en los frascos, se procedió a seleccionar las más vigorosas y mejor formadas para favorecer la uniformidad de los explantes a establecer en los tratamientos. En la Figura 2 se observan semillas germinadas de pitahaya amarilla.



Figura 2. Semillas pre germinadas de pitahaya amarilla en frascos de vidrio de 220

4.4.1. Diseño metodológico

En la fase de establecimiento se estudió el efecto de cinco tratamientos en base a concentraciones de 6-BAP y AIA. Cada tratamiento se conformó con cinco frascos de 220 ml adicionándoles a cada uno 20 ml de medio de cultivo y cinco plántulas por frascos. Por tratamiento se evaluaron 25 plántulas para un total de 125 en los cinco tratamientos.

El experimento se estableció en un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un arreglo unifactorial. Los datos que fueron recolectados de las diferentes variables evaluadas en la fase de establecimiento de pitahaya amarilla, se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y para determinar las diferencias entre las medias, se empleó la prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0.05$. Con la información obtenida se elaboró una base de datos en Excel y se procesó en el programa estadístico de software INFOSTAT versión 2015. Los tratamientos en base a las variantes de medios de cultivo en la fase de establecimiento se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos de medios de cultivo en fase de establecimiento de plantas obtenidas de cladodios primarios provenientes de semillas pre germinadas *in vitro*

Tratamientos Sales MS (1962)	*6-BAP (mg L ⁻¹)	**AIA (mg L ⁻¹)
T ₁	0.00	0.00
T ₂	0.50	0.00
T ₃	0.00	0.50
T ₄	1.00	0.00
T ₅	0.00	1.00

* 6-Bencilaminopurina

** Acido indolacético

4.4.2. Variables evaluadas

La evaluación del experimento de establecimiento a partir de semillas germinadas se realizó a las seis semanas definiéndose las siguientes variables:

- Longitud del cladodio apical (cm)
- Longitud del hipocotilo (cm)
- Número de raíces

En el caso de las variables longitud del cladodio apical y longitud del hipocotilo, para la toma de datos fueron medidas con una regla graduada en centímetros (cm).

4.5. Fase de multiplicación

Se emplearon como tejidos, cladodios formados en la fase de establecimiento cada uno de ellos divididos en tres segmentos, denominados segmentos apicales, centrales y basales. En cada segmento de cladodio se evaluó el efecto de diferentes concentraciones de la citoquinina 6-BAP y la auxina AIA, adicionadas solas o combinadas, conformando siete tratamientos. En la Figura 3 se observan los segmentos: apical, central y basal empleados para el estudio de la fase de multiplicación.

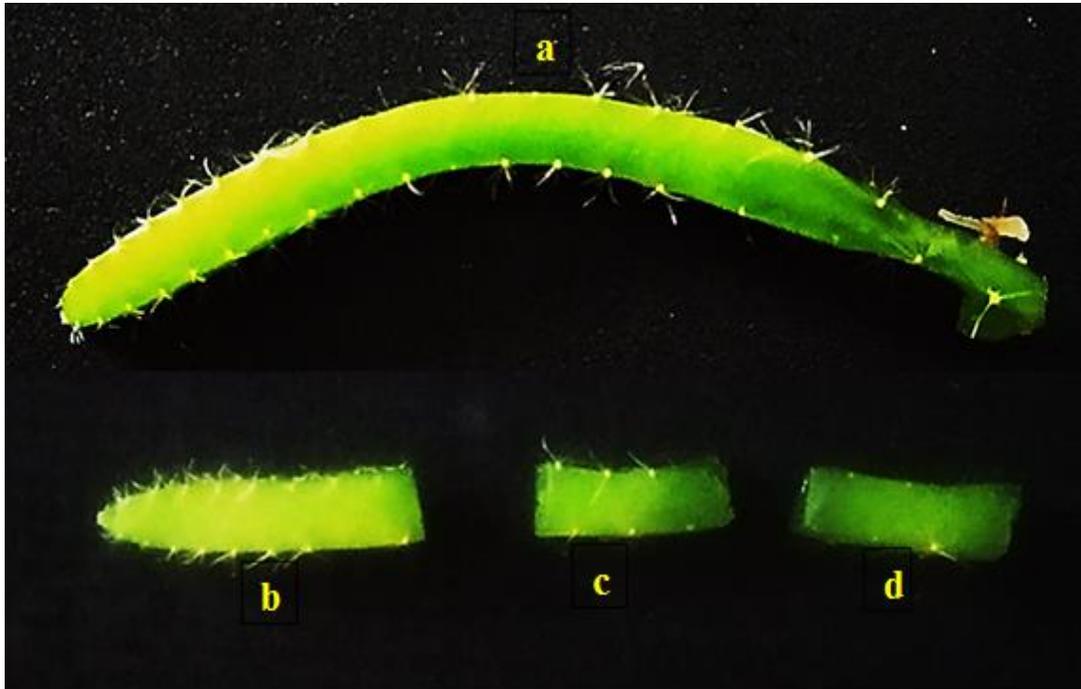


Figura 3. a) Cladodio completo. b) Segmento apical. c) Segmento central. d) Segmento basal.

4.5.1. Diseño metodológico

En la fase de multiplicación, se definieron los mejores tratamientos en base a la respuesta de las variables evaluadas en cada una de los tres segmentos del cladodio (apical, central, basal) (Figura 3). Por cada segmento de cladodio se sembraron seis unidades por frasco de 220 ml y cinco frascos por tratamiento, siendo para los siete tratamientos 35 frascos. Se evaluó un total de 210 tejidos de cada uno de los segmentos en los siete tratamientos. En los tres segmentos de cladodio se sembraron 630 tejidos en 105 frascos.

El experimento se estableció en un (DCA) con arreglo unifactorial en cada uno de los segmentos apical, central y basal del cladodio. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) para determinar las diferencias entre las medias, se empleó la prueba de rangos múltiples de Duncan para $p \leq 0.05$. Con la información obtenida se elaboró una base de datos en Excel y se procedió a procesarlos en el programa estadístico de software INFOSTAT versión 2015. Los tratamientos designados para la fase de multiplicación se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Tratamientos de medios de cultivos en la fase de multiplicación por segmento de cladodio apical, central y basal

Tratamientos Sales MS (1962)	*6-BAP (mg L⁻¹)	**AIA (mg L⁻¹)
T₁	0.00	0.00
T₂	0.50	0.00
T₃	0.50	0.50
T₄	0.50	1.00
T₅	1.00	0.00
T₆	1.00	0.50
T₇	1.00	1.00

* 6-Bencil amino purina

** Acido indolacético

4.5.2. Variables evaluadas

El experimento de multiplicación se evaluó a las seis semanas en base a las siguientes variables:

- Cladodio de mayor longitud (cm)
- Número de cladodios
- Número de raíces

La variable cladodio de mayor longitud en la toma de datos se realizó con una regla graduada en centímetros (cm).

4.6. Fase de enraizamiento

El estudio de enraizamiento se realizó con los cladodios principales que se desarrollaron a partir de segmentos apicales, centrales y basales en la fase de multiplicación. Cada tipo de segmento de cladodio se sembraron en cinco variantes de medios de cultivo conformados por el testigo que no se le adicionó AIA y las que contenían concentraciones de 0.25, 0.50, 0.75 y 1.0 mg L⁻¹ de AIA. En la Figura 4 se observan las raíces producidas por los cladodios en la fase de enraizamiento.



Figura 4. Cladodios formados en la fase de enraizamiento.

4.6.1. Diseño metodológico

De cada segmento de cladodio se sembraron cinco unidades por frasco y se designaron cuatro frascos por tratamiento para un total de 100 cladodios en los cinco tratamientos por cada tipo de segmento. Se estableció en un (DCA) con arreglo unifactorial en cada uno de los segmentos del cladodio apical, central y basal. Se les realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y las diferencias entre las medias se determinaron mediante la prueba de rangos múltiples de Duncan $p \leq 0.05$. Se elaboró la base de datos en Excel procesados en el programa estadístico de software INFOSTAT versión 2015. En el Cuadro 3 se presentan tratamientos empleados en la fase de enraizamiento.

Cuadro 3. Medios de cultivos en la fase de enraizamiento por segmento de cladodio apical, central y basal

Tratamientos Sales MS (1962)	*AIA (mg L ⁻¹)
T ₁	0.00
T ₂	0.25
T ₃	0.50
T ₄	0.75
T ₅	1.00

* Acido indolacético

4.6.2. Variables evaluadas

La recolección de datos de cada variable, se realizó a las seis semanas después de sembrados los tratamientos correspondientes.

- Longitud cladodio principal (cm)
- Longitud del brote más largo (cm)
- Número de brotes
- Raíz con mayor longitud (cm)
- Número de raíces

Las variables longitud el cladodio principal, longitud del brote más largo y raíz con mayor longitud; se evaluaron con una regla graduada en centímetros (cm).

4.7. Fase de aclimatación

Se utilizaron plantas que se formaron en la fase de enraizamiento durante seis semanas, cada tratamiento correspondiente al tipo de corte en segmentos de los cladodios (apical, central y basal), así como la variante de medio de cultivo en que crecieron, de manera que no hubo combinación por tipo de tejido ni por variante de medio de cultivo. Con este procedimiento se pretendió conocer con mayor aproximación la existencia o no del efecto residual de las concentraciones de AIA agregados a cada variante de medio de cultivo por tipo de tejido.

Como sustrato se utilizó compost por su alto contenido nutritivo de acuerdo a los buenos resultados en la micropropagación en pitahaya reportado por Ruiz (2009, p. 21-22), por el éxito obtenido en la fase de aclimatación de plantas micropropagadas; en nuestro experimento de aclimatación con pitahaya amarilla no se aplicó fertilizantes de origen orgánico e inorgánico.

El compost utilizado en la fase de aclimatación de la pitahaya, se adquirió en la finca “Las Mercedes” propiedad de la UNA. Mediante un análisis químico se determinó el porcentaje de nutrientes contenidos en el sustrato a como se observa en el (Anexo 1). Las plantas crecieron

bajo condiciones de sombreadero con cubierta sarán (70%). Se suministró un riego con micro aspersores en un promedio de tres minutos por día.

4.7.1. Diseño metodológico

El estudio de aclimatación, consistió en evaluar la presencia residual de los constituyentes de cada variante de medio de cultivo donde se desarrollaron los cladodios en la fase de enraizamiento, en base a la respuesta final de las plantas de acuerdo a las variables evaluadas. Las plantas formadas se extrajeron de los frascos y se lavaron con agua para eliminar los residuos de agar. Posteriormente las plantas formadas de cada uno de los tres tipos de segmentos se sembraron por separado en bandejas de polietileno.

Previo a la siembra, las bandejas se rellenaron con el sustrato de compost y finalizada esa actividad, se procedió a regarlas hasta alcanzar la capacidad de campo e inmediatamente se sembraron las plantas a razón de una por orificio de la bandeja; por cada tipo de segmento se evaluaron 100 plantas (Figura 5). Se elaboró una base de datos en Excel y fueron similares al diseño estadístico, análisis estadístico y el programa estadístico empleados en las fases de establecimiento, multiplicación y enraizamiento.



Figura 5. Plantas de pitahaya amarilla después de la siembra en la fase de aclimatación.

4.7.2. Variables evaluadas

En la fase de aclimatación, la toma de datos de las diferentes variables se realizó a las seis semanas después de la siembra de las plantas.

- Longitud del cladodio principal (cm)
- Diámetro del cladodio (cm)
- Número de brotes
- Raíz de mayor longitud (cm)
- Número de raíces
- Porcentaje de supervivencia de las plantas (%)

Los datos registrados de las variables longitud del cladodio principal y raíz de mayor longitud se utilizó una regla graduada en centímetros (cm); para medir el diámetro del cladodio se utilizó una escala vernier graduada en centímetros (cm).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Fase de establecimiento

Con las adiciones de 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP fue menor la repuesta de las variables longitud de hipocotilo con promedios de 1.11, 0.87; en longitud del cladodio apical con medias de 0.25, 2.44 y en número de raíces con promedios de 3.00 y 1.75, en comparación a los tratamientos testigo y a los que se les adiciono concentraciones de 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ AIA con promedios en longitud del hipocotilo de 1.55, 1.37 y 1.13; en longitud de cladodio apical con medias de 1.60, 2.27, 2.44 y numero de raíces con promedios de 5.20, 5.55 y 6.65.

Estos resultados demuestran que no es necesario adicionar concentraciones de 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP, se observó que las concentraciones de AIA estimularon el crecimiento de longitud de hipocotilo, longitud del cladodio apical y la formación de raíces.

Cuadro 4. Efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA en cinco variantes de medios de cultivo en pitahaya amarilla, en la fase de establecimiento a las seis semanas

Tratamientos	Reguladores de crecimiento		Variables evaluadas		
	6-BAP (mg L ⁻¹)	AIA (mg L ⁻¹)	Longitud del hipocotilo (cm)	Longitud de cladodio apical (cm)	Número de raíces
T ₁	0.00	0.00	1.55 a	1.60 a	5.20 a
T ₂	0.50	0.00	1.11 ab	0.25 b	3.00 b
T ₃	0.00	0.50	1.37 ab	2.27 a	5.55 a
T ₄	1.00	0.00	0.87 b	0.66 b	1.75 b
T ₅	0.00	1.00	1.13 ab	2.44 a	6.65 a

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

Durante la fase de establecimiento con plántulas provenientes de semillas pre germinadas *in vitro*, no se presentó contaminación de hongos y de bacterias, lo que nos facilitó la obtención de material vegetativo para nuestro estudio. Morales (2000, p. 33) “recomienda la germinación *in vitro* de las semillas, de esta manera se eliminan problemas con infecciones que pueden ser transmitidas por vectores”.

Morales (2000, p. 37) considera que “no es necesario la adición de reguladores del crecimiento en pitahaya roja, por tanto, recomienda para el cultivo *in vitro* de semillas hacerlas germinar únicamente empleando un medio de cultivo gelificado con agar”.

Los resultados parecen indicar que en las plántulas de pitahaya amarilla en su primera fase de crecimiento, no se presentó el efecto dominancia apical en el cladodio en la variable longitud de cladodio apical en ausencia de reguladores de crecimiento o con las adiciones de 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA; estos resultados fueron superiores en comparación a los que se les adicionó 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP. Montiel-Frausto *et al.*, (2016, párr.11), para esta misma practica “recomiendan el medio de cultivo basal al 50% de las sales MS y libre de reguladores del crecimiento”.

5.2. Fase de multiplicación

Según lo descrito por Sánchez (2002) citado por Flores (2016, p. 11), “la micropropagación consiste en producir plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas (explantos), ya sean tejidos o células; son cultivados asépticamente en recipiente que se puedan controlar las condiciones fisicoquímicas, nutricionales y ambientales (luz, temperatura y humedad)”.

Refiriéndonos a los métodos de micropropagación, Ojeda *et al.*, (2012, p. 121), señalan que “uno de los métodos más empleados en la micropropagación de cactáceas, es la utilización de brotes a través de la activación de areolas, estructuras que contienen las yemas axilares, mediante la adición de citoquininas al medio de cultivo”.

(Lema y Kulus, 2014, p. 51) señalan “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”. (Orellana, 1998, p.154) afirma que “el balance auxinas y citoquinina es determinante en el coeficiente de multiplicación, por lo que al lograr un balance adecuado es posible alcanzar elevadas tasas de proliferación aumentando la efectividad del método de micropropagación”.

5.2.1. Efecto de los medios de cultivo en segmentos apicales de cladodios

En segmentos apicales la variable cladodio de mayor longitud, únicamente se observaron diferencias significativas entre las medias obtenidas en el tratamiento que contenía la combinación de 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP con 1.00 mg L⁻¹ de AIA con una media de 1.48 cm y los tratamientos que contenían 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP con medias respectivas de 0.78 cm y 0.69 cm.

Cuando se adicionaron cantidades de 0.50 mg L⁻¹ de 6-BAP solo o en combinación de 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA el número de cladodios resultó inferior estadísticamente en comparación al tratamiento que contenía cantidades de 1.00 mg L⁻¹ 6-BAP y 1.00 mg L⁻¹ de AIA cuyo promedio fue de 9.35 cladodios. Estos resultados superan a los obtenidos por Zambrano *et al*; (2015, p. 79) en pitahaya amarilla con espinas en el fruto, que agregando solamente 1.00 mg L⁻¹ 6-BAP logró el mejor resultado de 5.30 cladodios.

La media obtenida en número de raíces en el tratamiento testigo, superó estadísticamente a los tratamientos que contenían solo el regulador de crecimiento 6-BAP o el AIA, o la combinación en concentraciones de 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de ambos. Los resultados en número de cladodios y número de raíces en segmentos apicales de cladodios se presentan en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA en siete variantes de medios de cultivos en el segmento apical de cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de multiplicación a las seis semanas

Tratamientos	Reguladores de crecimiento		Variables evaluadas		
	6-BAP (mg L ⁻¹)	AIA (mg L ⁻¹)	Cladodio de mayor longitud (cm)	Número de cladodios	Número de raíces
T ₁	0.00	0.00	0.99 ab	5.35 c	3.75 a
T ₂	0.50	0.00	0.78 b	6.75 b	1.80 bc
T ₃	0.50	0.50	1.15 ab	6.80 b	2.80 bc
T ₄	0.50	1.00	1.30 ab	6.20 b	2.90 b
T ₅	1.00	0.00	0.69 b	7.70 ab	1.35 c
T ₆	1.00	0.50	1.08 ab	8.05 ab	1.75 bc
T ₇	1.00	1.00	1.48 a	9.35 a	2.91 b

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

5.2.2. Efecto de los medios de cultivo en segmentos centrales de cladodios

La variable cladodio de mayor longitud evaluada en segmentos centrales no registró diferencias estadísticas entre los siete tratamientos. En la variable número de cladodios, los tratamientos que contenían 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP o combinado con 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA presentaron medias respectivas de 5.60, 6.20 y 7.10 superaron significativamente al tratamiento sin reguladores del crecimiento y a los que contenían 0.50 mg L⁻¹ de 6-BAP o en combinaciones con 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA, con medias correspondientes de 3.90, 4.30, 4.40 y 4.85.

En número de raíces sin reguladores de crecimiento se obtuvo una media de 2.80 que superó significativamente a las medias en los tratamientos que contenían 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP y la combinación de 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP con 0.50 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de raíces de 1.55, 1.60 y 1.51.

Cuadro 6. Efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA en siete variantes de medios de cultivos en el segmento central del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de multiplicación a las seis semanas

Tratamientos	Reguladores de crecimiento		Variables evaluadas		
	6-BAP (mg L ⁻¹)	AIA (mg L ⁻¹)	Cladodio de mayor longitud (cm)	Número de cladodios	Número de raíces
T ₁	0.00	0.00	0.95 a	3.90 bc	2.80 a
T ₂	0.50	0.00	0.67 a	4.30 bc	1.55 b
T ₃	0.50	0.50	0.72 a	4.40 bc	2.30 ab
T ₄	0.50	1.00	0.85 a	4.85 b	2.25 ab
T ₅	1.00	0.00	0.63 a	5.60 ab	1.60 b
T ₆	1.00	0.50	0.71 a	6.20 ab	1.51 b
T ₇	1.00	1.00	0.68 a	7.10 a	2.25 ab

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

5.2.3. Efecto de los medios de cultivos en el segmento basal del cladodio

En la variable cladodio de mayor longitud, únicamente el tratamiento testigo con media de 1.17 cm superó estadísticamente a las medias logradas en los tratamientos que contenían 0.50 mg L⁻¹ de 6-BAP con media de 0.57 cm; con 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP con media de 0.57 cm y la adición de 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP con 1.00 mg L⁻¹ de AIA con media de 0.45 cm.

El número de cladodios en los tratamientos con 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP y 0.50 mg L⁻¹ de AIA con media de 7.55, superó estadísticamente a las medias obtenidas en los tratamientos sin reguladores de crecimiento y a las medias logradas en los tratamientos que se le agregaron 0.50 mg L⁻¹ de 6-BAP o esta concentración de 6-BAP combinada con 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA; además superó a la media de 5.65 cladodios producida en el tratamiento con 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP.

En número de raíces el tratamiento testigo con media de 3.40 resultó con similar respuesta estadística únicamente con la media alcanzada en el tratamiento que se le adicionó 0.50 mg L⁻¹ de 6-BAP con 0.50 mg L⁻¹ de AIA con media de 2.40, pero resultó significativamente superior

a los demás tratamientos. Los resultados de cladodio de mayor longitud, número de cladodios y número de raíces se presentan en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Efecto de diferentes concentraciones de 6-BAP y AIA en siete variantes de medios de cultivos en el segmento basal del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de multiplicación a las seis semanas

Tratamientos	Reguladores de crecimiento		Variables evaluadas		
	6-BAP (mg L ⁻¹)	AIA (mg L ⁻¹)	Cladodio de mayor longitud (cm)	Número de cladodios	Número de raíces
T ₁	0.00	0.00	1.17 a	3.20 cd	3.40 a
T ₂	0.50	0.00	0.57 b	4.70 c	1.80 b
T ₃	0.50	0.50	0.96 ab	5.45 b	2.40 ab
T ₄	0.50	1.00	0.82 ab	4.40 c	2.20 b
T ₅	1.00	0.00	0.57 b	5.65 b	1.00 c
T ₆	1.00	0.50	1.03 ab	7.55 a	1.90 cd
T ₇	1.00	1.00	0.45 b	7.15 ab	1.25 b

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

En el tratamiento testigo tanto en segmentos apicales, centrales como basales las variables cladodio de mayor longitud y número de raíces, las plantas formadas respondieron favorablemente de acuerdo a los resultados de las medias, pero en estos mismos tratamientos la estimulación de la brotación de cladodios fue menor. En la variable número de cladodios en los tres segmentos de cladodios resultó superior cuando se adicionó 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP solo o combinado con 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA, por tanto, en la fase de multiplicación es necesario adicionar a las sales de MS 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP combinado con dosis de AIA entre 0.50 y 1.00 mg L⁻¹.

Estos resultados permiten potenciar la capacidad de reproducción de la pitahaya amarilla al posibilitar la formación de plantas seccionando en tres segmentos un cladodio principal, demostrándose que cada segmento tiene la capacidad de brotación múltiple para formar nuevos cladodios. Nuestros resultados fueron similares a los obtenidos por Ojeda *et al.*, (2012, p. 125), quienes “reportaron en *H. undatus* (Haworth) a las seis semanas un promedio de 8 a 9 cladodios por tratamientos y a las 12 semanas una media de (21.35) cuando se le adicionó mayor concentración de citoquininas de 2.00 mg L⁻¹ de 6-BAP”.

Suárez *et al.*, (2014, p. 276) en la multiplicación de pitahaya amarilla con espinas, cuando agregaron al medio de cultivo concentraciones de 2.00 mg L⁻¹ de kinetina y 2.00 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; resultados ligeramente inferiores a los obtenidos en nuestro estudio en un medio de cultivo con concentraciones de 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP con 1.00 mg L⁻¹ de AIA en los segmentos apicales, centrales y basales. Estos resultados evidencian que la respuesta genotípica se da en dependencia de la concentración y del tipo de regulador de crecimiento que se le adicionen al medio de cultivo.

En relación a la adición de auxina y citoquininas, Viñas *et al.*, (2012) citados por Montiel *et al.*, (2016, p. 114), destacan que “en cactáceas la brotación de yemas axilares requiere niveles bajos de auxina y altos de citoquininas”. Este comportamiento no se observó en pitahaya amarilla con el empleo de tipos de segmentos de cladodios, sí consideramos como iguales concentraciones la adición de 1.00 mg L⁻¹ de AIA respecto a 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP.

Según (Hubstenberger, *et al.*, 1992) citado por Ordoñez (2003, p. 23), en general se requieren bajos niveles o nada de auxina en combinación con niveles moderados a elevados de citoquinina para la proliferación axilar en cactus. En un estudio realizado por Ruvalcaba, Rojas y Valencia (2010, p. 141) en *Coryphantha retusa* (Britton & Rose) encontraron que los tratamientos que contenían de 2.00 a 3.00 mg L⁻¹ de 6-BAP produjeron mayor cantidad de cladodios de 6 a 10.

En la Figura 6 se observa la brotación múltiple de cladodios obtenidos a partir de tres tipos segmentos de cladodios (apical, central y basal).



Figura 6. Fase de multiplicación de pitahaya amarilla a las seis semanas a partir de segmentos de cladodios. a: segmento apical. b: segmento central. c: segmento basal.

5.3. Fase de enraizamiento

5.3.1. Efecto del AIA en el enraizamiento del segmento apical del cladodio

No se registraron diferencias estadísticas por efecto de los diferentes tratamientos en las variables longitud del cladodio principal y longitud del brote más largo. En las variables número de brotes y longitud de la raíz más larga, se presentaron diferencias estadísticas significativas que favorecieron al tratamiento que no contenía reguladores de crecimiento con medias respectivas de 1.72 y 5.66 cm.

En los tratamientos que contenían 0.50 mg L^{-1} AIA y 0.75 mg L^{-1} de AIA con medias respectivas en número de raíces de 9.44 y 10.68 superaron significativamente a las medias obtenidas en los tratamientos que no se le adicionaron reguladores de crecimiento y al tratamiento con 0.25 mg L^{-1} de AIA. En el Cuadro 8 se presentan los resultados en la fase de enraizamiento de las variables longitud del cladodio, longitud del brote más largo, número de brotes, raíz con mayor longitud y número de raíces en los cinco tratamientos.

Cuadro 8. Efecto de diferentes concentraciones de AIA en cinco variantes de medios de cultivos en el segmento apical del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de enraizamiento a las seis semanas

Tratamientos	Regulador de crecimiento	Variables evaluadas				
	AIA (mg L ⁻¹)	Longitud cladodio principal (cm)	Longitud del brote más largo (cm)	Número de brotes	Raíz con mayor longitud (cm)	Número de raíces
T ₁	0.00	3.05 a	0.32 a	1.72 a	5.66 a	7.16 b
T ₂	0.25	3.01 a	0.19 a	0.40 b	3.85 b	7.28 b
T ₃	0.50	2.81 a	0.26 a	0.40 b	3.65 b	9.44 a
T ₄	0.75	3.06 a	0.21 a	0.32 b	3.45 b	10.68 a
T ₅	1.00	3.24 a	0.16 a	0.68 b	3.57 b	8.52 ab

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

5.3.2. Efecto del AIA en el enraizamiento del segmento central del cladodio

Entre las medias de las variables longitud del cladodio principal, longitud del brote más largo y números de brotes, no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los cinco tratamientos. En la variable raíz con mayor longitud con media de 5.41 cm en el tratamiento sin reguladores de crecimiento, resultó superior a las medias obtenidas en los tratamientos que contenían concentraciones de 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA.

En números de raíces se presentaron diferencias estadísticas significativas que favorecieron a los tratamientos que se le adicionaron 0.50, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 11.16, 10.00 y 10.36. En el Cuadro 9 se presentan los resultados obtenidos en los cinco tratamientos.

Cuadro 9. Efecto de diferentes concentraciones de AIA en cinco variantes de medios de cultivos en el segmento central del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de enraizamiento a las seis semanas

Tratamientos	Regulador de crecimiento	Variables evaluadas				
	AIA (mg L ⁻¹)	Longitud cladodio principal (cm)	Longitud del brote más largo (cm)	Número de brotes	Raíz con mayor longitud (cm)	Número de raíces
T ₁	0.00	2.54 a	0.29 a	0.48 a	5.41 a	6.92 b
T ₂	0.25	2.84 a	0.30 a	0.40 a	3.86 b	7.12 b
T ₃	0.50	2.66 a	0.31 a	0.96 a	4.08 b	11.16 a
T ₄	0.75	2.57 a	0.34 a	1.08 a	4.09 b	10.00 a
T ₅	1.00	3.01 a	0.20 a	0.88 a	3.62 b	10.36 a

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

5.3.3. Efecto del AIA en el enraizamiento del segmento basal del cladodio

En longitud del cladodio principal, en los tratamientos sin reguladores de crecimiento y en los que se adicionaron dosis de 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 2.84, 2.67 y 2.59 cm, resultaron superiores a la media de 2.10 cm que se alcanzó en el tratamiento con dosis de 1.00 mg L⁻¹ de AIA. En las variables longitud del brote más largo y número de brotes en los cinco tratamientos no se presentaron diferencias significativas.

En raíz con mayor longitud, el tratamiento sin reguladores de crecimiento se logró una media de 5.89 cm que resultó superior estadísticamente a las medias obtenidas en los tratamientos que contenían concentraciones de 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA con medias correspondientes de 3.34, 3.52, 4.01 y 3.15 cm. En la variable número de raíces se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las medias, resultando superiores en los tratamientos que se les adicionaron concentraciones de 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 10.12 y 10.16 en comparación a las medias de 6.72 y 7.05 logradas en el tratamiento sin reguladores de crecimiento y al tratamiento con 0.25 mg L⁻¹ de AIA respectivamente.

En el Cuadro 10 se presentan los resultados obtenidos en las variables evaluadas en los cinco tratamientos y en la Figura 7 se observa la fase de enraizamiento a las seis semanas de haberse establecido en las diferentes variantes de cultivo, de acuerdo a los brotes formados en la fase de multiplicación.

Cuadro 10. Efecto de diferentes concentraciones de AIA en cinco variantes de medios de cultivos en el segmento basal del cladodio en pitahaya amarilla, en la fase de enraizamiento a las seis semanas

Tratamientos	Regulador de crecimiento	Variables evaluadas				
	AIA (mg L ⁻¹)	Longitud cladodio principal (cm)	Longitud del brote más largo (cm)	Número de brotes	Raíz con mayor longitud (cm)	Número de raíces
T ₁	0.00	2.84 a	0.28 a	1.16 a	5.89 a	6.72 b
T ₂	0.25	2.67 a	0.16 a	0.68 a	3.34 b	7.05 b
T ₃	0.50	2.59 a	0.24 a	0.64 a	3.52 b	10.12 a
T ₄	0.75	2.39 ab	0.17 a	0.40 a	4.01 b	8.04 ab
T ₅	1.00	2.10 b	0.17 a	0.60 a	3.15 b	10.16 a

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

Zambrano *et al.*, (2015, p. 79) en pitahaya amarilla con espinas para lograr un mayor número de raíces “reportaron como mejor tratamiento, la adición combinada de 1.00 mg L⁻¹ kinetina con 0.3 mg L⁻¹ de AIA obteniendo una media de 5.20 raíces a los 45 días de establecido el experimento”. Este promedio de número de raíces resulta menor a los obtenidos en nuestro trabajo, debido posiblemente a que los genotipos son diferentes y a que agregé kinetina, regulador de crecimiento que estimula la brotación axilar y no la inducción de raíces, objetivo que se logra con las auxinas.

En nuestro estudio en número de raíces se obtuvieron mejores resultados en los tres segmentos del cladodio cuando se adicionaron concentraciones de 0.50, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA, esta respuesta evidencia que la pitahaya amarilla responde favorablemente al efecto de la auxina AIA como regulador de crecimiento para estimular la emisión de raíces.

Además, se demuestra que la pitahaya amarilla al ser una cactácea, tiene la capacidad de adaptarse fácilmente a las condiciones ambientales y nutritivas que prevalecen dentro de los frascos que resultaron favorables para que los tejidos continúen su crecimiento.

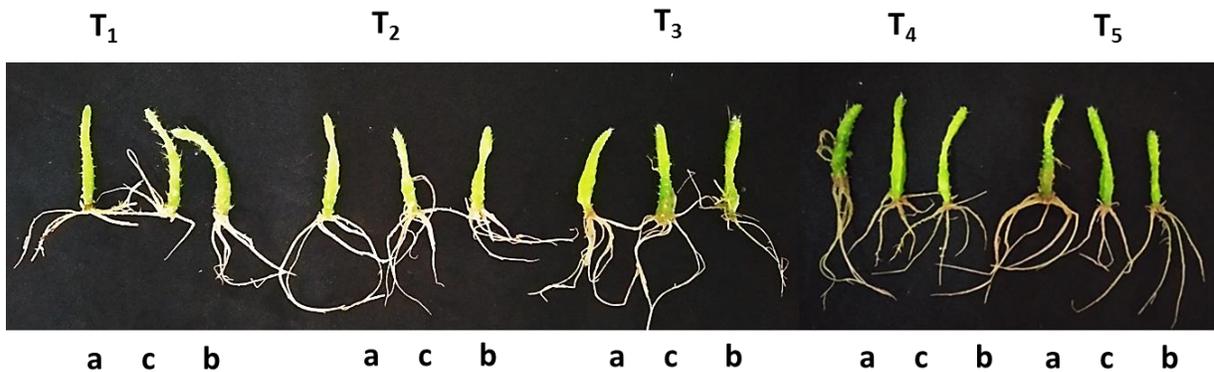


Figura 7. Plantas de pitahaya en la fase de enraizamiento *in vitro* a las seis semanas. T_n: Tratamientos. a: segmento apical. c: segmento central. b: segmento basal.

5.4. Fase de aclimatación

Agramonte, Jiménez y Dita (1998, p. 193) afirman que:

Mediante el cultivo *in vitro* las plantas se desarrollan en un ambiente en alta humedad relativa, baja intensidad luminosa, temperatura constante, escaso intercambio gaseoso y medios ricos en compuestos orgánicos. En estas situaciones los medios favorecen cambios en la morfología y fisiología de las plantas, que las hacen diferentes de las que crecen en invernaderos o en el campo.

5.4.1. Aclimatación de plantas formadas a partir del corte apical del cladodio

En la fase de aclimatación las plantas formadas a partir del corte apical del cladodio durante la fase de enraizamiento, no se presentaron diferencias significativas entre las medias logradas en la variable longitud del cladodio principal en los cinco tratamientos. En el diámetro de cladodio el efecto residual en el tratamiento de enraizamiento que contenía 1.00 mg L⁻¹ de AIA tuvo una media de 1.04 cm que superó significativamente a las medias registradas en el tratamiento que no se le adicionó AIA y a los que se les agregaron dosis de 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 0.66, 0.66 y 0.67 cm.

En las variables evaluadas número de brotes y raíz con mayor longitud no se presentaron diferencias significativas entre sus medias en los cinco tratamientos definidos en la fase de enraizamiento. En cuanto al número de raíces, el tratamiento que en la fase de enraizamiento se le adicionó 1.00 mg L⁻¹ AIA presentó una media de 7.15 superando estadísticamente a los tratamientos que no se le adicionó AIA y a los que se les agregaron dosis de 0.25 y 0.75 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 4.50, 4.80 y 4.75. En el Cuadro 11 se presentan los resultados obtenidos en las plantas, en los cinco tratamientos que se emplearon previamente en la fase de enraizamiento.

Cuadro 11. Aclimatación de plantas de pitahaya amarilla, formadas a partir del segmento apical del cladodio a las seis semanas

Tratamientos	Regulador de crecimiento	Variables evaluadas				
	AIA (mg L ⁻¹)	Longitud del cladodio principal (cm)	Diámetro de cladodio (cm)	Número de brotes	Raíz con mayor longitud (cm)	Número de raíces
T ₁	0.00	5.36 a	0.66 b	0.95 a	2.42 a	4.50 b
T ₂	0.25	5.62 a	0.66 b	1.10 a	2.34 a	4.80 b
T ₃	0.50	5.46 a	0.67 b	0.80 a	2.69 a	5.50 ab
T ₄	0.75	5.65 a	0.79 ab	1.00 a	2.20 a	4.75 b
T ₅	1.00	6.80 a	1.04 a	1.45 a	3.07 a	7.15 a

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

5.4.2. Aclimatación de plantas formadas a partir del corte central del cladodio

En los tratamientos que crecieron los cladodios durante la fase de enraizamiento, alcanzó en la fase de aclimatación una media de longitud del cladodio principal de 6.38 cm en el tratamiento que contenía 0.50 mg L⁻¹ de AIA, resultando superior estadísticamente al tratamiento que en la fase de enraizamiento no se les agregó AIA y al que se le adicionaron 0.75 mg L⁻¹ de AIA con medias correspondientes de 5.08 y 5.17 cm.

Cuando se adicionó 0.50 mg L⁻¹ de AIA en la fase de enraizamiento, las plantas respondieron en la aclimatación con un diámetro del cladodio con media de 0.77 cm que superó significativamente a los tratamientos que en la fase de enraizamiento no contenían AIA y al que

se le agregó 0.25 y 0.75 mg. L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 0.62, 0.59 y 0.64 cm. No se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las medias de número de brotes.

En la variable raíz de mayor longitud de plantas aclimatadas registró una media de 2.94 cm, cuando previamente crecieron en el tratamiento con 0.50 mg L⁻¹ AIA, resultando con similar comportamiento estadístico con las medias de los tratamientos que en la fase anterior se le agregaron concentraciones de 0.25, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 2.53, 2.36 y 2.83 cm, siendo inferior únicamente el tratamiento testigo sin adición de AIA con media de 2.07 cm.

En número de raíces producidas en los tratamientos que se adicionaron previo a la fase de aclimatación 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 5.90 y 6.10, superaron estadísticamente a las medias de los tratamientos que previamente no se les agregó AIA o se les agregó 0.25 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 4.30 y 4.50 raíces. Los resultados obtenidos en los cinco tratamientos definidos en la fase de aclimatación se presentan en el Cuadro 12.

Cuadro 12. Aclimatación de plantas de pitahaya amarilla, formadas a partir del segmento central del cladodio a las seis semanas

Tratamientos	Regulador de crecimiento	Variables evaluadas				
	AIA (mg L ⁻¹)	Longitud del cladodio principal (cm)	Diámetro de cladodio (cm)	Número de brotes	Raíz de mayor longitud (cm)	Número de raíces
T ₁	0.00	5.08 b	0.62 bc	1.15 a	2.07 b	4.30 b
T ₂	0.25	5.51 ab	0.59 c	1.05 a	2.53 ab	4.50 b
T ₃	0.50	6.38 a	0.77 a	1.90 a	2.94 a	5.90 a
T ₄	0.75	5.17 b	0.64 b	0.95 a	2.36 ab	5.20 ab
T ₅	1.00	5.70 ab	0.75 ab	1.40 a	2.83 ab	6.10 a

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

5.4.3. Aclimatación de plantas formadas a partir del corte basal del cladodio

La variable longitud del cladodio principal en plantas aclimatadas que en la fase de enraizamiento crecieron en los tratamientos que se les agregaron concentraciones de AIA de 0.75 y 1.00 mg L⁻¹, lograron medias respectivas de 5.18 y 5.33 cm que superaron significativamente a la media de 4.11 cm que se obtuvo en el tratamiento que contenía 0.25 mg L⁻¹ de AIA.

Cuando se adicionó en la fase de enraizamiento la dosis de 0.50 mg L⁻¹ de AIA, las plantas respondieron en la aclimatación con un diámetro del cladodio con media de 0.72 cm, que superó significativamente al tratamiento que en la fase de enraizamiento no contenía AIA y al que se le agregó 0.25 y 0.75 mg L⁻¹ de AIA con medias respectivas de 0.51, 0.50 y 0.54 cm.

Entre las medias de la variable número de brotes en las plantas aclimatadas, no presentaron diferencias estadísticas en los cinco tratamientos. No se presentaron diferencias estadísticas entre las medias de la variable raíz de mayor longitud obtenidas en el tratamiento que no se le agregó AIA y a los que se adicionaron concentraciones de 0.25 y 0.50 mg L⁻¹ de AIA resultando medias respectivas de 2.41, 1.90 y 1.97 cm; el tratamiento testigo superó significativamente a las medias que se lograron en los tratamientos que contenían en la fase de enraizamiento 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA.

En plantas aclimatadas en la variable número de raíces no se presentaron diferencias estadísticas entre las medias obtenidas de los tratamientos que en la fase de enraizamiento se le agregaron concentraciones de 0.25, 0.50, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA, pero esas adiciones resultaron significativamente superiores al tratamiento testigo cuya media fue de 3.10 en número de raíces. Los resultados de las variables evaluadas se observan en el Cuadro 13.

Cuadro 13. Aclimatación de plantas de pitahaya amarilla formadas a partir del segmento basal del cladodio a las seis semanas

Tratamientos	Regulador de crecimiento	Variables evaluadas				
	AIA (mg L ⁻¹)	Longitud del cladodio principal (cm)	Diámetro de cladodio (cm)	Número de brotes	Raíz de mayor longitud (cm)	Número de raíces
T ₁	0.00	4.47 ab	0.51 c	1.25 a	2.41 a	3.10 b
T ₂	0.25	4.11 b	0.50 c	1.20 a	1.90 ab	4.60 a
T ₃	0.50	5.02 ab	0.72 a	1.05 a	1.97 ab	4.90 a
T ₄	0.75	5.18 a	0.54 b	0.60 a	1.59 b	5.20 a
T ₅	1.00	5.33 a	0.66 ab	0.60 a	1.56 b	5.10 a

Medias con letras desiguales en una misma columna difieren significativamente según prueba de Duncan para $p \leq 0.05$.

De acuerdo a los resultados obtenidos con la evaluación de segmentos apicales, centrales y basales en plantas aclimatadas en base a las variables longitud del cladodio principal, diámetro del cladodio, número de brotes, raíz de mayor longitud y número de raíces, demostraron que entre los tratamientos no necesariamente el que tuvo mejor respuesta en la fase de enraizamiento fue determinante para lograr los mejores resultados en la fase de aclimatación. Según infante (1997) citado por Perea, Tirano, Mican, Fischer y Rodríguez (2010, p. 126), “la aclimatación en (*H. undatus*) es fácil debido a la estructura suculenta, la superficie cerosa favorece su adaptación a factores ambientales adversos”.

En las secciones de cladodio central y basal en la variable número de brotes, tanto en la fase de enraizamiento y aclimatación, no se presentaron diferencias estadísticas. La adición de AIA en concentraciones entre 0.25 y 1.00 mg L⁻¹ parecen no alterar la respuesta fisiológica de los cladodios, reafirmando que al segmentar los cladodios no se afecta su respuesta morfogénica y por tanto se pueden emplear como fuente de material para la propagación, incrementándose el coeficiente de multiplicación lo que resulta más económica su producción por micropropagación.

Martínez, Rodríguez, Monter, Tejacal, Villegas y López (2011), mencionan que “los explante que originan menos brotes tendrán mejor calidad, (altura, diámetro y consistencia) en comparación con un explante que utiliza más cantidad de energía y nutrientes en formar mayor cantidad de brotes” (p.103). De acuerdo a lo afirmado por estos autores, los resultados obtenidos con los explante en la fase de aclimatación se desarrollarán vigorosamente posterior a esta fase. En la Figura 8 se observan plantas de pitahaya amarilla con seis semanas en fase de aclimatación.



Figura 8. Plantas de pitahaya en fase de aclimatación a las seis semanas.

5.4.4. Porcentaje de supervivencia de las plantas

En la fase de aclimatación con la siembra de segmentos apicales de cladodios desarrollados a las seis semanas, se obtuvo un porcentaje de supervivencia de 92.57%; con segmentos centrales de cladodios el porcentaje de aclimatación fue del 94% y con los segmentos basales de cladodios la supervivencia fue del 93.23%. Los altos porcentajes de supervivencia obtenidos, mostraron la fácil adaptación de la pitahaya amarilla al sustrato compost en condiciones ambientales. En la Figura 9 se presenta los porcentajes de supervivencia de las plantas obtenidas de segmentos del cladodios apicales, centrales y basales.

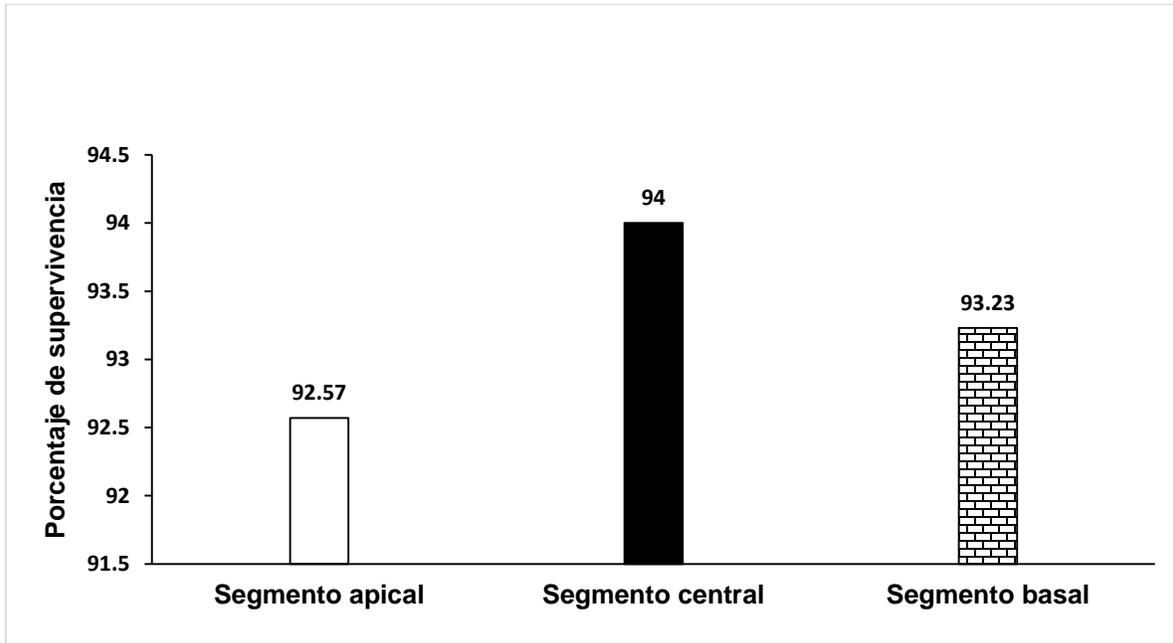


Figura 9. Porcentaje de supervivencia de plantas formadas a partir de segmentos apicales, centrales y basales de cladodios de pitahaya amarilla a las seis semanas de aclimatadas.

Ruiz (2009, p. 33), “reporta un porcentaje de sobrevivencia de 100% en pitahaya roja cv. Chocoya”; mientras que Montiel *et al.*, (2016, p. 120) “en pitahaya amarilla frutos con espinas después de 35 días de aclimatación en un sustrato de perlita y peat moss (1:1) lograron una supervivencia promedio de 97.2.

De acuerdo con (Pacovsky *et al.*, 1985; Puente y Bashan, 1993) citado por Villavicencio, Gonzáles y Carranza (2012), referente al comportamiento de aclimatación en *Epithelantha micromeris* (Engelm), sostienen que:

Depende de las fases anteriores de la micropropagación, debido a que en el cultivo *in vitro* se promueve una respuesta morfogénica; mientras que en la aclimatación se reconstruyen y desarrollan los procesos adaptativos de la planta, como la lignificación de las cubiertas cuticulares y la activación de estomas y órganos fotosintéticos para lograr un desarrollo autónomo (p. 97).

Al respecto, Bunt (1988) citado por Salas, Foroughbackc, Díaz, Cárdenas y Flores (2011) señala que:

La calidad de las plántulas se da de acuerdo del tipo de sustrato donde se desarrollan, en particular de sus características físico-químicas, ya que el desarrollo y el funcionamiento de las raíces están directamente ligados a las condiciones de aireación, contenido de agua, además de tener influencia directa sobre la disponibilidad de los nutrientes (p. 566-567).

VI. CONCLUSIONES

En la fase de establecimiento de acuerdo a las medias obtenidas en las variables número de raíces y longitud del cladodio apical, se puede hacer uso de las variantes de medios de cultivo conteniendo solo las sales MS o adicionar a estas cantidades de 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA.

En la fase de multiplicación con el empleo de segmentos de cladodios apicales y centrales, se obtuvieron los mejores resultados estadísticos en las variables cladodio de mayor longitud y número de cladodios en los tratamientos que se les adicionaron concentraciones de 1.00 mg L⁻¹ de 6-BAP combinado con 0.50 o 1.00 mg L⁻¹ de AIA, mientras que con la siembra de segmentos de cladodios basales, la respuesta de esas variables fue mejor con la adición de 1.00 mg L⁻¹ 6-BAP combinado con 0.50 mg L⁻¹ de AIA.

Con segmentos de cladodios apicales, centrales y basales en la fase de enraizamiento, la variable número de raíces respondió significativamente mejor en los tratamientos que se le adicionaron concentraciones de 0.50, 0.75 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA.

A las seis semanas de aclimatadas las plantas formadas de segmentos apicales, respondieron mejor de acuerdo a las variables evaluadas y con supervivencia del 92.57% por efecto residual del tratamiento que contenía 1.00 mg L⁻¹ de AIA. Plantas formadas a partir de segmentos centrales, hubo mejor respuesta de las variables evaluadas y de supervivencia con el 94% por efecto residual de los tratamientos que se les agregaron concentraciones de 0.50 y 1.00 mg L⁻¹ de AIA. En plantas formadas de segmentos basales se obtuvo mejor efecto residual con el tratamiento que se le agregó 0.50 mg L⁻¹ de AIA en la fase de enraizamiento y la supervivencia fue del 93.23%.

VII. RECOMENDACIONES

Desarrollar estudios de micropropagación a partir de tejidos de propagación vegetativa como los cladodios, con el objetivo de garantizar la uniformidad genética de las plantas reproducidas.

Realizar estudios de manejo agronómico en parcelas experimentales con plantas micropropagadas a partir de semilla sexual, para evaluar la variabilidad genética.

Desarrollar estudios en pitahaya amarilla, con el propósito de conocer las características organolépticas del fruto.

Poner a disposición de los investigadores nacionales, plantas obtenidas para que establezcan experimentos de manejo agronómico, tomando en cuenta la dinámica del cambio climático.

Promover el cultivo de pitahaya amarilla, como un rubro con potencial para la comercialización del fruto a nivel nacional e internacional.

VIII. LITERATURA CITADA

- Agramonte D; F. Jiménez y R. Dita. (1998). Propagación y Mejora Genética de plantas por biotecnología. En: Aclimatización. (Ed.) Pérez Ponce. Santa Clara, Cuba, pp 193-206.
- Alcántara, S; Godoy, J; Alcántara, D; Sánchez, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA*, 17(32). Recuperado de <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/nova/article/view/3639/3732>
- Avalos, R. (2010). *Cultivo y propagación in vitro de cactáceas de los generos Hylocereus y Selenicereus* (Tesis de maestría). Recuperada de <http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/717/340621.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Balaguera-López, H; Morales, E; Almanza-Merchán, P; y Balaguera L, W. (2010). El tamaño del cladodio y los niveles de auxina influyen en la propagación asexual de Pitahaya (*Selenicereus megalanthus* Haw.). *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 4(1), 33-42. Recuperado de <https://doi.org/10.17584/rcch.2010v4i1.1222>
- Carrillo, M; Domínguez, M; Pérez-Reyes, M; Pérez-Molphe, E. (2012). Cultivo y propagación in vitro de cactáceas amenazadas del genero *Turbiniacarpus*. *Interciencia*, 37(2). Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/339/33922717006.pdf>
- Flores, A. (2016). *Micropropagación de Hymenocallis harrisiana (Herb.)* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/65262/Tesis%20Mayra%20P%20Flores%20Alcantara-split-merge.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Gisbert Doménech, C. (2010). *Morfogénesis: la ruta organogénica versus la ruta embriogénica*. Recuperado de <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/11526/Microsoft%20Word%20-%20art%20EDculo%20docente%20cgisbert%20sept2010.pdf?sequence=1>
- Heather Kropp, A. (2018). Plantas CAM. *Ask A Biologist*. Recuperado de <https://askabiologist.asu.edu/plantas-c-a-m#:~:text=Los%20cactus%20almacenan%20el%20di%C3%B3xido,when%20los%20es tomas%20se%20abren.&text=Unas%20pocas%20plantas%20acu%C3%A1ticas%20incluso%20usan%20la%20fotos%C3%ADntesis%20CAM.>
- Jiménez, A . E. (1998). Generalidades del cultivo *in vitro*. En: *Propagación y Mejora Genética de plantas por biotecnología* (ed.) Pérez Ponce. Santa Clara, Cuba: pp 13-24.
- Jordán, M; Casareto, J. (2006). *Hormonas y reguladores de crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citoquininas*. Recuperado de <http://www.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Auxinasgiberelinasycitocininas.pdf>

- Lallana, V; Lallana, M. (2001). *Hormonas vegetales*. Recuperado de [https://www.academia.edu/14728861/MANUAL_DE_PRACTICAS_DE_FISIOLOGIA_VEGETAL Facultad de Ciencias Agropecuarias UNER Autores Lallana V H y Lallana Ma del C 2001 HORMONAS VEGETALES Contenido](https://www.academia.edu/14728861/MANUAL_DE_PRACTICAS_DE_FISIOLOGIA_VEGETAL_Facultad_de_Ciencias_Agropecuarias_UNER_Autores_Lallana_V_H_y_Lallana_Ma_del_C_2001_HORMONAS_VEGETALES_Contenido)
- Lema-Rumińska, J; Kulus, D. (2014). Micropropagation of cacti – A review. *Haseltonia*, 19 (19): doi: 10.2985/026.019.0107. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/259778872_Micropropagation_of_Cacti-a_Review
- Martínez, Y; Rodríguez, M; Monter, A; Tejacal, I; Villegas, O y López, V. (2011). Cultivo in vitro de pitayo (*Stenocereus stellatus* [Pfeiffer] Riccobono) México. *Revista Chapingo serie horticultura*, 17(3), 95-105 Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v17n3/v17n3a2.pdf>
- Martínez-Mendoza, T; Llana-Olivas, N. (2003). *Caracterización y evaluación de siete clones de Pitahaya (Hylocereus spp.) En el centro Experimental Campos Azules (CECA), Masatepe, Masaya* (Tesis de pregrado). Recuperada de <http://repositorio.una.edu.ni/1911/1/tnf30m385c.pdf>
- Mizrahi, Y. (2014). Vine-cacti pitayas: the new crops of the world. *Rev Bras Frutic*, 36(1). Recuperado de <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v36n1/v36n1a14.pdf>
- Montesinos Cruz, J; Rodríguez-Larramendi, L; Ortiz-Pérez, R; Fonseca-Flores, M; Ruíz-Herrera, G; Guevara-Hernández, F. (2015). Pitahaya (*Hylocereus* spp.) un recurso filogenético con historia y futuro para el trópico seco mexicano. *SciELO*, 3(6). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362015000500007#nA
- Montiel, L. (2017). *Conservación in vitro de pitahaya (Hylocereus spp.) mediante el cultivo de mínimo crecimiento* (Tesis de maestría). Recuperada de http://literatura.ciidiroaxaca.ipn.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/LITER_CIIDIROAX/393/Montiel%20Frausto%2C%20L.%20B..pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Montiel, L; Enríquez, J; Cisneros, A. (2016). Propagación in vitro de *Hylocereus monacanthus* (Lem.) Britton y Rose. *IBP*, 16(2). Recuperado de <https://biblat.unam.mx/hevila/Biotecnologiavegetal/2016/vol16/no2/6.pdf>
- Morales, M. (2000). *Inducción de germinación, crecimiento de plántula y cultivo in vitro de pitahaya Hylocerem undatus (Haworth) Brítton and Rose* (Tesis de maestría). Recuperada de <http://eprints.uanl.mx/782/1/1080124407.PDF>
- Navarro. (2019). *Micropropagación de caña de azúcar (Saccharum officinarum L.) del cultivar CCO6-791* (Tesis de pregrado). Recuperado de <https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf02n322.pdf>

- 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*, (04). Recuperado de http://respyn2.uanl.mx/especiales/2012/ee-04-2012/documentos/sesion_2/12.pdf
- Ordoñez, M. (2003). *Propagación in vitro de Mammillaria voburnensis Scheer. (Cactaceae)* (Tesis de pregrado). Recuperada de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2162.pdf
- Orellana, P. (1998). Introducción a la Propagación masiva. En Propagación y Mejora Genética de las plantas por biotecnología (Ed.) Pérez Ponce. Santa Clara, Cuba, p. 151 -178.
- Ortiz, Y; Livera, M; Carrillo, J; Valencia, A y Castillo, R. (2012). Agronomical, physiological, and cultural contributions of pitahaya (*Hylocereus* spp.) in Mexico. *Israel Journal of Plant Sciences* 60, 359-370. Recuperada de https://www.researchgate.net/publication/306220317_Agronomical_physiological_and_cultural_contributions_of_pitahaya_Hylocereus_spp_in_Mexico
- Padrón-Pereida, C. (2012). Innovaciones en el agrosarrollo de las cactáceas. *RVCTA*, 3(1). Recuperado de <https://sites.google.com/site/1rvcta/v3-n1-2012/h4>
- Paredes-Bautista, K. (2014). *Estudio del efecto del hidrogenofriamiento y la utilización de dos tipos de empaques en la calidad poscosecha de pitahaya amarilla (Selenicereus megalanthus)*. Recuperado de <https://studylib.es/doc/1245877/cd-5552.pdf>
- Perea, M; Tirado, A; Mican, Y, Fischer, G y Rodríguez, J. (2010). *Cactaceae Pitahaya Selenicereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Moran (Cactaceae)*. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/257765612_Pitahaya_Selenicereus_megalanthus_K_Schum_ex_Vaupel
- 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* (Tesis de pregrado). Recuperada de <https://ninive.uaslp.mx/xmlui/bitstream/handle/i/3473/IAF1MIC01101.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rocha, M. (2013). *Micropropagación in vitro de cactus cola de rata Aporocactus flagelliformis (L)* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repository.ut.edu.co/bitstream/001/1082/1/RIUT-AAA-spa-2014-Micropropagaci%C3%B3n%20in%20vitro%20de%20cactus%20cola%20de%20rata%20Aporocactus%20flagelliformis%20%28L%29.pdf>
- Rodríguez, J; Rodríguez, A; Quintero, S; Torres, M; Fundora, Z. (2004). Influencia de los medios de cultivo en la micropropagación de plátano (*musa* spp.) y malanga (*Xanthosoma sagittifolium* Schott.). *Cultivos Tropicales* 25(1). Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193230179004.pdf>

- 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). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/262733747_Efecto_de_la_concentracion_y_de_los_componentes_del_medio_de_cultivo_MS_sobre_la_germinacion_in_vitro_de_Ugni_molinae
- Ruvalcaba, D; Rojas, D; Valencia, J. (2010). Propagación in vitro de *Coryphantha retusa* (Britton & Rose) un cactus endémico y amenazado. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12 (1). Recuperado de <https://www.redalyc.org/pdf/939/93913074015.pdf>
- Ruiz, L. (2009). *Estudio de medios de cultivos, explantes, frascos y sustratos en cladodio de pitahaya (Hylocereus undatus Britton et Rose) cv. Chocoya de Nicaragua en fase de micropropagación* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.una.edu.ni/2155/1/tnf01r934e.pdf>
- Salas, L; Foroughbackc, R; Díaz, M; Cárdenas, M y Flores, A. (2011). Germinación in vitro de cactáceas, utilizando zeolita como sustrato alternativo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub*, (3). Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v2nspe3/vspen3a13.pdf>
- Sánchez, E. (2012). Pitahaya nicaragüense podrá ingresar pronto al mercado de EEUU. *El 19*. Recuperado de http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/slm_agronoticias/2012/12-15/NI/NI2.pdf
- Schulze, J. (2004). *Elaboración de una guía ilustrada de Cactáceas en Honduras* (Tesis de pregrado). Recuperada de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5631/1/IAD-2004-T024.pdf>
- Soltero, R; Portillo, L; Santacruz, F. (2013). *Manual de Biotecnología Vegetal* (Segunda edición). Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/319287759_Manual_de_Biotecnologia_Vegetal
- Suárez, R; Caetano, C; Ramírez, H; Morales, J. (2014). Multiplicación de *Selenicereus megalanthus* (pitahaya amarilla) e *Hylocereus polyrhizus* (pitahaya roja) vía organogénesis somática. *Revista scielo*. 272- 281. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/acag/v63n3/v63n3a10.pdf>
- Suárez, R. (2011). *Evaluación de métodos de propagación en pitahaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (Haw.) Britt & Rose y pitahaya roja *Hylocereus polyrhizus* (Haw.) Britt & Rose* (Tesis de pregrado). Recuperada de <http://bdigital.unal.edu.co/4471/1/7207004.2011.pdf>

- Vallecillo, R. (2015). *Una técnica innovadora de injertar pitahayas en esquejes de tionoste*. Recuperado de <http://www.simas.org.ni/media/publicaciones/TECNICA%20INNOVADORA%20PITAYA%20TEONOSTE.pdf>
- Villavicencio, E; Gonzáles, A; Carranza, M. (2012). Micropropagación de *Epithelantha micromeris* (Engelm.) F.A.C. Weber ex Britt. y *Rose* cactácea ornamental y recurso fitogenético del desierto Chihuahuense. *Rev. Mex Cien For*, 3(14). Recuperado de <http://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v3n14/v3n14a7.pdf>
- 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). Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5644629>

IX. ANEXOS

Anexo 1. Análisis químico del compost utilizado en la fase de aclimatación.

Resultados de análisis del abono orgánico	
Identificación	Contenido
MO	8.68
N	1.44 %
P	0.34 %
K	0.70 %
Ca	1.51 %
Mg	0.30 %
Fe	19.9 Ppm
Cu	90.0 Ppm
Mn	139.1 Ppm
Zn	175.0 Ppm
PS	17.95
%H	28.55
pH	6.98
CE	1590.00

Anexo 2. Plantas de pitahaya amarilla desarrolladas en la fase de establecimiento.

