



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**EVALUACIÓN DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO CON  
POTENCIAL PARA LA MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE  
LA PITAHAYA AMARILLA (*Selenicereus megalanthus*), EN  
LA PROVINCIA DE CHACHAPOYAS, AMAZONAS.**

**Autor: Bach. Gerardo Mállap Detquizán**

**Asesora: Ligia Magali García Rosero, PhD**

**Co-asesora: Ing. Nuri Carito Vilca Valqui**

**Registro: (...)**

**CHACHAPOYAS – PERÚ**

**2020**



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**EVALUACIÓN DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO CON  
POTENCIAL PARA LA MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE  
LA PITAHAYA AMARILLA (*Selenicereus megalanthus*), EN  
LA PROVINCIA DE CHACHAPOYAS, AMAZONAS.**

**Autor: Bach. Gerardo Mállap Detquizán**

**Asesora: Ligia Magali García Rosero, PhD**

**Co-asesora: Ing. Nuri Carito Vilca Valqui**

**Registro: (...)**

**CHACHAPOYAS – PERÚ**

**2020**

## **DEDICATORIA**

A Dios por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme brindado salud, además de su infinita bondad y amor. Gracias a mis padres por haberme apoyado en todo momento, por sus motivaciones y constantes consejos que me han permitido ser una persona de bien.

A mis familiares, en especial a mi esposa por estar en los momentos buenos y malos que he pasado, a mis hermanos por su motivación a seguir adelante. Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

**GERARDO MÁLLAP DETQUIZÁN**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Dios por guiarme y protegerme a lo largo de mi existencia, por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a mis padres, por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar y creer en mis expectativas, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

Agradezco a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza a nuestros docentes de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Escuela profesional de Ingeniería Agrónoma, por haber compartido sus conocimientos a lo largo de la preparación de mi profesión, de manera especial, a los docentes y asesor de este proyecto de Investigación, a la asesora Ligia Magali García Rosero PH.D. y al Co-asesor, Ing. Nuri Carito Vilca Valqui, quienes me han guiado con su paciencia en todo el transcurso de esta tesis.

Un agradecimiento especial al Instituto de Investigación Para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES) y al Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), en el cual se realizaron todas las actividades que ayudaron a cumplir con la ejecución de la presente tesis.

Un agradecimiento a todos mis compañeros trabajadores y tesisistas que forman parte del Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM) quienes cumplen sus labores en las diferentes áreas por el apoyo que me dieron en el transcurso de todo el proyecto de tesis.

**GERARDO MÁLLAP DETQUIZÁN**

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ  
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Dr. POLICARPIO CHAUCA VALQUI

**Rector**

Dr. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN

**Vicerrector académico**

Dra. FLOR TERESA GARCÍA HUAMÁN

**Vicerrectora Administrativa**

Ing. M. Sc. ERICK ALDO AUQUIÑIVÍN SILVA

**Decano de la Facultad**

**de Ingeniería y Ciencias Agrarias**

## VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS

El docente de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Ligia Magali García Rosero PH.D. Docente contratada de la Escuela Profesional de Ingeniería Agrónoma que suscribe, hace constar que ha asesorado la tesis titulada: **EVALUACIÓN DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO CON POTENCIAL PARA LA MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE LA PITAHAYA AMARILLA (*Selenicereus megalanthus*), EN LA PROVINCIA DE CHACHAPOYAS, AMAZONAS**, del tesista Bach. Gerardo Mállap Detquizán, egresado de la carrera profesional de Ingeniería Agrónoma de la UNTRM-A.

El docente de la UNTRM-A que suscribe da su Visto Bueno para que la Tesis mencionada sea presentada al Jurado Evaluador, manifestando su voluntad de apoyar al Tesista en el levantamiento de observaciones y en el Acto de Sustentación de Tesis.

Chachapoyas, junio de 2020



---

Ligia Magali García Rosero PH.D.

Asesor

## VISTO BUENO DEL CO-ASESOR DE TESIS

El Ing. Nuri Carito Vilca Valqui trabajadora contratada por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza, hace constar que ha asesorado la tesis titulada: **EVALUACIÓN DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO CON POTENCIAL PARA LA MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE LA PITAHAYA AMARILLA (*Selenicereus megalanthus*), EN LA PROVINCIA DE CHACHAPOYAS, AMAZONAS**, del Bach. Gerardo Mállap Detquizán, egresado de la carrera profesional de Ingeniería Agrónoma de la UNTRM-A.

El Ingeniero y docente de la UNTRM-A, que suscribe da su Visto Bueno para que la Tesis mencionada sea presentada al Jurado Evaluador, manifestando su voluntad de apoyar al Tesista en el levantamiento de observaciones y en el Acto de Sustentación de Tesis.

Chachapoyas, junio de 2020.



---

Ing. Nuri Carito Vilca Valqui  
Co-Asesor

**JURADO DE TESIS**



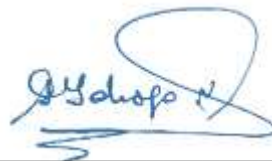
---

ING. MSc. WALTER DANIEL SÁNCHEZ AGUILAR  
**PRESIDENTE**



---

ING. MG. C. CÉSAR GUEVARA HOYOS  
**SECRETARIO**



---

ING. GUILLERMO IDROGO VASQUEZ  
**VOCAL**





**ANEXO 3-K**

**DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO DE TESIS  
PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL**

Yo Gerardo Malla Detquivizán  
identificado con DNI N° 45877014 Estudiante( )/Egresado (X) de la Escuela Profesional de  
Ingeniería Agrónoma de la Facultad de:  
Ingeniería y ciencias agrarias  
de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

**DECLARO BAJO JURAMENTO QUE:**

1. Soy autor de la Tesis titulada: EVALUACIÓN DE CUATRO MEDIOS DE CULTIVO  
CON POTENCIAL PARA LA MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE LA PITAHAYA  
AMARELLA (Selenicereus megalanthus), EN LA PROVINCIA DE  
CHACHAPOYAS, AMAZONAS?



que presento para  
obtener el Título Profesional de: Ingeniero Agrónomo

2. La Tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente, y para su realización se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas.
3. La Tesis presentada no atenta contra derechos de terceros.
4. La Tesis presentada no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
5. La información presentada es real y no ha sido falsificada, ni duplicada, ni copiada.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo toda responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la Tesis para obtener el Título Profesional, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. Asimismo, por la presente me comprometo a asumir además todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse para la UNTRM en favor de terceros por motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la Tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que la Tesis para obtener el Título Profesional haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones civiles y penales que de mi acción se deriven.

Chachapoyas, 29 de junio de 2020

Firma del(a) tesista



**ANEXO 3-N**

**ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE TESIS  
PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL**

En la ciudad de Chachapoyas, el día 26 de Junio del año 2020, siendo las 4:15 horas, el aspirante Bach. Gerardo Mállop Dotquiza defiende en sesión pública la Tesis titulada: "Evaluación de cuatro medios de cultivo con potencial para la multiplicación in vitro de la Pitahaya Amarilla (*Selenicereus megalanthus*), en la provincia de Chachapoyas, Amazonas".

para obtener el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo  
a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, ante el Jurado Evaluador constituido por:



Presidente Ing. Walter Daniel Sánchez Aguilar  
Secretario Ing. César Guevara Hoya  
Vocal Ing. Guillermo Rodrigo Vásquez

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la introducción, Material y método, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto, a fin de que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado (  )      Desaprobado (  )

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 5:20 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

SECRETARIO

VOCAL

PRESIDENTE

OBSERVACIONES

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	iii
AGRADECIMIENTOS .....	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS .....	v
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS .....	vi
VISTO BUENO DEL CO-ASESOR DE TESIS .....	vii
JURADO DE TESIS .....	viii
DECLARACIÓN JURADA DE NO PLAGIO .....	ix
ACTA DE EVALUACIÓN DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS .....	x
ÍNDICE GENERAL .....	xi
ÍNDICE DE TABLAS .....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiv
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS .....	xv
RESUMEN .....	xvi
ABSTRACT .....	xvii
I. INTRODUCCIÓN .....	18
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	20
2.1 Ubicación de la investigación.....	20
2.2 Materiales y Equipos .....	20
2.2.1 Materiales.....	20
2.2.2 Equipos.....	21
2.3 Población, muestra y muestreo.....	22
2.3.1 Población: .....	22
2.3.2 Muestra: .....	22
2.4 Diseño de los tratamientos .....	22
2.5 Características de la unidad experimental DCA.....	22
2.6 Características de la unidad experimental Tratamientos y repeticiones.....	23
2.7 Distribución de los tratamientos.....	23
Tabla 5. Distribución de tratamientos. ....	23
2.8 Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos y procedimientos.....	23
2.8.1 Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	24

2.8.2	Procedimientos.....	24
2.8.3	Diseño experimental .....	25
2.9	Variables evaluadas .....	25
3.0	Análisis de datos.....	27
III.	RESULTADOS .....	28
	Parámetros de evaluación .....	28
3.1	Formación de callos.....	28
3.2	Porcentaje de enraizamiento.....	30
3.3	Número de brotes. ....	31
3.4	Longitud de brotes.....	33
3.5	Número de areolas por brote .....	34
IV.	DISCUSIÓN.....	35
V.	CONCLUSIONES.....	40
VI.	RECOMENDACIONES .....	41
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	42
	ANEXOS .....	47
	ANEXO N°01. Figuras del desarrollo experimental .....	47
	ANEXO N°02. Tablas de procesamiento estadístico. ....	48
	ANEXO N°03. FLUJOGRAMAS .....	51
	ANEXO N°04. GALERÍA FOTOGRÁFICA .....	56

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Materiales de investigación. ....	20
<b>Tabla 2.</b> Equipos disponibles. ....	21
<b>Tabla 3.</b> Descripción (DCA). ....	22
<b>Tabla 4.</b> Diseño experimental. ....	23
<b>Tabla 5.</b> Distribución de tratamientos. ....	23
<b>Tabla 6.</b> Análisis de varianza (ANVA) para el diseño completo al azar con diferente número de repeticiones por tratamiento. ....	27
<b>Tabla 7.</b> Cuadro de Análisis de la Varianza. ....	28
<b>Tabla 8.</b> Escala de formación de callos (Santana, 1982). ....	30
<b>Tabla 9.</b> Cuadro de análisis de varianza. ....	31
<b>Tabla 10.</b> Cuadro de análisis de varianza. ....	32
<b>Tabla 11.</b> Cuadro de análisis de varianza. ....	33
<b>Tabla 12.</b> Cuadro de análisis de varianza. ....	34
<b>Tabla 13.</b> Coeficiente de variación para la formación de callos (presencia y ausencia). ....	48
<b>Tabla 14.</b> Test de Tukey para formación de callos (presencia y ausencia). ....	48
<b>Tabla 15.</b> Coeficiente de variación para el porcentaje de enraizamiento (presencia y ausencia). ....	48
<b>Tabla 16.</b> Test de Tukey para porcentaje de enraizamiento (presencia y ausencia). ....	48
<b>Tabla 17.</b> Coeficiente de variación para el número de brotes (presencia y ausencia). ..	48
<b>Tabla 18.</b> Test de Tukey para el número de brotes. ....	49
<b>Tabla 19.</b> Coeficiente de variación para la longitud de brotes. ....	49
<b>Tabla 20.</b> Test de Tukey para la longitud de brotes. ....	49
<b>Tabla 21.</b> Coeficiente de variación para el número de areolas por brote. ....	49
<b>Tabla 22.</b> Test de Tukey para el número de areolas por brote. ....	49
<b>Tabla 23.</b> Propiedades nutricionales del endospermo líquido de coco. ....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ubicación del laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal (FISIOBVEG), de la “UNTRM” ubicado en la provincia de Chachapoyas, Región Amazonas.....	20
<b>Figura 2.</b> Porcentaje de callosidad de cada tratamiento (escala de 0 a 100 %). .....	29
<b>Figura 3.</b> Porcentaje de formación de callos.....	30
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de enraizamiento.....	31
<b>Figura 5.</b> Número de brotes. ....	32
<b>Figura 6.</b> Longitud de brotes.....	33
<b>Figura 7.</b> Número de areolas por brote. ....	34
<b>Figura 8.</b> Curva de crecimiento de brotes.....	47

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

<b>Fotografía 1.</b> Preparación de los medios de cultivos según tratamiento; <b>A:</b> pesaje de las sustancias utilizadas en cada tratamiento; <b>B:</b> medición de pH de cada medio respectivo. ....	56
<b>Fotografía 2.</b> Dilución de los medios de cultivo según tratamiento 1, 2, 3 y 4; <b>A</b> = T1, <b>B</b> = T2, <b>C</b> = T3 y <b>D</b> = T4 respectivamente. ....	56
<b>Fotografía 3.</b> Medios de cultivo puestos en autoclave. <b>A:</b> medios colocados en frascos magenta después de su dilución; <b>B:</b> medios puesto en la gradilla de autoclavado; <b>C:</b> medios de cultivo en proceso de autolavado (durante 20 minutos a 120°c).....	57
<b>Fotografía 4.</b> Multiplicación in vitro. <b>A:</b> materiales utilizados en UV (20 m) previo a la multiplicación; <b>B:</b> Multiplicación de la pitahaya amarilla en cada tratamiento. ....	57
<b>Fotografía 5.</b> Tratamientos 1 y 2 instalados en cámara de crecimiento in vitro.....	58
<b>Fotografía 6.</b> Tratamiento 3 instalado en cámara de crecimiento in vitro.....	58
<b>Fotografía 7.</b> Tratamiento 4 instalado en cámara de crecimiento in vitro.....	59
<b>Fotografía 8.</b> Pitahaya amarilla establecido en medio de cultivo.....	59
<b>Fotografía 9.</b> Medios stock ANA y BAP.....	60
<b>Fotografía 10.</b> Ausencia y presencia de callosidad. <b>A:</b> 0 = NFC; <b>B:</b> 1 = LFC; <b>C:</b> 2 = FC y <b>D:</b> 3 = AFC. Resultados obtenidos por esta investigación. ....	60
<b>Fotografía 11.</b> Presencia y ausencia de raíz. Presencia de raíz en la imagen <b>A</b> y <b>B</b> (T3), y ausencia de raíz en la imagen <b>C</b> y <b>D</b> (T1 y T2). Según escala presencia de raíz 100% y ausencia de raíz 0%.....	61
<b>Fotografía 12.</b> <b>A:</b> Formación de brotes a partir de las areolas (T3) y <b>B:</b> brotes con presencia de raíz (T3). ....	61
<b>Fotografía 13.</b> Longitud de brotes a los 60 días (T3). ....	62

## RESUMEN

El cultivo de la pitahaya amarilla en Amazonas es altamente promisorio debido a que existen las condiciones agroecológicas adecuadas para su crecimiento. La investigación se realizó en las instalaciones del laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal (FISIOBVEG) a nivel *in vitro*, perteneciente al Instituto de Investigaciones para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES), Chachapoyas – Amazonas, de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza (UNTRM). Se evaluaron cuatro medios de cultivo T1 = MS al 100%; T2 = MS al 100% + 10 ml de agua de coco “AC”; T3 = MS al 100% + 20 ml de agua de coco “AC” + 2 g/L de carbón activado “CA” y T4 = MS al 100% + 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L de BAP). Utilizando tallos de pitahaya amarilla de 1 cm para la multiplicación, se evaluaron en cuatro medios de cultivo. Se realizó un diseño experimental completamente al azar (DCA) con 4 tratamientos, 40 repeticiones y 160 unidades de observación en total. Se realizó la transformación de los datos aplicando la  $\sqrt{Y+0.5}$  para realizar el análisis de varianza (ANOVA) paramétrica de Tukey al 0.01 de significancia. Se obtuvo como resultado que el T3 tiene efecto significativo en menor presencia de callo 12.5% según escala, mayor porcentaje de enraizamiento con 82.50%, mayor número de brotes con un máximo de 6 brotes, mayor longitud de brote con un máximo de 3.62 cm y mayor número de areolas por brote con un máximo de 45 areolas por brote. En conclusión, el T3 tubo significancia en cuanto a los demás tratamientos.

Palabras claves: *Selenicereus megalanthus*; explante; cultivo in vitro; medio de cultivo



## ABSTRACT

The cultivation of yellow pitahaya in Amazonas is highly promising because there are adequate agro-ecological conditions for its growth. The research was carried out in the facilities of the plant physiology and biotechnology laboratory (FISIOBVEG) at the in vitro level, belonging to the Research Institute for the Sustainable Development of Ceja de Selva (INDES-CES), Chachapoyas - Amazonas, of the Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza (UNTRM). Four culture media T1 = 100% MS were evaluated; T2 = 100% MS + 10 ml of coconut water "AC"; T3 = 100% MS + 20 ml of coconut water "AC" + 2 g / L of activated carbon "CA" and T4 = 100% MS + 3 mg / L of ANA + 0.1 mg / L of BAP). Using 1 cm yellow pitahaya stems for multiplication, they were evaluated in four culture media. A completely randomized experimental design (DCA) was carried out with 4 treatments, 40 repetitions and 160 observation units in total. The transformation of the data was performed applying the  $\sqrt{Y} + 0.5$  to perform the Tukey parametric analysis of variance (ANOVA) at 0.01 significance. It was obtained as a result that the T3 has a significant effect in less presence of callus 12.5% according to scale, higher percentage of rooting with 82.50%, greater number of shoots with a maximum of 6 shoots, greater shoot length with a maximum of 3.62 cm and greater number of areolas per outbreak with a maximum of 45 areolas per outbreak. In conclusion, the T3 tube significance regarding the other treatments.

Key words: *Selenicereus megalanthus*; explant; in vitro culture; culture medium

## I. INTRODUCCIÓN

La pitahaya es una planta originaria del continente americano y perteneciente a la familia Cactaceae, fue descrita en el siglo XVI por primera vez en el libro “Historia general y natural de las Indias, islas y tierra firme del mar océano”, del botánico y colonizador español Gonzalo Fernández de Oviedo (1526), citado por Fernández et al., (2019). A lo largo del continente americano podemos encontrar diversos nombres para referirnos a esta fruta exótica. De esta manera se ha citado algunos ejemplos destacables, en Colombia se le conoce como flor de cáliz, pitajaja o pitaya, en Guatemala como pitaya, en Nicaragua como pitahaya, en Cuba como pitajaja, en Perú como pitahaya y en México como junco tapatío, pitahaya orejona o tasajo (Meráz et al., 2003).

Suaréz, (2011) precisa que la pitahaya amarilla es un cultivo originario de América tropical: México, Centro América y El caribe. La especie *Hylocereus undatus*, habitualmente se conoce como pitahaya roja, se cultivan esencialmente en Centro América e Israel, en tanto que la pitahaya amarilla genero *Selenicereus* spp., con 20 especies, se distribuyen en los países de América del sur como Bolivia, Perú, Ecuador, Colombia y Venezuela (Dios, 2004). La especie *Selenicereus megalanthus*, conocida como Pitahaya amarilla; es una planta perenne el cual presenta varios sinónimos como *Cereus megalanthus*, *Mediocactus megalanthus*, *Hylocereus megalanthus* y se encuentran naturalmente en Colombia, Ecuador, Bolivia y Perú (Zambrano et al., 2015).

Hoy en día en los mercados nacionales, internacionales y a nivel mundial consideran a la pitahaya una fruta de gran aprobación, a causa del exquisito sabor dulce y fresco y a sus propiedades medicinales (Balaguera et al., 2011). La demanda de pitahaya amarilla crece constantemente a nivel mundial, consecuentemente en Colombia (principal productor). La pitahaya no solo es utilizada para el consumo de fruta fresca, sino que tiene un gran potencial en sectores de la industria como alimentos procesados, farmacéutico, pecuario y químico (Perea et al., 2010). Adicionalmente, la pitahaya presenta la ventaja de tener metabolismo CAM, que le permite ser eficiente en el uso del agua y por tanto es una alternativa de cultivo para sectores de baja precipitación;

así como una especie probablemente bien adaptada para enfrentar el cambio climático (Salazar, 2013).

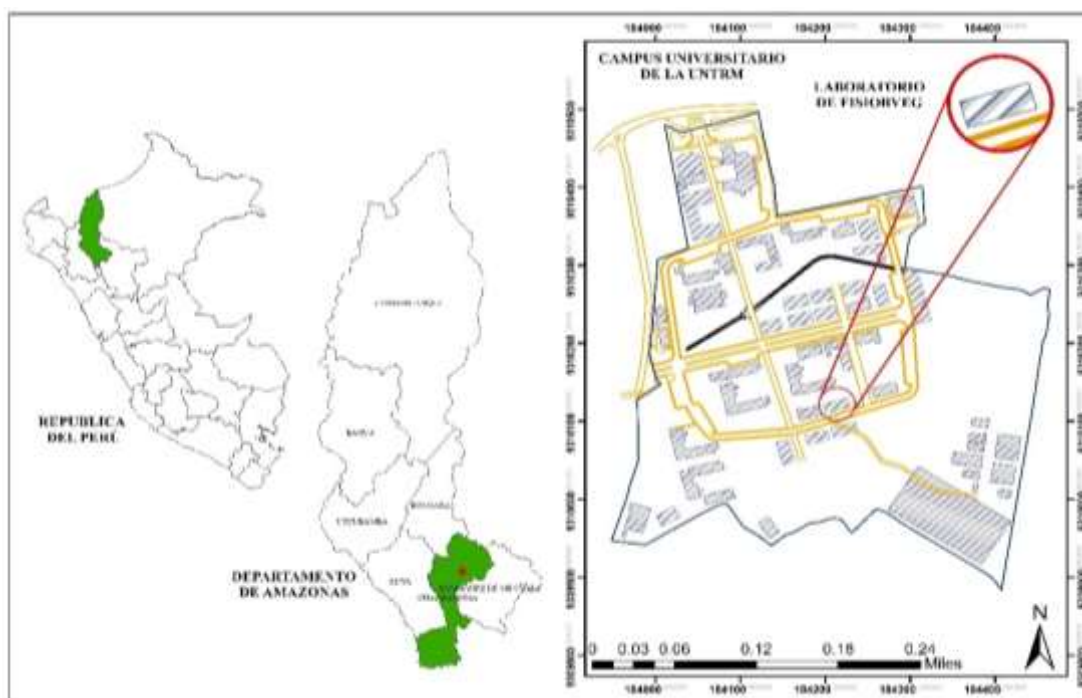
La ascendente introducción de la pitahaya en el mercado nacional e internacional, demanda un mayor esfuerzo en la investigación, en la mejora y eficacia del proceso de propagación, para la obtención masiva y uniforme de plantas élites con la capacidad de tolerar a los agentes patógenos; así como a la creación de protocolos confiables como origen para programas de mejoramiento de plantas por ingeniería genética a partir de especies seleccionadas (Suárez et al., 2014).

La investigación en cultivo *in vitro* se ha detallado para distintas cactáceas, así como para *Selenicereus megalanthus* se encuentran los trabajos de Pelah et al., (2002) y Caetano et al., (2014). Estos generaron un protocolo de regeneración *in vitro* vía organogénesis indirecta en pitahaya amarilla, a partir de meristemos axilares (aréolas), donde utilizaron el TDZ (Thidiazuron) a una dosis de 300  $\mu$ M generando resultados positivos en la formación de callos compactos y el mayor número de brotes formados, y actualmente, el de Suárez et al., (2014), donde multiplicaron vía organogénesis somática, a partir de hojas cotiledonares y fragmentos de tallos, el cual utilizaron Murashige & Skoog (MS) suplementado con auxinas (ANA) y citocininas (Kinetina y BAP) en diferentes concentraciones. Zambrano et al., (2015), quienes realizaron su investigación en la evaluación de reguladores de crecimiento en la propagación *in vitro* de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya amarilla), evaluaron diferentes combinaciones y concentraciones de dos citoquininas (BAP y Kinetina) y una auxina (AIA) vía organogénesis directa, a partir de segmentos nodales. Se encontró que el mejor tratamiento para elongación y producción de brotes fueron BAP 0,5 mg/L y BAP 1,0 mg/L respectivamente. En cuanto a la producción en número de raíces, el mejor tratamiento fue Kinetina (Kin) 1,0 mg/L + AIA 0,3 mg/L. En este contexto, el objetivo de esta investigación fue evaluar cuatro medios de cultivo con potencial para la multiplicación *in vitro* de la pitahaya amarilla utilizando tallos como material vegetal, en medios de cultivo MS suplementados con auxinas y citocininas, carbón activado y agua de coco como alternativa por su alta concentración de nutrientes.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Ubicación de la investigación

El experimento se instaló en el laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal (FISIOBVEG) del INDES-CES de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM) (Figura 1).



**Figura 1.** Ubicación del laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal (FISIOBVEG), de la “UNTRM” ubicado en la provincia de Chachapoyas, Región Amazonas.

### 2.2 Materiales y Equipos

#### 2.2.1 Materiales

**Tabla 1.** Materiales de investigación.

Ítems	Unidad	Cantidad
<b>Materiales de laboratorio</b>		
Vaso de precipitado 1L (Beakers)	Global	4
Vaso de precipitado 50 ml	Global	1
Matraz Erlenmeyer 1L	Global	1
Micropipeta graduada de 100 ml	Global	2
Micropipeta graduada de 1000 ml	Global	1
Baqueta o varilla de agitación	Unidad	1
Mango para bisturí 21	Unidad	2
Hojas de bisturí 21	Unidad	10

Pinza	Unidad	2
Piseta de plástico	Unidad	4
Frascos de magenta	Unidad	40
Probeta 500 ml	Unidad	1
Probeta 50 ml	Unidad	2
Probeta de 25 ml	Unidad	1
Mechero	Unidad	2
Placas Petri	Unidad	4
Papel toalla	Paquete	3
Cinta Parafilm	Rollo	1
Papel aluminio	Rollo	2
Papel kraft	Paquete	1
<b>Reactivos y sustancias de laboratorio</b>		
Murashige & Skoog (SM) 100 %	Unidad	1
Agar 7gr/L	Unidad	1
Sacarosa 30 gr/L		
Carbón activado 2 g/L	Unidad	1
Agua de coco 30 ml	Unidad	1
Ácido Naftalenacético (3 mg/L)	Unidad	1
6-Bencilaminopurine (0,1 mg/L)	Unidad	1
Alcohol etílico 70° (1 L / Fco.)	Unidad	1
Alcohol 96° (1L/Fco)	Unidad	2
<b>Material Vegetal</b>		
“Pitahaya amarilla”	Tallos	160

**Fuente:** Elaboración propia

### 2.2.2 Equipos

**Tabla 2.** Equipos disponibles.

<b>Ítems</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
<b>Equipos</b>		
Laptop Lenovo core i3	Unidad	1
Cámara fotográfica digital	Unidad	1
Balanza analítica	Unidad	1
Navegador Gps	Unidad	1
Cámara de flujo laminar	Unidad	1
Autoclave	Unidad	1
Cocina eléctrica	Unidad	1
Estufa	Unidad	1
Refrigeradora	Unidad	1
PH metro digital	Unidad	1
Vernier	Unidad	1

**Fuente:** Elaboración propia

## 2.3 Población, muestra y muestreo

### 2.3.1 Población:

Estubo conformada por 40 brotes de pitahaya amarilla que ya se encontraron establecidos *in vitro*, desarrollados en el laboratorio de Fisiología Biotecnología Vegetal (FISIOBVEG) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM).

### 2.3.2 Muestra:

La muestra fue conformada por 40 brotes de pitahaya amarilla por 4 tratamientos, las cuales se utilizaron para la multiplicación *in vitro* y a su vez fueron las unidades de observación y estas se desarrollaron en el proyecto de investigación a nivel de laboratorio.

## 2.4 Diseño de los tratamientos

El presente trabajo de investigación se conformó por dos factores, factor A explantes de pitahaya amarilla y el factor B cuatro medios de cultivo, donde se utilizó MS al 100%, agua de coco, carbón activado y reguladores de crecimiento como se detalla en la Tabla 3. Se empleó el Diseño Completamente al Azar (DCA), con 4 tratamientos, con 40 repeticiones siendo en total 160 observaciones.

## 2.5 Características de la unidad experimental DCA.

Tabla 3. Descripción (DCA).

Número Tratamientos	Medio de cultivo y reguladores de crecimiento	Número repeticiones
T1 (testigo)	➤ Murashige y Skoog (MS) al 100% + sacarosa 30 g/L, agar 7g/L	R1, R2, R3.....T40
T2	➤ MS 100% + sacarosa 30 g/L, agar 7g/L + Agua de coco 10%	R1, R2, R3.....T40
T3	➤ MS 100% + sacarosa 30 g/L, agar 7g/L + Agua de coco 20% + Carbón activado 2 gr/L	R1, R2, R3.....T40

T4	➤ MS 100% + sacarosa 30 g/L, agar 7g/L BAP (6-Bencilaminopurina 0.1 mg/L) + ANA (Ácido naftalenacético 3 mg/L)	R1, R2, R3.....T40
Total = 4T		Total = 40 R

## 2.6 Características de la unidad experimental Tratamientos y repeticiones.

**Tabla 4.** Diseño experimental.

Diseño experimental	Diseño Completamente al Azar (DCA)
N° de tratamientos	4
N° total de explantes multiplicados por tratamiento	40
N° total de observaciones	160

## 2.7 Distribución de los tratamientos.

**Tabla 5.** Distribución de tratamientos.

T1	T2	T3	T4
R1	R2	R3	R4
R2	R3	R4	R5
R3	R4	R5	R6
R4	R5	R6	R7
R5	R6	R7	R8
R6	R7	R8	R9
...	...	...	...
...	...	...	...
...	...	...	...
R40	R40	R40	R40

## 2.8 Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos y procedimientos.

Los métodos y técnicas que se realizaron en esta investigación se detallan a continuación:

### **2.8.1 Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

Los datos fueron recolectado a través de mediciones cualitativas y cuantitativas donde se utilizó un formato de evaluaciones correspondientes para cada variable.

### **2.8.2 Procedimientos**

La investigación se conformó de dos etapas, la primera etapa preparación de los medios de cultivo (para los 4 tratamientos) y desinfección de los materiales a utilizar (materiales esterilizados) y la segunda etapa de multiplicación *in vitro*.

#### **A. Primera etapa: Preparación de los medios de cultivo.**

##### **A.1. Preparación de medio de cultivo para el tratamiento 1**

Este proceso se realizó tomando como base la preparación de 1/2 litro de medio sólido Murashige y Skoog (MS), se pesó y se agregó 2,2 gr de MS, se agregó 15 gr de sacarosa, y se agitó hasta tener una solución homogénea, se ajustó a un pH 5.8 (con NaOH 1N y/o HCl 1N). Para la gelificación del medio se añadió 3,5 g de agar. El medio se pasó a calentar, hasta que el agar quedo todo disuelto, se vertió 40 ml de solución a cada frasco de magenta (de 77x 77x97mm), posterior a ello se colocó en la autoclave durante 20 minutos a 120°C y se dejó enfriar a temperatura ambiente, (Suárez et al., 2014). (Anexo 3). Se le añadió como componente de estudio 10 y 20 ml de agua de coco, sumado a ello 1 gr de carbón activado según tratamiento. En función de esto se agregaron concentraciones de reguladores de crecimiento (ANA, BAP), según Estrada et al., (2008). Como se describe en la tabla N°3.

##### **A.2. Desinfección de materiales a utilizar.**

Previamente a la multiplicación *in vitro* todos los materiales que se utilizaron fueron esterilizados en la estufa y autoclave durante 20 minutos a 120°C a 15 lb de presión (pinzas, mango de bisturí y vaso de precipitado), flujograma de esterilización de materiales (Anexo 3). Se desinfectó la cámara de flujo con alcohol (al 96%), se colocaron todos los materiales (esterilizados) a utilizar y se dejó en luz UV por 20 minutos (Anexo 3).



## **B. Segunda etapa: Multiplicación in vitro**

### **B.1. Corte y siembra del explante.**

Se extrajeron segmentos de tallo o cladodio (en cámara de flujo laminar), de 1 cm de longitud de la parte basal del tallo hasta el ápice, donde obtuvimos 2 a 4 explantes (de acuerdo al tamaño del explante) Estrada et al., (2008). Para la multiplicación, se extrajeron los explantes, se cortaron los cladodios (tallos de 1 cm aproximadamente) y se cultivaron 4 explantes por magenta con los medios de cultivo respectivos según tratamiento (tabla 3), se sellaron con cinta Parafilm para evitar algún riego de contaminación por patógenos (hongos, bacterias), se tomaron los registros de identificación (rotulados con fecha y N° de tratamiento) y se trasladaron al ambiente de incubación durante 60 días en un área climatizada con una temperatura de 24°C, 2000 lux y un fotoperíodo de 16 horas luz y ocho horas oscuridad. Se sembraron los brotes con orientación vertical (Estrada et al., 2008).

### **2.8.3 Diseño experimental**

Se utilizó el diseño Completamente al Azar (DCA), con 4 tratamientos, con 40 repeticiones siendo en total 160 observaciones por tratamiento.

## **2.9 Variables evaluadas**

La evaluación de los tratamientos fueron medidas con respecto al tiempo esto se realizó de la siguiente manera:

### **- Porcentaje de formación de callos**

En esta variable se consideró la formación de callos (%), en una escala empleada por Santana, (1982) citado por González et al., (2003).

Donde:

- 0 = no formación de callos,
- 1 = ligera formación de callos (se observó una débil proliferación en zonas del explante)

- 2 = formación de callo (hay proliferación de células por zonas de los bordes del explante)
- 3 = abundante formación de callo (formación de una masa voluminosa de callos).

Que mediante la observación visual (fotografía N°10) se evaluaron la formación de callos de cada tratamiento, tomando como día uno inicial el día en que los explantes fueron sembrados, esta evaluación se realizó a las 3 semanas (21 días), después de instalado los explantes in vitro y se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Formación de callos (\%)} = \frac{\text{número de explantes con callo por tratamiento} \times 100}{\text{número total de explantes por tratamientos}}$$

#### - **Porcentaje de enraizamiento**

Mediante la observación visual se realizó el conteo de 3 raíces con una longitud de 1 cm de cada raíz, para ser denominados como 0 = ausencia de raíz (0%) y 1 = presencia de raíz (100%) según la escala utilizada (Avalos, 2010). Esta evaluación se realizó a los 60 días. (Fotografía N°11)

- Presencia de raíces (1) = 100%
- Ausencia de raíces (0) = 0%

#### - **Número de brotes formados a los 60 días (evaluados cada 7 días)**

Mediante la observación visual se realizó el conteo de los brotes emergentes de las areolas de cada explante, esto se realizó cada 7 días durante un periodo de 60 días.

#### - **Longitud de brotes**

Esta evaluación se realizó con la medida (mm) de cada brote formado en cada tratamiento y se realizó a los 60 días después de la siembra in vitro. Para esta evaluación se midió (con la ayuda de un vernier digital) la longitud desde la base de la arista hasta el ápice del brote formad.

### - Número de areolas por brote

Mediante la observación visual se realizó el conteo de las areolas formadas, de cada brote formado y de cada tratamiento, a los 60 días después de la multiplicación.

### 3.0 Análisis de datos

Para la manipulación de los datos, se trabajó con la ayuda del Excel, los datos se procesaron en el Software estadístico Infostat versión 24. Por lo general estos datos tienen una distribución binomial y no de una distribución normal como se espera, por lo cual se utilizó la transformación de datos utilizando la  $\sqrt{Y + 0.5}$  (Millones, 2018). y sometidos a un análisis de varianza (ANVA) al 1 % de significancia mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 1\%$ ).

**Tabla 6.** Análisis de varianza (ANVA) para el diseño completo al azar con diferente número de repeticiones por tratamiento.

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	F <sub>c</sub>
Tratamiento	SC <sub>tratamiento</sub>	t-1	CM <sub>tratamiento</sub>	CM <sub>tratamiento</sub> /CME
Error	SC <sub>error</sub>	$\sum_{i=1}^t n_i - 1$	CME	
Total	SC <sub>total</sub>	$\sum_{i=1}^t (n_i - 1)$		

**Fuente:** Métodos estadísticos para la investigación (Torres, 2013).

### III. RESULTADOS

#### Parámetros de evaluación

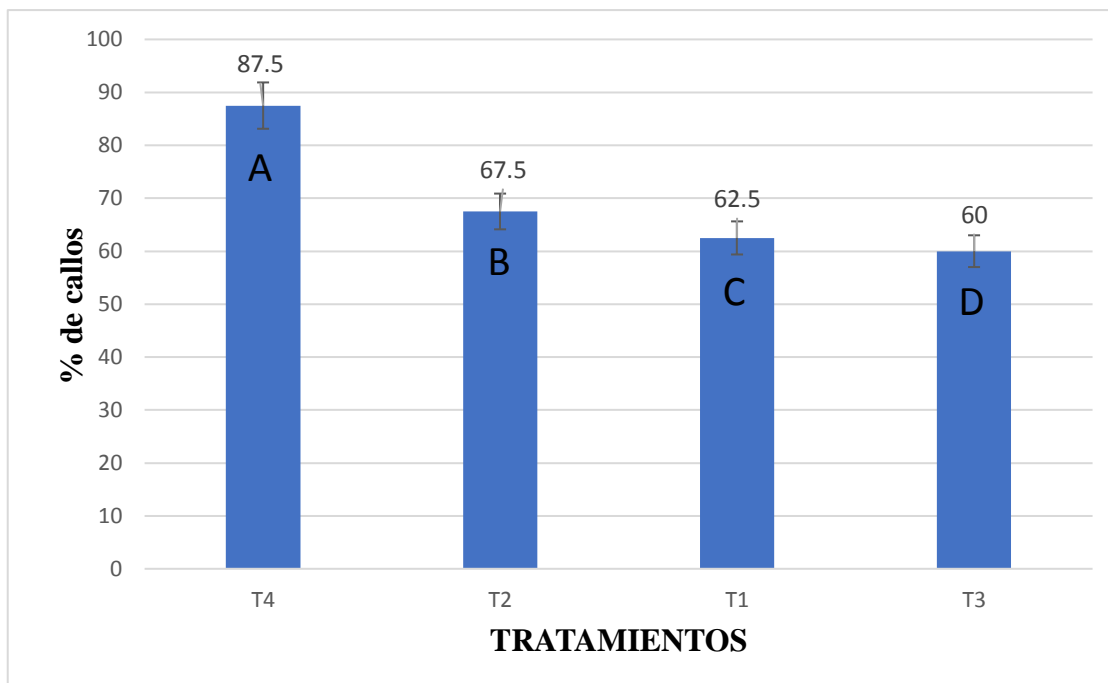
##### 3.1 Formación de callos

En relación a la formación de callos, en la tabla 7 se observan los resultados del análisis de varianza, mostrándose diferencias estadísticas altamente significativas para los cuatro tratamientos. El coeficiente de variación es de 5.308, valor óptimo para este tipo de investigación.

**Tabla 7.** Cuadro de Análisis de la Varianza.

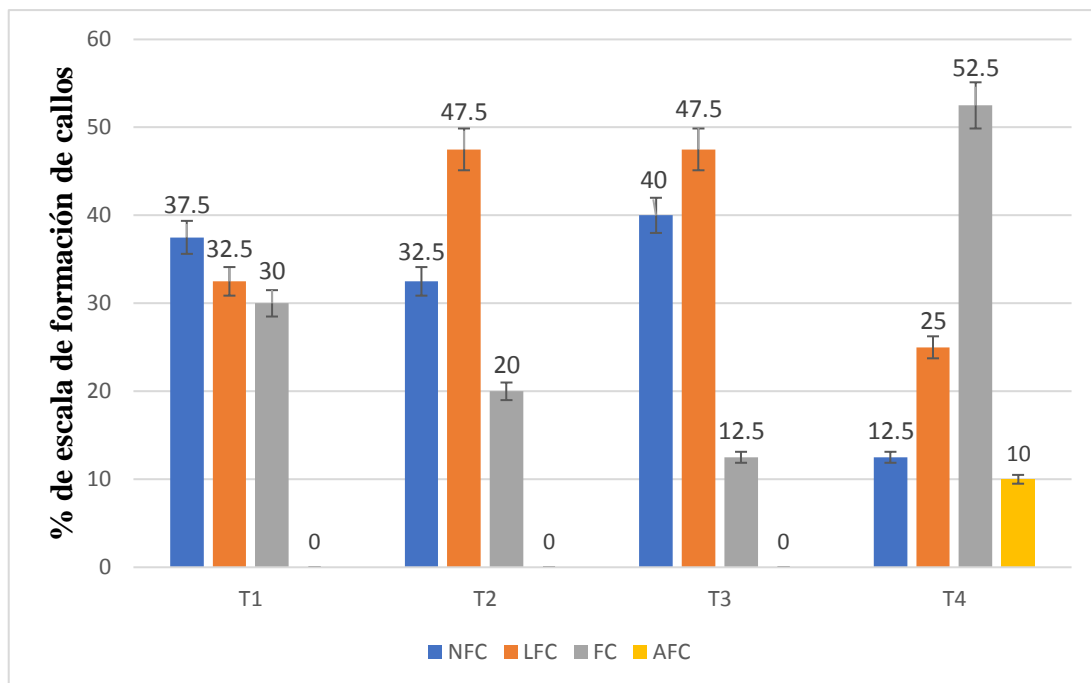
<b>F.V.</b>	<b>gl</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p - valor</b>
TRATAMIENTO	3	18687.50	6229.17	0.4668	<0.0001
Error	156	0.00	0.00		
Total	159	18687.50			

En la figura 2, se muestra en porcentaje la formación de callosidad y la prueba de Tukey  $P < 0.01$  donde se observan cuatro grupos diferentes. El porcentaje de formación de callos (presencia y ausencia) para cada medio de cultivo de cada tratamiento respectivamente. El T4 (MS + ANA + BAP), tiene el mayor porcentaje con 88% de formación de callos (referente al gráfico de barras según la escala de 0 a 100%), el cual contiene 0.1 mg/L de 6-bencilaminopúrina (BAP) y 3 mg/L de ácido-naftalenacético (ANA). El menor porcentaje de formación de callos se encontró en el T3 (MS + AC + CA), con un 60% de formación de callos el cual contiene 20 ml de agua de coco (AC) + 1gr de carbón activado (CA). Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,01$ ) por lo que se acepta la hipótesis alternativa, ya que al menos uno de los tratamientos tiene efecto directo, según (Torres, 2013).



**Figura 2.** Porcentaje de callosidad de cada tratamiento (escala de 0 a 100 %).

En la figura 3, se muestra el porcentaje de formación de callos en la escala 0, 1, 2 y 3 (Santana, 1982), según las denominaciones como se muestra en la tabla 8. Donde se puede ver que en los cuatro tratamientos, para el grado cero (no formación de callos), de los cuales el T4 (MS + ANA + BAP) tiene un 12.5%, el T2 (MS + AC) con un 32.5%, el T1 (MS o testigo) 37.5% y el T3 (MS+AC+CA) con un 40%, a comparación del grado 1 (ligera formación de callos), en los cuatro tratamientos (T1, T2, T3 y T4) respectivamente hay presencia de callo de un 25% en el T4, 32.5% en el T1, un 47.5% en el T2 y de igual manera un 47.5% en el T3. En cuanto a la denominación 2 (formación de callos), se da el mayor porcentaje en el T4 con un 52.5%, y la menor formación de callos se refleja en el T3 con un 12.5%. Y por último en la denominación 3 (alta formación de callos), podemos ver que el T4 tiene un 10% respectivamente.



**Figura 3.** Porcentaje de formación de callos.

**Tabla 8.** Escala de formación de callos (Santana, 1982).

Escala (%)	MS	MS+AC	MS+AC+CA	MS+ANA+BAP
0 = No formación de callos	37.5	32.5	40	12.5
1 = Ligera formación de callos	32.5	47.5	47.5	25
2 = Formación de callos	30	20	12.5	52.5
3 = Alta formación de callos	0	0	0	10
Total	100	100	100	100

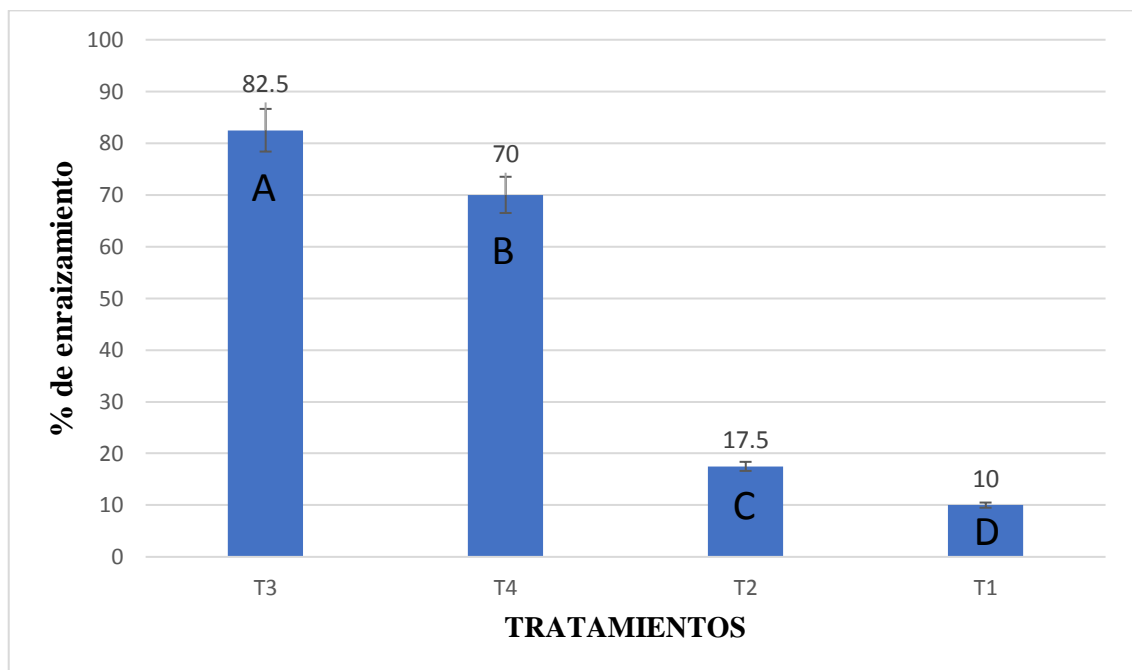
### 3.2 Porcentaje de enraizamiento

En relación al porcentaje de enraizamiento, en la tabla 9, se observan los resultados del análisis de varianza, mostrándose diferencias estadísticas altamente significativas para los cuatro tratamientos. El coeficiente de variación es de 3.27, valor óptimo para este tipo de investigaciones.

**Tabla 9.** Cuadro de análisis de varianza.

F.V.	gl	SC	CM	F	p - valor
TRATAMIENTO	3	160500.00	53500.00	2.50446711	<0.0001
Error	156	3.312.00	0.00		
Total	159	160500.00			

En la figura 4, se muestra en porcentaje la raíz obtenida (ausencia y presencia) de cada tratamiento, la prueba de Tukey  $P < 0.01$  muestra cuatro grupos diferentes, donde los mejores resultados fueron el T3 (MS + AC + CA), con 82.5% con presencia de raíces y un 17.5% con ausencia de raíces, el T4 (MS + ANA + BAP) también con presencia de raíces con 70 % y un 30 % con ausencia de raíces, en cuanto al T2 (MS + AC) con 17.5% con presencia de raíces y un 82.5% con ausencia de raíces y el menor porcentaje de raíces se encontraron en el T1 (MS o testigo) con 10% con presencia de raíces y un 90 % con ausencia de raíces. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).



**Figura 4.** Porcentaje de enraizamiento.

### 3.3 Número de brotes.

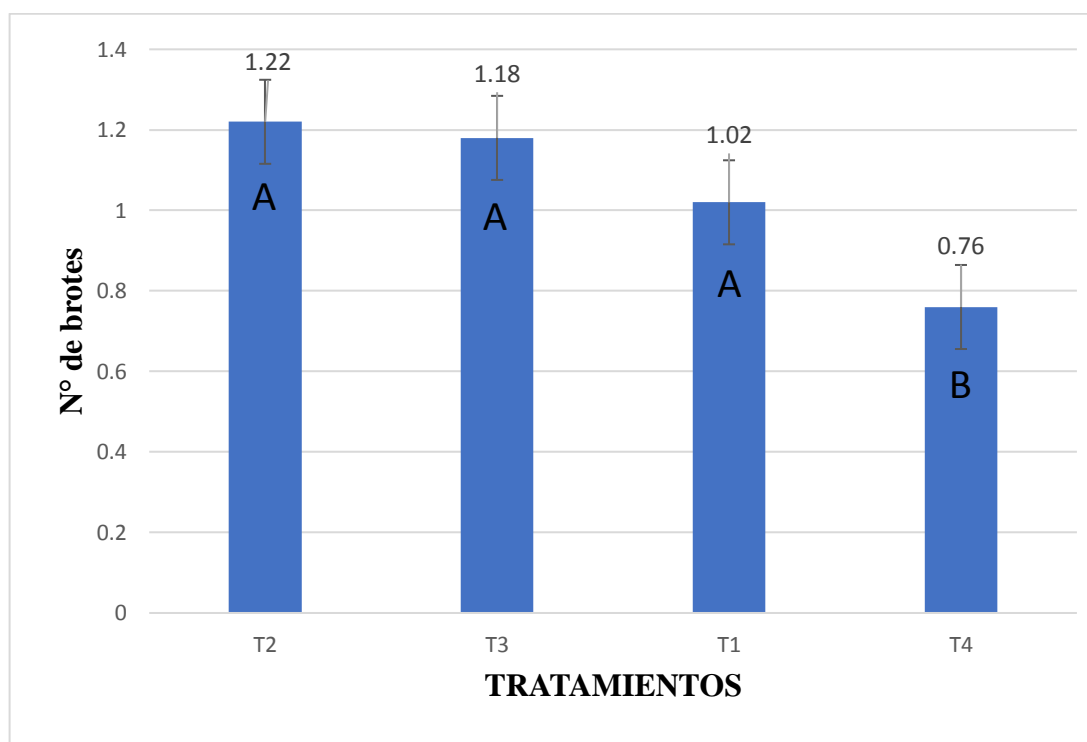
En relación al número de brotes, en la tabla 10, se observan los resultados del análisis de varianza, mostrándose diferencias estadísticas altamente significativas para los

cuatro tratamientos. El coeficiente de variación es de 38.77, óptimo para este tipo de investigaciones.

**Tabla 10.** Cuadro de análisis de varianza.

F.V.	gl	SC	CM	F	p - valor
TRATAMIENTO	3	5.19	1.73	10.57	<0.0001
Error	156	25.54	0.16		
Total	159	30.74			

En la figura 5, se muestra el número de brotes y la prueba de Tukey  $P < 0.01$  donde se observan cuatro grupos diferentes, donde los mejores resultados fueron el T2 (MS+ 10 ml de AC) con 1.22 brotes, el T3 (MS + 20 ml de AC+ 1gr de CA) con 1.18 brotes y el T1 (MS o testigo) con 1.02 brotes. El menor número de brotes se obtuvo en el T4 (MS + 50 ul de BAP + 1500 ul de ANA) con el cual se encontró 0.76 brotes respectivamente. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).



**Figura 5.** Número de brotes. Falta agregar las letras



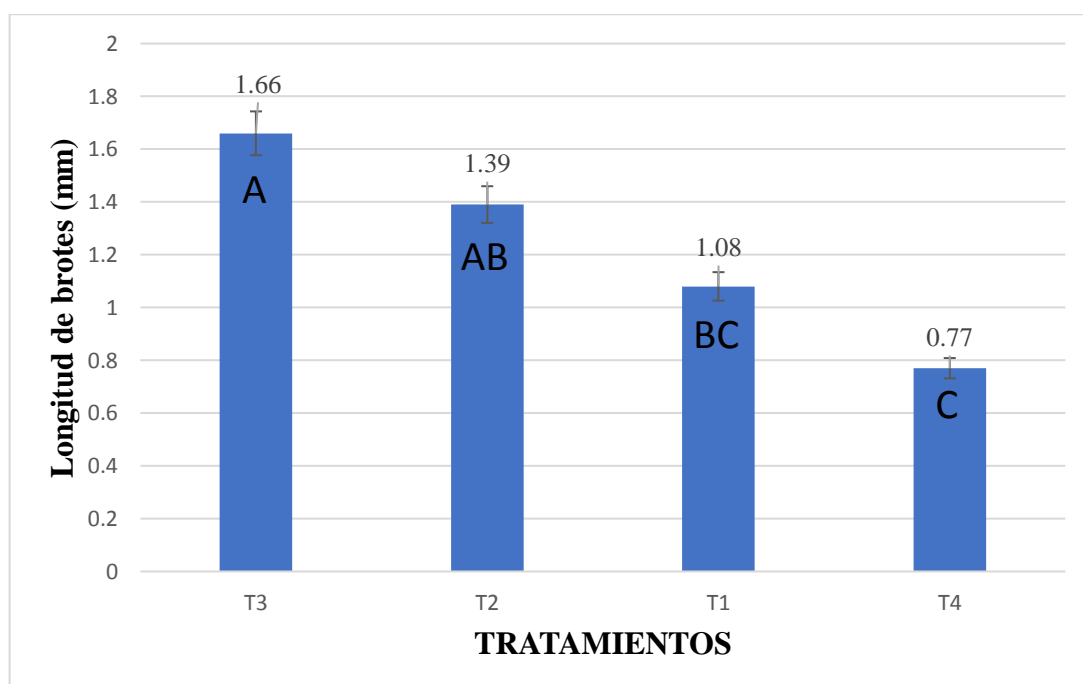
### 3.4 Longitud de brotes

En relación a la longitud de brotes, en la tabla 11, se observa los resultados del análisis de varianza, mostrándose diferencias estadísticas altamente significativas para los cuatro tratamientos. El coeficiente de variación es de 49.01, valor óptimo para este tipo de investigaciones.

**Tabla 11.** Cuadro de análisis de varianza.

F.V.	gl	SC	CM	F	p - valor
TRATAMIENTO	3	17.71	5.90	16.42	<0.0001
Error	156	56.09	0.36		
Total	159	73.80			

En la figura 6, se muestra la longitud de brotes y la prueba de Tukey  $P < 0.01$  donde se observan cuatro grupos diferente, donde los mejores resultados se encontraron en el T3 (MS + AC + CA) con 1.66 mm, el T2 (MS + AC) con 1.39 mm, el T1 (MS o testigo) con 1.08 mm. Y la menor longitud de brote se obtuvo en el T4 (MS + ANA + BAP) con 0.77 mm según tratamiento. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).



**Figura 6.** Longitud de brotes. Agrega las letras

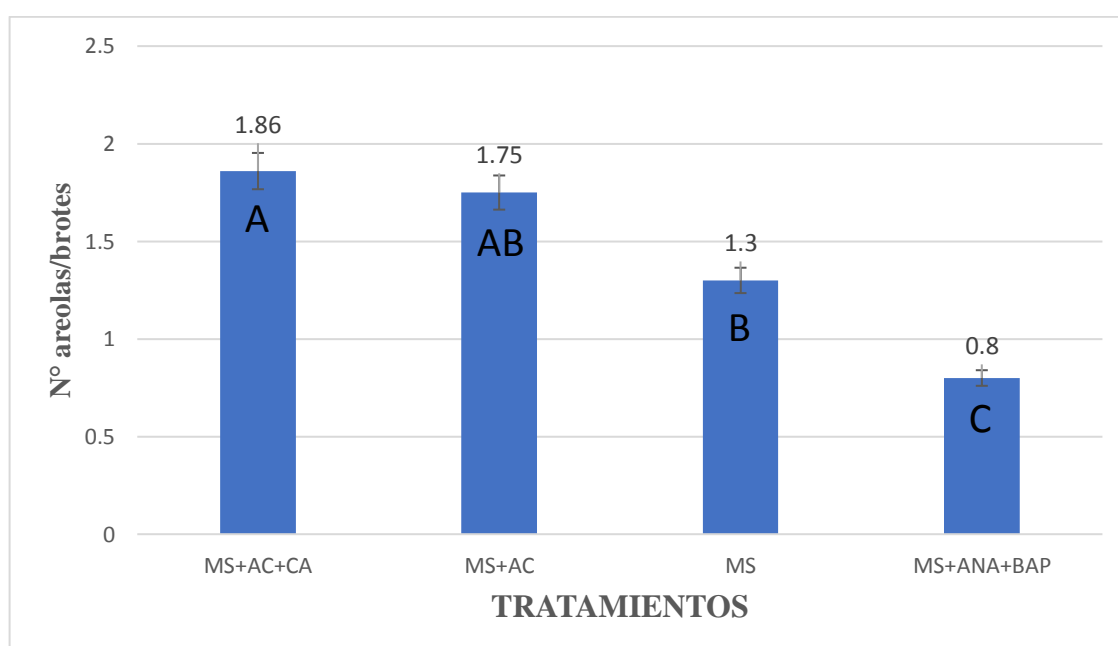
### 3.5 Número de areolas por brote

En relación al número de areolas por brote, en la tabla 12, se observan los resultados del análisis de varianza, mostrándose diferencias altamente significativas para los cuatro tratamientos. El coeficiente de variación es de 56.04 valor óptimo para este tipo de investigaciones.

**Tabla 12.** Cuadro de análisis de varianza.

F.V.	gl	SC	CM	F	p - valor
TRATAMIENTO	3	28.11	9.37	14.65	<0.0001
Error	156	99.79	0.64		
Total	159	127.91			

En la figura 7, se muestra el número de areolas (yemas) por brotes y la prueba de Tukey  $P < 0.01$  donde se observan cuatro grupos diferentes, donde los mejores resultados fueron el T3 (MS + AC + CA) con un promedio de 1.86 areolas (yemas), el T2 (MS + AC) con 1.75 areolas, el T1 (MS o testigo) con 1.30 areolas. Y el menor número de areolas/brote se obtuvo en el T4 (MS + ANA + BAP) con 0.80 areolas según tratamiento. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).



**Figura 7.** Número de areolas por brote. Agrega las letras

#### IV. DISCUSIÓN

Evaluando el porcentaje de formación de callos (presencia y ausencia de callosidad) de segmentos nodales de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) *in vitro*, se encontró que sí existe diferencia significativa en los cuatro tratamientos (T1, T2 T3 y T4) respectivamente, esta evaluación se realizó a los 21 días después de multiplicar los explantes. Dicho resultado nos indica, que el porcentaje de formación de callos obtenido en cada tratamiento se diferencian una de la otra. El callo se formó principalmente en el área donde se realizó los cortes para obtener los explantes a multiplicar y mínimamente en los puntos vegetativos de los cladodios (areolas) (fotografía N°12), donde se dio la proliferación de brotes. El medio de cultivo con mayor formación de callos (según escala y denominación 2), fue el T4 (MS al 100 % + 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L BAP), hubo un 52.5 %. Y el menor porcentaje con formación de callos (según escala y denominación 2), se encontró en el T3 (MS al 100 % + 20 ml Agua de coco “AC” + 2 g/L carbón activado “CA”), con un 12.5 % y con ausencias de oxidación. En consecuencia, de la presencia del carbón activado que es un elemento antioxidante, que absorbe compuestos fenólicos que puedan exudar los explantes (Sharry et al., 2015). La incorporación del carbón activado en medios de cultivos vegetales, posee un resultado positivo en el crecimiento de las plantas, puede retener y atrapar distintos tipos de moléculas, elementos en demasía, entre estos los inhibidores de crecimiento (Vo Hoang Nhat et al., 2018). El agua de coco (AC), es una sustancia compleja que comprende importantes compuestos orgánicos e inorgánicos, se utiliza en el medio de “Knudson C” para la formación de embriones de orquídeas a nivel *in vitro* (Sharry et al., 2015). Además de los macronutrientes y micronutrientes, es común la integración de compuestos naturales a los medios de cultivo (Contreras, 2016; Salazar et al., 2013 y Moreno y Menchaca, 2007); mencionan que al añadir compuestos orgánicos naturales a los medios de cultivo vegetales son importantes, de los cuales se destacan: el agua de coco, extracto de tomate, extracto de piña, extracto de plátano entre otros; favorece la germinación y desarrollo de las plántulas. Dentro de los compuestos orgánicos adicionados a los medios de cultivo, el agua o endospermo líquido de coco es uno de los más importantes por poseer una gran cantidad de azúcares, aminoácidos, antioxidantes, minerales, ácidos orgánicos y elementos impulsores del crecimiento Moreno y Menchaca, (2007), por lo que en esta investigación se utilizó el AC como una alternativa diferente a los demás componentes orgánicos e inorgánicos, debido a sus altas concentraciones nutricionales.

En el T4 (MS + ANA + BAP), los resultados se asocian a la presencia de auxina el Ácido Naftalenacético (ANA) en el medio. Según Perea, (2003) y Criollo et al., (2017), la incorporación de auxinas al medio y la habilidad que tienen las plantas de sintetizarlas, induce la formación de callo. Pelah et al., (2002) al utilizar ANA en explantes *in vitro* de pitahaya amarilla, obtuvo como resultado la formación de callos, con poco desarrollo y su posterior muerte. El alto nivel de formación de callos se puede deber a los cortes realizados, que estuvieron en contacto con el medio como indica Mendoza, (2007), Ruvalcaba et al., (2010) y Ojeda et al., (2008) puede atribuirse a la utilización y combinación de las citocininas y auxinas que estimulan el desarrollo y crecimiento de los callos en cactáceas. Estos resultados tienen concordancia con los obtenidos por Suárez, (2011), quienes en su estudio utilizaron cladodios de pitahaya amarilla *in vitro*, donde trabajaron con reguladores de crecimiento con altas concentraciones de auxinas (3 mg/L de ANA) y citocininas (0.1 mg/L de BAP y 2mg/L de Kin) donde el medio de cultivo denominado M4 tuvieron presencia de callosidad con un 98 % porcentaje parecido al obtenido por esta investigación con un 87.5 %, y según estudio. Se tubo también la presencia de oxidación de los callos considerándose así porque los explantes con formación de callo se tornaron de color marrón. El alto porcentaje de oxidación se debe a los cortes realizados en la plántula para obtener mayor cantidad de explantes, como indica Azofeifa, (2009); luego de ser cortados muchos explantes pierden el color verde iniciando un oscurecimiento que llega a causar la muerte en el explante. Otro factor causante son los reguladores de crecimiento como las auxinas, las citocinina como BAP son los reguladores que cuentan con mayor número de referencias con el problema de oscurecimiento (Azofeifa, 2009). En cuanto al T2 (MS al 100 % + 10 ml de agua de coco), también hubo presencia de callosidad con un 20 % (formación de callos según escala denominación 2) y por último el T1 (MS o testigo) tuvo una presencia de callos con un 30 % (formación de callos según escala denominación 2). En la ligera formación de callos (escala, denominación 1) la presencia de callosidad lo obtuvo el T3 (MS + AC + CA) con un 47.5 %, al igual que el T2 (MS + AC) con un 47.5 % y por último el T1 (MS al 100 % o testigo) con un 32.5 % (según escala).

En la variable porcentaje de enraizamiento, el mayor porcentaje de raíz (presencia de raíz denominación 1 y ausencia de raíz denominación 0), fueron el T3 (MS + AC + CA), con un 82.5 % (Fotografía N°11) con presencia de raíces y un 17.5 % con

ausencia de raíces, el T4 (MS + ANA + BAP) también con presencia de raíces con un 70 % y un 30 % con ausencia de raíces, en cuanto al T2 (MS + AC) con un 17.5 % con presencia de raíces y un 82.5 % con ausencia de raíces y el menor porcentaje de raíces se encontraron en el T1 (MS o testigo) con un 10 % con presencia de raíces y un 90 % con ausencia de raíces, según la escala (datos obtenidos a los 60 días). De los cuales se hallaron diferencias significativas con respecto a los tratamientos. A comparación de los estudios realizados por Avalos (2010), quienes utilizaron como medio base MS al 100 % + CA 2 g/L obtuvieron un 93.3 % de raíces (presencia de raíz) y un 6.7 % sin raíz (ausencia de raíz), los cuales se obtuvieron raíces de los explantes de *Selenicereus validus* a nivel *in vitro*, estos resultados son similares con los datos obtenidos en el T3 (MS al 100 % + 20 ml de AC + 2 g/L de CA) de un 82.5 % con presencia de raíz y de un 17.5 % con ausencia de raíz, resultados adquiridos por esta investigación. Avalos, (2010), también realizó la misma evaluación con el medio base MS al 100 % sin reguladores de crecimiento ni otro componente adicional, de los cuales los resultados obtenidos son del 100 % de presencia de raíz, los cuales difieren con los resultados obtenidos en esta investigación ya que se obtuvo un 10 % (presencia de raíz según escala). Para la medición de esta variable se trabajó con lo propuesto por Avalos (2010), quien denominó como raíz buena la cantidad de 3 a más raíces presentes en el desarrollo radicular del explante y una longitud como mínima de 1cm. En cuanto al T4 (MS al 100 % + 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L de BAP), se obtuvo presencia de raíz de un 70 % y un 30 % con ausencia de raíz, comparando con los datos de la investigación obtenida por Suárez et al., (2014), quien utilizó reguladores de crecimiento auxinas 3. mg/L de ANA y citocininas 0.1 y 1.0 mg/L de BAP y 2 mg/L de KIN para la formación de brotes mediante segmentos nodales (cladodios) y enraizamiento tuvieron la presencia de raíz en todos sus tratamientos los cuales se menciona, pero no se especifica. Los reguladores de crecimiento como las auxinas inducen el aumento y al desarrollo celular en cultivos de tejidos vegetales, se incorporan en combinaciones con citocininas en la multiplicación o sin su presencia en el enraizamiento (Sharry et al., 2015).

En la variable respuesta número de brotes desarrollado por segmento nodal (cladodios), existe diferencia estadísticamente significativa en cuanto a los medios de cultivo (según tratamiento) los mejores resultados se encontraron en el T2 (MS al 100 % + 10 ml de AC) con 1.22 brotes y en el T3 (MS + 20 ml de AC+ 1gr de CA) con

1.18 brotes, el T1 (MS o testigo) con 1.02 brotes. El menor número de brotes se obtuvo en el T4 (MS al 100 % + 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L de BAP) con el cual se encontró 0.76 brotes respectivamente. Los resultados obtenidos en el T4 (MS + ANA + BAP) por esta investigación, difiere con los datos mostrados por Suárez (2011), quien trabajo con explantes de pitahaya amarilla (cladodios) en uno de sus tratamientos denominado M5 (MS al 100 % más 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L de BAP), evaluados a los dos meses, con un promedio de 2.7 brotes por explante. Los datos encontrados por esta investigación se generaron por la presencia de oxidación de los callos, considerándose así porque los explantes con formación de callo se tornaron de color marrón. El alto porcentaje de oxidación se debe a los cortes realizados en la plántula para obtener mayor cantidad de explantes, como indica Azofeifa, (2009), luego de ser cortados muchos explantes pierden el color verde iniciando un oscurecimiento que llega a causar la muerte en el explante. Otro factor causante podría ser los reguladores de crecimiento como las auxinas, las citocinina como BAP son los reguladores que cuentan con mayor número de referencias con el problema de oscurecimiento (Azofeifa, 2009). La oxidación del cultivo in vitro de cactus, puede ser controlado adicionando algunos compuestos como carbón activado, agua de coco, etc. Molphe y Dávila, (2002). La mínima cantidad de brotes formado en el T4 (MS + ANA + BAP), en los cuales hubo proliferación de brotes fueron en los explantes que no formaron callos (ausencia de callos) con un total de 2 brotes, de los cuales se pudo constatar la aparición de brotes en esta investigación. Con respecto del T2 (MS al 100 % + 10 ml de AC) es el que más brotes obtuvo, con un promedio de 1.22 brotes, con un número máximo de 6 brotes; seguido del T3 (MS 100 % + 20 ml AC + 1 g/L de CA) con 1.18 brotes, con un número máximo de 6 brotes por explante, se asemejan en comparación con el estudio realizado por Avalos, (2010) para formación de brotes en *Selenicereus validus* quien utilizo en uno de sus tratamientos MS al 100 % + 2 mg/L BA (diferentes concentraciones de benciladenina), con los que obtuvo mayores resultados con 9 brotes por explante.

En la variable longitud de brotes se encontró que, si existe diferencia significativa en los cuatro tratamientos (T1, T2, T3 y T4), los mejores resultados que se encontraron fueron en el T3 (MS al 100 % + 20 ml de AC + 1 g de CA) con una longitud de 1.66 mm en promedio y el T2 (MS al 100 % + 10 ml de AC) con 1.39 mm, el T1 (MS al 100 % o testigo) con 1.08 mm. Y la menor longitud de brote se obtuvo en el T4 (MS al 100 % + 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L de BAP) con 0.77 mm en promedio. El mejor

resultado obtenido fue el T3 (MS + AC + CA) con un máximo de 3.62 cm, estos resultados son similares al de Suárez, (2011) quien logró la mayor longitud de brotes al tratar sus segmentos nodales con 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L de BAP que conformaron su tratamiento (M5), con 4.6 cm, en comparación con el T4 (MS al 100 % + 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L de BAP) con el cual se obtuvo una longitud máxima de 2.25 cm, resultados de esta investigación, siendo menor a lo obtenido por Suárez, (2011) con una longitud máxima de 4.6 cm en promedio. Estos resultados obtenidos en esta investigación se deben a la presencia de oxidación (Azofeifa, 2009). Sin embargo, concentraciones más altas de BAP en relación a las probadas en este estudio, podrían mejorar la elongación y el crecimiento de los brotes de acuerdo con lo reportado por Viñas et al., (2012) para *Hylocereus costarricensis*.

En la variable número de areolas (yemas) por brote se encontró que, sí existe significancia estadística entre los cuatro tratamientos (T1, T2 T3 y T4), los mejores resultados se encontraron en el T3 (MS + AC + CA) con un promedio de 1.86 areolas en promedio y el T2 (MS + AC) con 1.75 areolas por brote. El menor número de areolas por brote se obtuvieron en el T1 (MS al 100% o testigo) con 1.30 areolas por brote y el menor número de areolas por brote se obtuvo en el T4 (MS al 100 % + 3 mg/L de ANA + 0.1 mg/L de BAP) con 0.80 areolas por brote. Los resultados obtenidos en el T1 (MS al 100% o testigo) con 1.30 areolas por brote en promedio y con un máximo de 33 areolas por brote son superiores a los descritos por (Huanca, 2019), quien obtuvo un máximo de 16 areolas en su tratamiento T1 o testigo (MS al 100 % sin reguladores de crecimiento). Respecto a otras investigaciones no se reportan haber realizado este tipo de evaluaciones, por lo cual los resultados serán de utilidad para otros estudios.

## V. CONCLUSIONES

1. En el T3 (MS + AC + CA), se obtuvo uno de los mejores resultados en cuanto al número de brotes con 1.18 en promedio (máximo de 6 brotes) y el T2 con 1.22 en promedio (máximo de 6 brotes), mayor longitud de brotes con 1.66 mm en promedio (3.62 cm) a comparación del T2 con 1.39 mm y se obtuvo la mayor cantidad de areolas por brote emitido con 1.86 areolas (45 areolas) en promedio, resultados obtenidos a los 60 días.
2. En el T3, se dio el menor porcentaje de presencia de callos con un 60% (según escala de 0 a 100 %), y presencia de raíz de un 82.5%; importante para una posterior aclimatación, como una alternativa positiva.
3. La multiplicación a partir de segmentos nodales se produjo en un término de 60 días, obteniendo en el medio de cultivo MS al 100 % + 20 ml de agua de coco + 2 g/L de carbón activado (T3); los mejores resultados adquiridos en esta investigación. A comparación de los demás tratamientos T1, T2 y T4. Esto ayuda a minimizar costos, al utilizar reguladores de crecimiento como auxinas y citocininas, los cuales pueden ser costosos. Utilizar el agua de coco y carbón activado juntos, pueden enriquecer un medio y obtener mejores resultados gracias a sus componentes nutricionales y antioxidantes.



## **VI. RECOMENDACIONES**

Para la multiplicación in vitro desde un punto de vista comercial, utilizar agua de coco (20 ml) como suplemento nutricional junto al carbón activado para obtener brotes de pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) con presencia de raíces tales como se obtuvieron en esta investigación en el T3, que posteriormente puedan ser pre aclimatados, aclimatados y llevados a campo definitivo.

Se recomienda realizar investigaciones evaluando mayores concentraciones del endospermo líquido de agua de coco y la utilización de carbón activado en los medios de cultivo.

Se recomienda investigar el efecto de la interacción de agua de coco más carbón activado adicionado tanto con citocininas como con auxinas para la fase de multiplicación en menores dosis.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Avalos Esparza, R. E. (2010). Cultivo y propagación in vitro de cactáceas de los géneros *Hylocereus* y *Selenicereus*. Para obtener el grado de maestra en ciencias en el área de biotecnología vegetal, Aguascalientes. Obtenido de <http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/717/340621.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Azofeifa, Á. (2009). Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados in vitro. *Agronomía Mesoamericana*, 20(1), 153-175 pp. Obtenido de [http://www.mag.go.cr/rev\\_meso/v20n01\\_153.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_meso/v20n01_153.pdf)
- Balaguera López, H. E., Iván Morales, E., Almanza Merchán, P. J., y Alberto Balaguera L, W. (2011). El tamaño del cladodio y los niveles de auxina influyen en la propagación asexual de pitaya (*Selenicereus megalanthus* Haw.). *Revista colombiana de ciencias hortícolas*, 4(1), 33-42 pp. doi: [org/10.17584/rcch.2010v4i1.1222](https://doi.org/10.17584/rcch.2010v4i1.1222)
- Caetano Nunez, D. G., Escobar, R., Caetano, C. M., y Vaca Vaca, J. C. (2014). Estandarización de un protocolo de regeneración en pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran). *Acta Agronómica*, 63(1), 1-15 pp. Obtenido de <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169930903005>
- Contreras Loera, F. (2016). Desarrollo de métodos de propagación in vitro del alcaparro (*Capparis* spp.). Para obtener el grado de maestro en ciencias en biotecnología vegetal, Aguascalientes, Ags. Obtenido de <http://bdigital.dgse.uaa.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/11317/1194/416122.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Criollo E, H., Insuasti, K., y Degaldo, W. (2017). Regeneración in vitro de plántulas de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav. Sendt.). *Revista Colombiana De Ciencias Hortícolas*, 10(2), 252-261. doi: [org/10.17584/rcch.2016v10i2.5750](https://doi.org/10.17584/rcch.2016v10i2.5750)
- Dios, H., C. (2004). Geographical distribution of pitahayas (*Hylocereus*) in Mexico. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 49(1), 4-23 pp. Obtenido de <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20043069942>

- Estrada Luna, A., Martínez Hernández, J. J., Torres Torres, M. E., y Chablé Moreno, F. (2008). In vitro micropropagation of the ornamental prickly pear cactus *Opuntia lanigera* Salm–Dyck and effects of sprayed GA3 after transplantation to ex vitro conditions. *Scientia Horticulturae*, 117(4), 378–385. doi: [org/10.1016/j.scienta.2008.05.042](https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.05.042)
- Fernández Argüelles, R., Terán Verzola, W., Valencia Martínez, N., Reyes Guerra, A., Valdivieso Freire, E., Cando Garcés, K., y Alvarado Romero, J. (2019). Producción de pitahaya en el Ecuador, taxonomía y resultados recientes de investigaciones científicas. Guayaquil Ecuador: Editorial Grupo Compás. Obtenido de <http://142.93.18.15:8080/jspui/handle/123456789/286>
- González Paneque, O., Vega, I. M., Silva Pupo, J., Espinosa Reyes, A., y Acosta Pompa, L. (2003). Determinación de las concentraciones adecuadas de 2,4-D y 6-BAP para la inducción de callos morfogénicos de boniato. *Biotecnología vegetal*, 3(1), 25-29. Obtenido de <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/202/html>
- Huanca Percca, M. (2019). Establecimiento y propagación in vitro de *Neowerdermannia chilensis* subsp. *peruviana* (Ritter) Ostolaza (Cactaceae) a partir del tejido areolar. Para optar el título profesional de Licenciado en biología, Puno, Puno. Obtenido de [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/11555/Huanca\\_Percca\\_Maritzza.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/11555/Huanca_Percca_Maritzza.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Medina Salazar, J. A. (2015). Documentar las relaciones hídricas y requerimientos nutricionales de la pitaya amarilla, *Selenicereus Megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran, Durante distintas etapas fenológicas del cultivo en tres localidades del valle del cauca. Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de: Master en Ciencias Biológicas, Palmira. Obtenido de [file:///E:/Tesis%20PITAHAYA%20AMARILLA%202020/Ultimas%20Bibliograf%C3%ADas/Jorge\\_Alberto-2016%20CAM.pdf](file:///E:/Tesis%20PITAHAYA%20AMARILLA%202020/Ultimas%20Bibliograf%C3%ADas/Jorge_Alberto-2016%20CAM.pdf)
- Mendoza Madrigal, G. (2007). Propagación in vitro de *Astrophytum ornatum* (Decanolle) Weber (Cactaceae), especie amenazada de extinción. Para obtener el título de Licenciado en Biotecnología. Obtenido de

<http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/270/Astrophytum%20ornatum.pdf?sequence=1>

Meráz Alvarado, R., Gómez Cruz, M. Á., y Schwentesius Rindermann, R. (2003). Pitahaya de México - Producción en el contexto internacional. Universidad Autónoma Chapingo: Florez Valez, Claudia A. Obtenido de <https://docplayer.es/21693839-Pitahaya-de-mexico-produccion-y-comercializacion-en-el-contexto-internacional.html>

Millones Chanamé, C. (2018). Establecimiento y ensayos preliminares de propagación in vitro de zarzamora silvestre (*Rubus* Sp.) del Centro Poblado San Salvador, región Amazonas. *Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 2(2), 31-38.

Molphe Balch, E., y Dávila Figueroa, C. A. (2002). In vitro propagation of pelecypora aselliformis ehrenberg adn p. Strobiliformis. *In Vitro Cellular. Debelomental Biology - Plant*, 38(1), 73-78. doi: 10.1079/IVP2001248

Moreno Martínez, D., y Menchaca García, R. (2007). Efecto de los compuestos orgánicos en la propagación in vitro de *Stanhopea tigrina* Bateman (Orchidaceae). *Foresta Veracruzana*, 9(2), 27-32 pp. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/268577540\\_Efecto\\_de\\_los\\_complejos\\_organicos\\_en\\_Stanhopea\\_tigrina](https://www.researchgate.net/publication/268577540_Efecto_de_los_complejos_organicos_en_Stanhopea_tigrina)

Ojeda Zacarías, M., Rodríguez Fuentes, H., y Gutiérrez Diéz , A. (2008). Mipropagación de cactáceas. México: Edición Especial N° 2-2009. Obtenido de <file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/11.pdf>

Pelah, D., Kaushik, R., Mizrahi, Y., y Sitrit, Y. (2002). Organogenesis in the vine cactus *Selenicereus megalanthus* using. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 71(1), 81–84. doi: org/10.1023/A:1016585108094

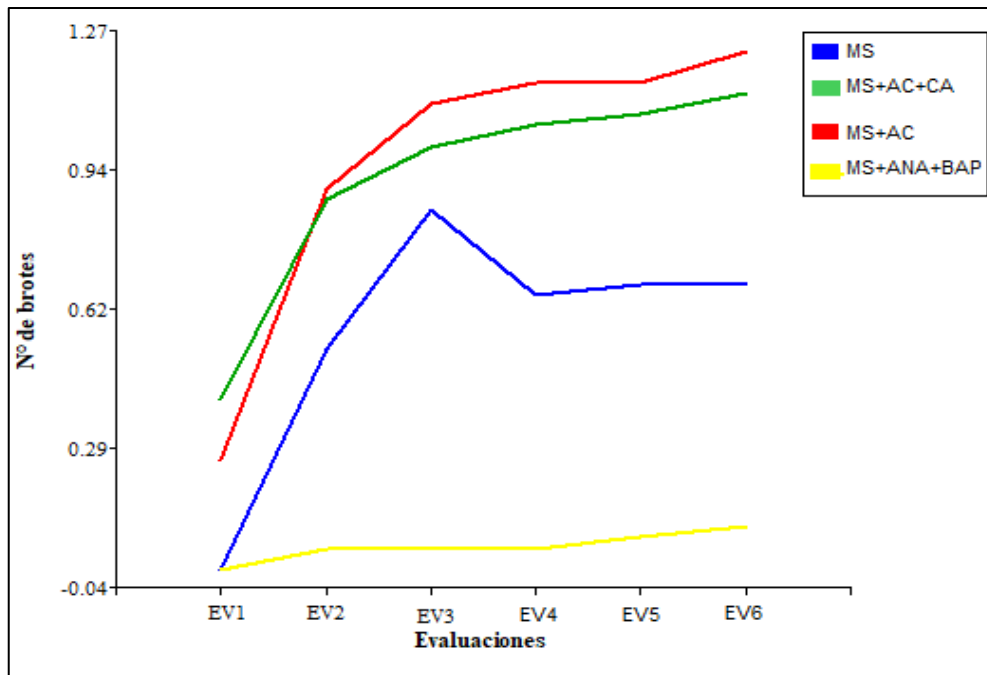
Perea Dallos, M., Matallana R, L., y Tirado Perea , A. (2010). Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas tropicales. (M. Perea Dallos, Ed.) Bogota: Universidad Nacional de Colombia. Obtenido de <https://www.uneditorial.com/biotecnologia-aplicada-al-mejoramiento-de-los-cultivos-de-frutas-tropicales-agropecuaria.html>

- Perea, M. (2003). *Biotecnología, bananos y plátanos*. Bogotá: Guadalupe Ltda. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_nlinks&ref=000103&pid=S0120-2812201100020000200025&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_nlinks&ref=000103&pid=S0120-2812201100020000200025&lng=en)
- Prades, A., Dornier, M., Diop, N., y Pain, J. P. (2012). Coconut water uses, composition and properties: a review (Vol. 67). doi: 10.1051/fruits/2012002
- Ruvalcaba Ruiz, D., Rojas Bravo, D., y Valencia - Botín, A. (2010). Propagación in vitro DE *Coryphantha retusa* (Britton y Rose) un cactus endémico y amenazado. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(1), 139-143 pp. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/939/93913074015.pdf>
- Salazar Mercado, S. A., Amaya Nieto, A. Z., y Barrientos Rey, F. (2013). Evaluación de diferentes medios de cultivo in vitro en el desarrollo de híbridos de *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *Rev. Colomb. Biotecnol*, 15(2), 97-105. doi:doi:10.15446/rev.colomb.biote.v15n2.41268
- Sharry, S., Adema, M., y Abedini, W. (2015). *Plantas de probeta Manual para la propagación de plantas* (Vol. 1). Buenos Aires, Argentina: Universidad de La Plata. Obtenido de [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento\\_completo\\_\\_pdf-PDFA.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento_completo__pdf-PDFA.pdf?sequence=1)
- Suaréz Román, R. S. (2011). Evaluación de métodos de propagación en pitahaya amarilla. Trabajo de grado para optar al título de Magister en Ciencias Agrarias - Fitomejoramiento, Colombia. Obtenido de <http://bdigital.unal.edu.co/4471/1/7207004.2011.pdf>
- Suárez Román, R. S., María Caetano, C., Ramírez, H., y Morales Osorio, J. G. (2014). Multiplication of *Selenicereus megalanthus* (yellow pitahaya) and *Hylocereus polyrhizus* (red dragon fruit) by somatic organogenesis view. *Acta Agronómica*, 63(2), 272-281 p. doi: 10.15446/acag.v63n3.40980
- Torres Armas, E. (2013). *Métodos Estadísticos Para la Investigación Experimental*. Chachapoyas, Amazonas, Perú: Compugraf S.R.L. Obtenido de [https://www.academia.edu/16965455/M%C3%A9todos\\_Estad%C3%ADsticos\\_para\\_la\\_Investigaci%C3%B3n](https://www.academia.edu/16965455/M%C3%A9todos_Estad%C3%ADsticos_para_la_Investigaci%C3%B3n)

- Viñas, M., Fernández Brenes , M., Azofeifa, A., y M. Jiménez, V. (2012). In vitro propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis* [F.A.C. Weber] Britton & Rose) cv. Cebra. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 48(5), 469–477. doi: 10.1007/s11627-012-9439-y
- Vo Hoang Nhat, P., Ngo, H., Guo, W., Chang, S., Nguyen, D., Nguyen, P., . . . Guo, J. (2018). Can algae-based technologies be an affordable green process for biofuel production and wastewater remediation? *Bioresource Technology*, 256(1), 491-501. doi: 10.1016/j.biortech. 2018.02.031.
- Zambrano Forero, C. J., Ríos Osorio, J. A., Beltrán Pedroza, D. M., y Mesa López, N. (2015). Evaluación de reguladores de crecimiento en la propagación in vitro de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya amarilla). *evista Tumbaga*, 10(1), 76-87 pp. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/309208435\\_Growth\\_regulators\\_assessment\\_for\\_in\\_vitro\\_propagation\\_of\\_Hylocereus\\_megalanthus\\_Yellow\\_dragon\\_fruit](https://www.researchgate.net/publication/309208435_Growth_regulators_assessment_for_in_vitro_propagation_of_Hylocereus_megalanthus_Yellow_dragon_fruit)

## ANEXOS

### ANEXO N°01. Figuras del desarrollo experimental



**Figura 8.** Curva de crecimiento de brotes.

**ANEXO N°02. Tablas de procesamiento estadístico.**

**Tabla 13.** Coeficiente de variación para la formación de callos (presencia y ausencia).

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Porcentaje	160	1.00	1.00	5.308

**Tabla 14.** Test de Tukey para formación de callos (presencia y ausencia).

TTRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T4	87.50	160	0	A
T2	67.50	160	0	B
T1	62.50	160	0	C
T3	60.00	160	0	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).

**Tabla 15.** Coeficiente de variación para el porcentaje de enraizamiento (presencia y ausencia).

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Porcentaje	160	1.00	1.00	3.27

**Tabla 16.** Test de Tukey para porcentaje de enraizamiento (presencia y ausencia).

TTRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T3	82.50	160	0.00	A
T4	70.00	160	0.00	B
T2	17.50	160	0.00	C
T1	10.00	160	0.00	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).

**Tabla 17.** Coeficiente de variación para el número de brotes (presencia y ausencia).

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Porcentaje	160	0.17	0.15	38.77



**Tabla 18.** Test de Tukey para el número de brotes.

TTRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
T2	1.22	160	0.06	A	
T3	1.18	160	0.06	A	
T1	1.02	160	0.06	A	
T4	0.76	160	0.06		B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).

**Tabla 19.** Coeficiente de variación para la longitud de brotes.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Porcentaje	160	0.24	0.23	49.01

**Tabla 20.** Test de Tukey para la longitud de brotes.

TTRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.			
T3	1.66	160	0.09	A		
T2	1.39	160	0.09	A	B	
T1	1.08	160	0.09		B	C
T4	0.77	40	0.09			C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).

**Tabla 21.** Coeficiente de variación para el número de areolas por brote.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Porcentaje	160	0.22	0.20	5.308

**Tabla 22.** Test de Tukey para el número de areolas por brote.

TTRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.			
T3	1.86	160	0.13	A		
T2	1.75	160	0.13	A	B	
T1	1.30	160	0.13		B	
T4	0.80	160	0.13			C

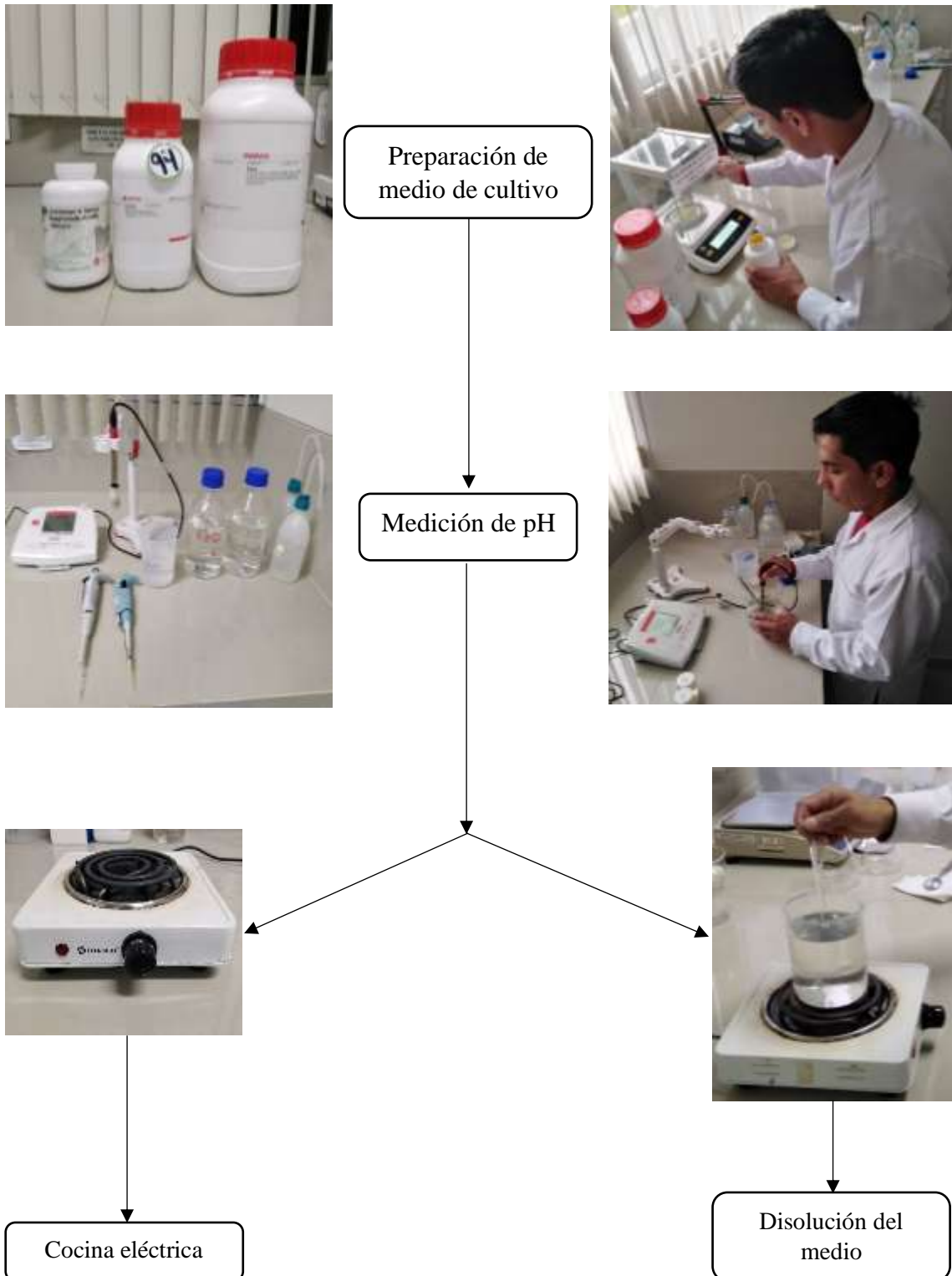
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.01$ ).

**Tabla 23.** Propiedades nutricionales del endospermo líquido de coco.

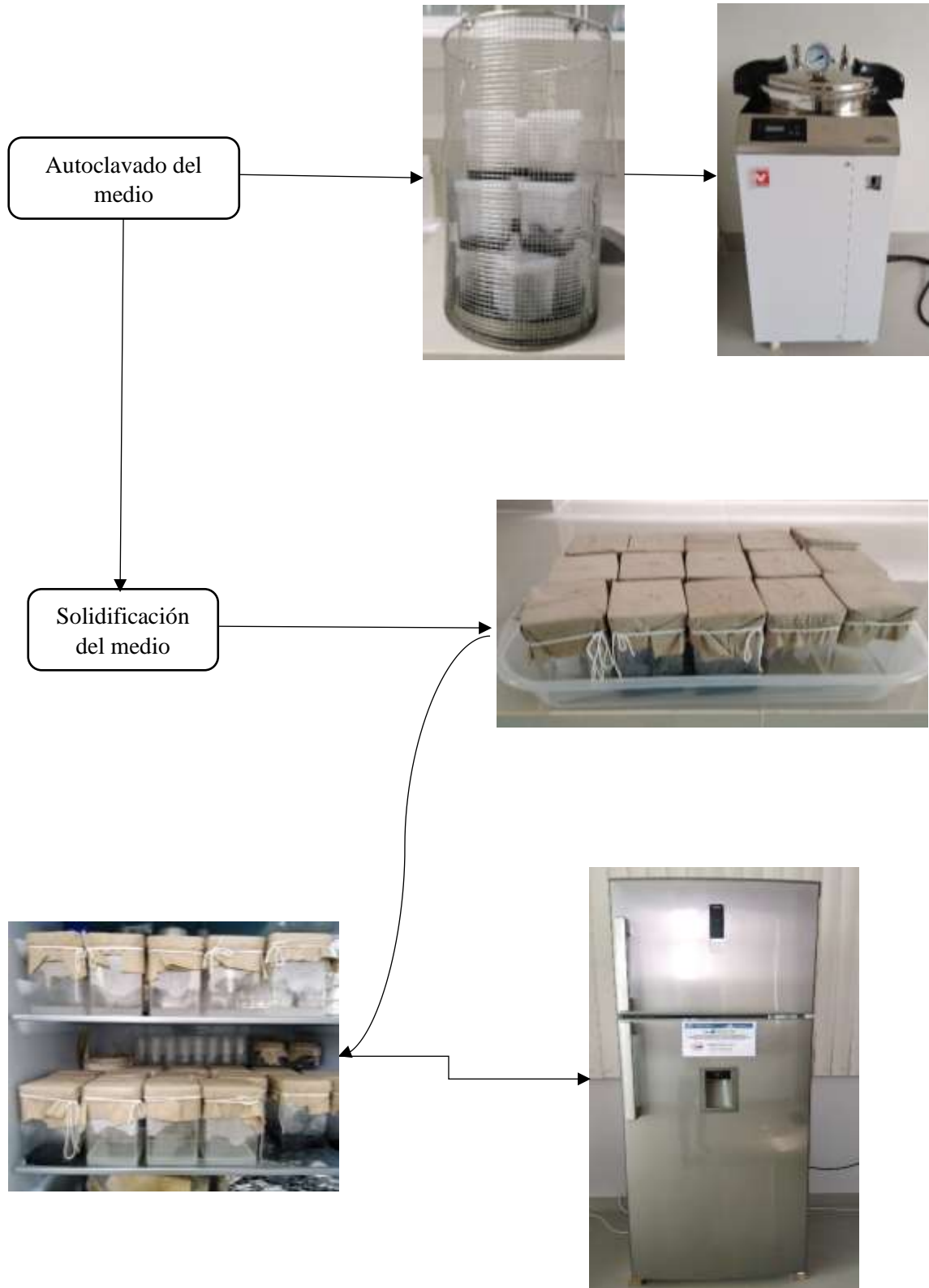
<b>Propiedades nutricionales promedio reportadas para el endospermo líquido de agua de coco (tamaño de porción = 100 ml)</b>		
<b>Componente</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
Carbohidratos	g	2.7
Proteínas	g	0.3
Lípidos	g	0.5
Cenizas	g	0.4
Sacarosa	g	3.0
Glucosa	g	1.2
Fructosa	g	1.8
Potasio	mg	259.0
Cloro	mg	119.5
Azufre	mg	42.0
Calcio	mg	31.6
Sodio	mg	28.9
Magnesio	mg	11.6
Aluminio	mg	0.1
Zinc	mg	0.0

**Fuente:** Usos, composición y propiedades del agua de coco (Prades et al, 2012).

## FLUJOGRAMA DE PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO



## FLUJOGRAMA DE AUTIOCLAVADO Y SOLIDIFICACIÓN DEL MEDIO



# FLUJOGRAMA DE ESTERILIZACIÓN DE MATERIALES



Esterilización en autoclave de los materiales (envueltos en papel aluminio)



Placas esterilizadas (en estufa) 180° por 2 horas con 20 m



# FLUJOGRAMA DE MULTIPLICACIÓN IN VITRO

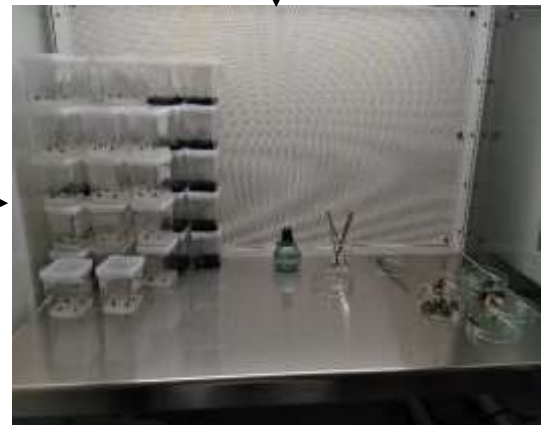
Cámara de flujo laminar en UV



Multiplicación de los cladodios en cámara de flujo laminar



Explantos establecidos en cada medio respectivo



## FLUJOGRAMA DE UBICACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS EN CUARTO DE CRECIMIENTO



Tratamiento 1 y 2 (rotulados con fecha y N° de tratamiento respectivamente)

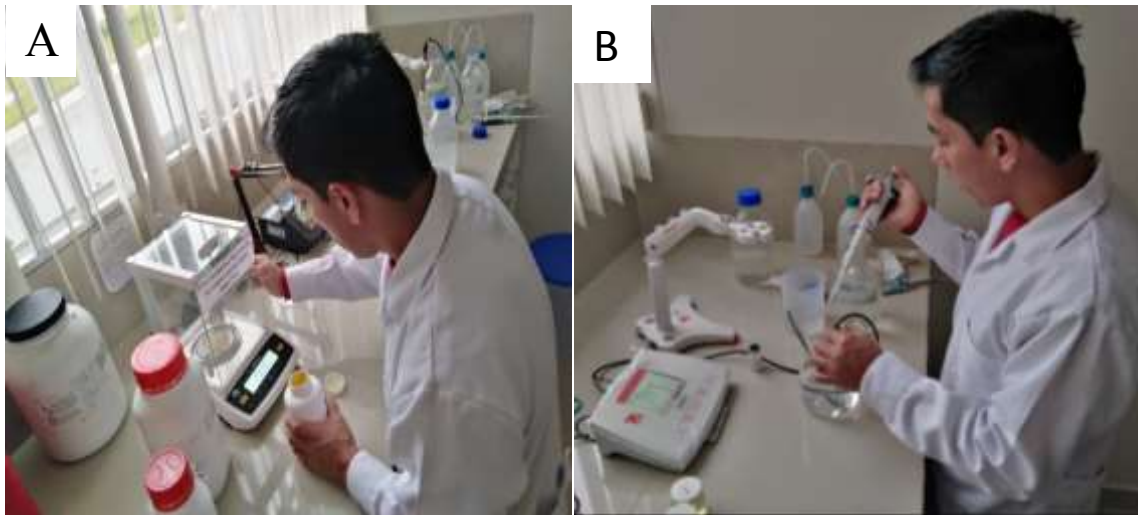
Tratamiento 3



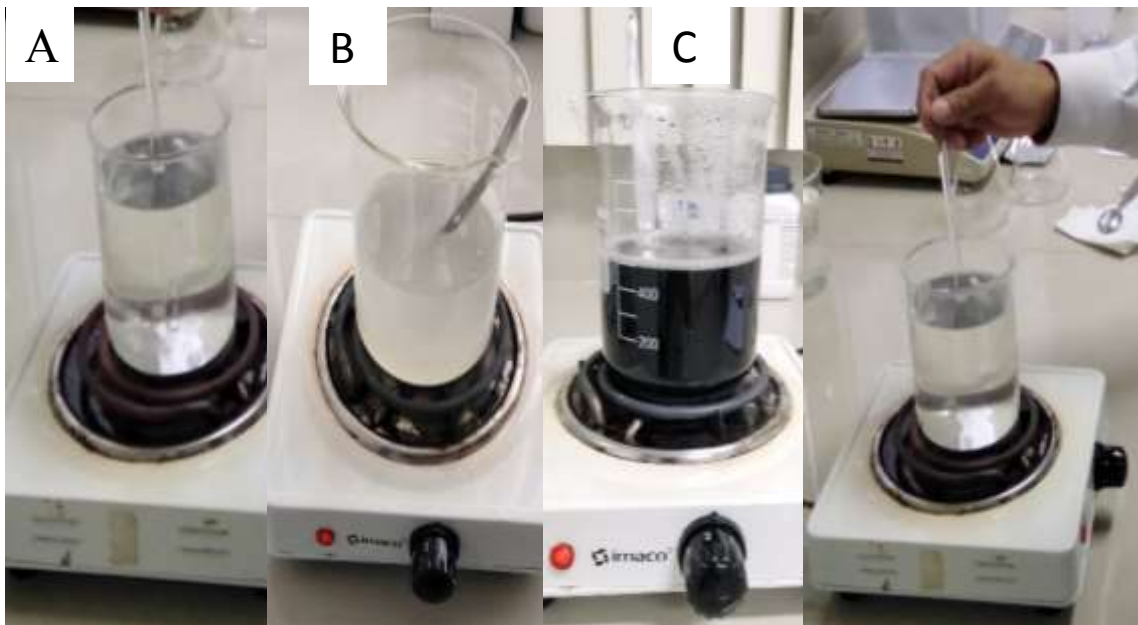
Tratamiento 4



## ANEXO N°04. GALERÍA FOTOGRÁFICA

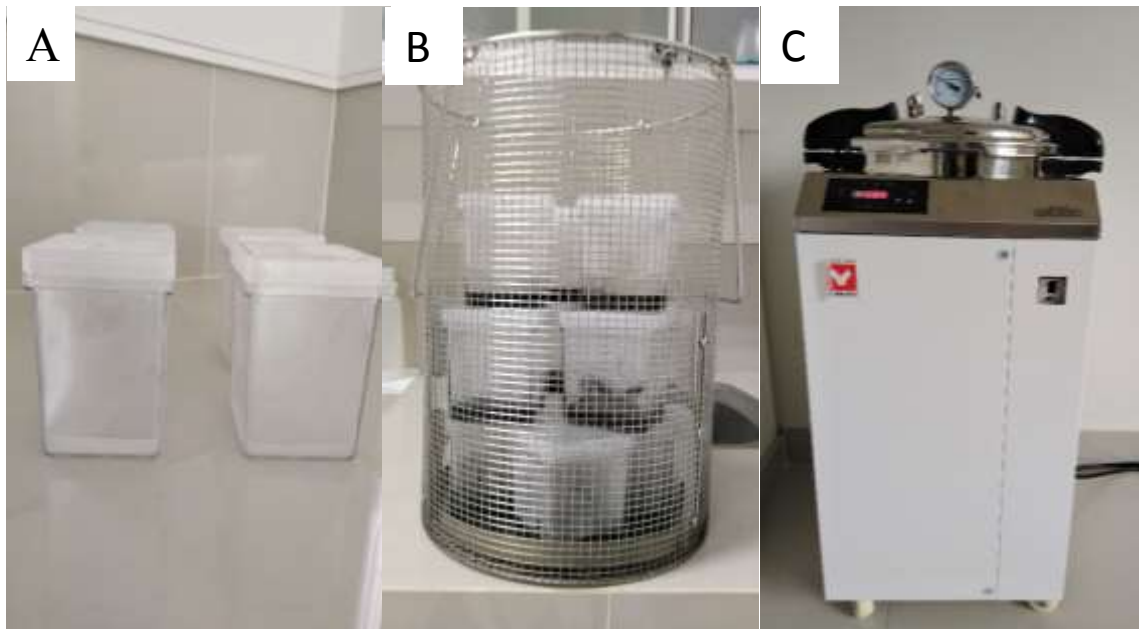


**Fotografía 1.** Preparación de los medios de cultivos según tratamiento; **A:** pesaje de las sustancias utilizadas en cada tratamiento; **B:** medición de pH de cada medio respectivo.

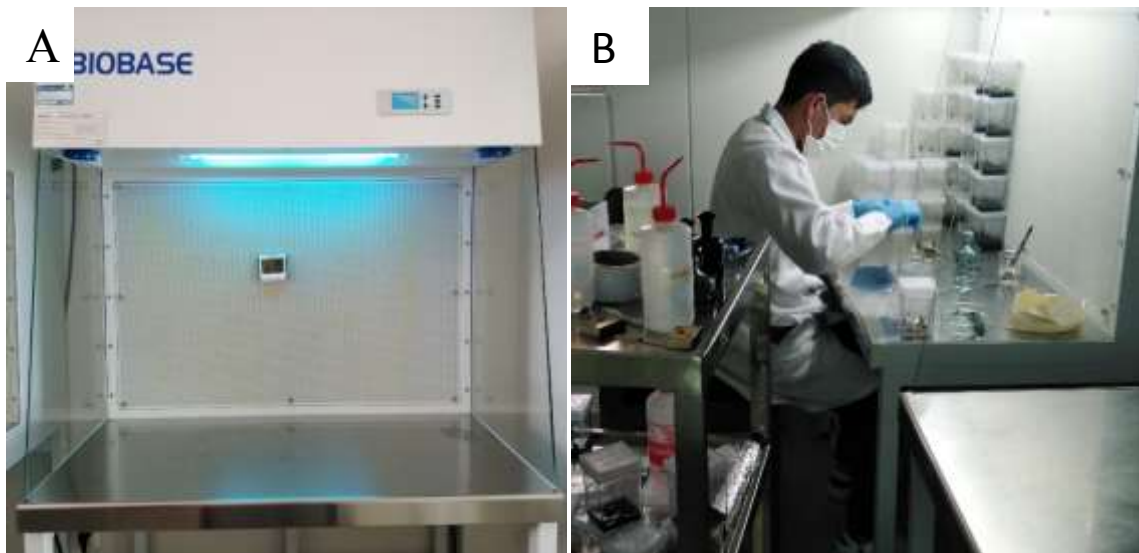


**Fotografía 2.** Dilución de los medios de cultivo según tratamiento 1, 2, 3 y 4; **A = T1, B = T2, C = T3 y D = T4** respectivamente.





**Fotografía 3.** Medios de cultivo puestos en autoclave. **A:** medios colocados en frascos magenta después de su dilución; **B:** medios puesto en la gradilla de autoclavado; **C:** medios de cultivo en proceso de autolavado (durante 20 minutos a 120°C).



**Fotografía 4.** Multiplicación in vitro. **A:** materiales utilizados en UV (20 m) previo a la multiplicación; **B:** Multiplicación de la pitahaya amarilla en cada tratamiento.



**Fotografía 5.** Tratamientos 1 y 2 instalados en cámara de crecimiento in vitro.



**Fotografía 6.** Tratamiento 3 instalado en cámara de crecimiento in vitro.



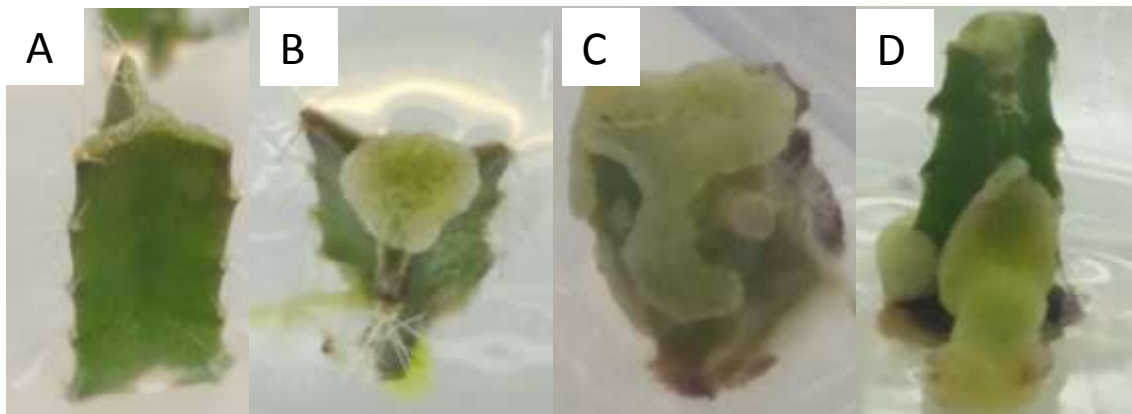
**Fotografía 7.** Tratamiento 4 instalado en cámara de crecimiento in vitro.



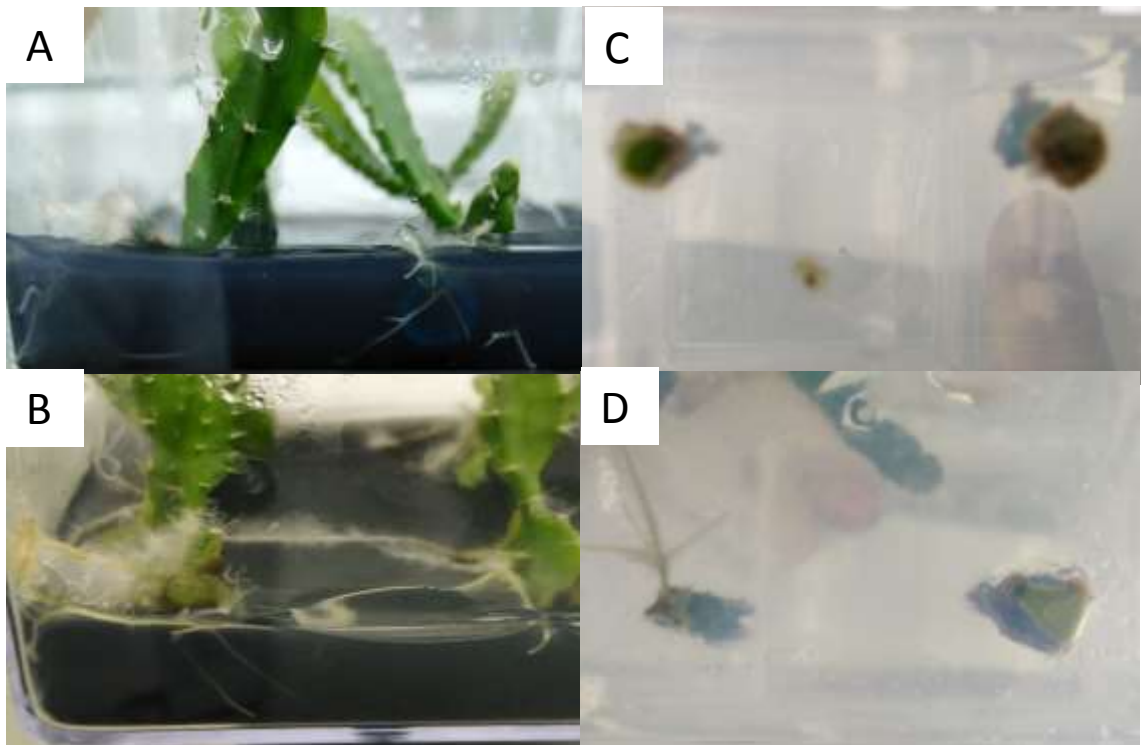
**Fotografía 8.** Pitahaya amarilla establecido en medio de cultivo.



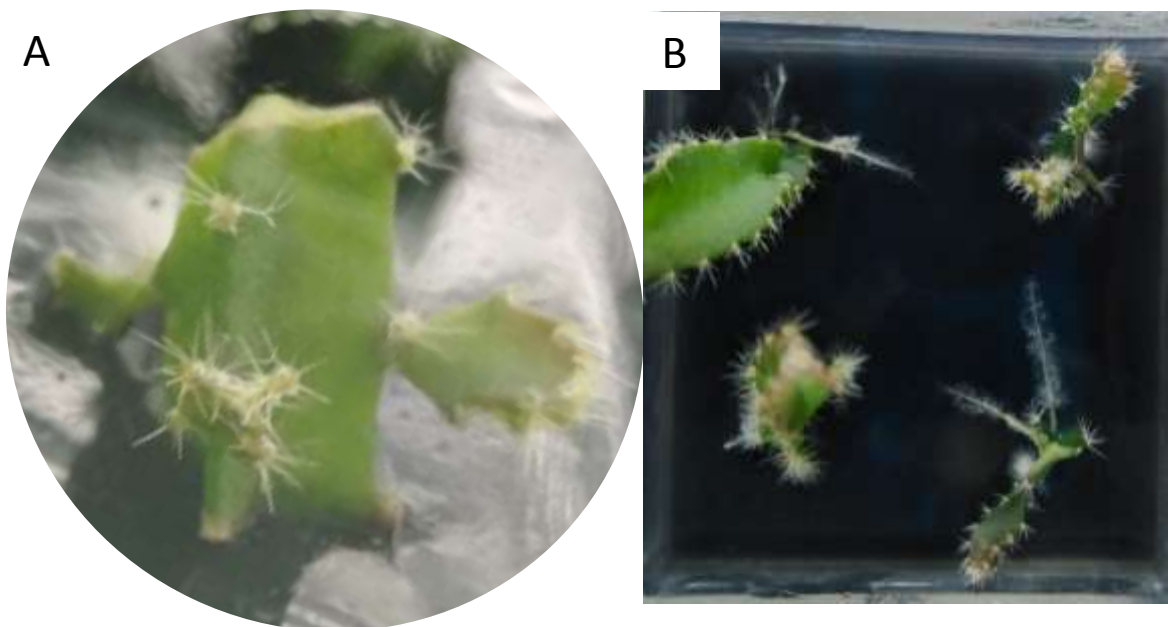
**Fotografía 9.** Medios stock ANA y BAP.



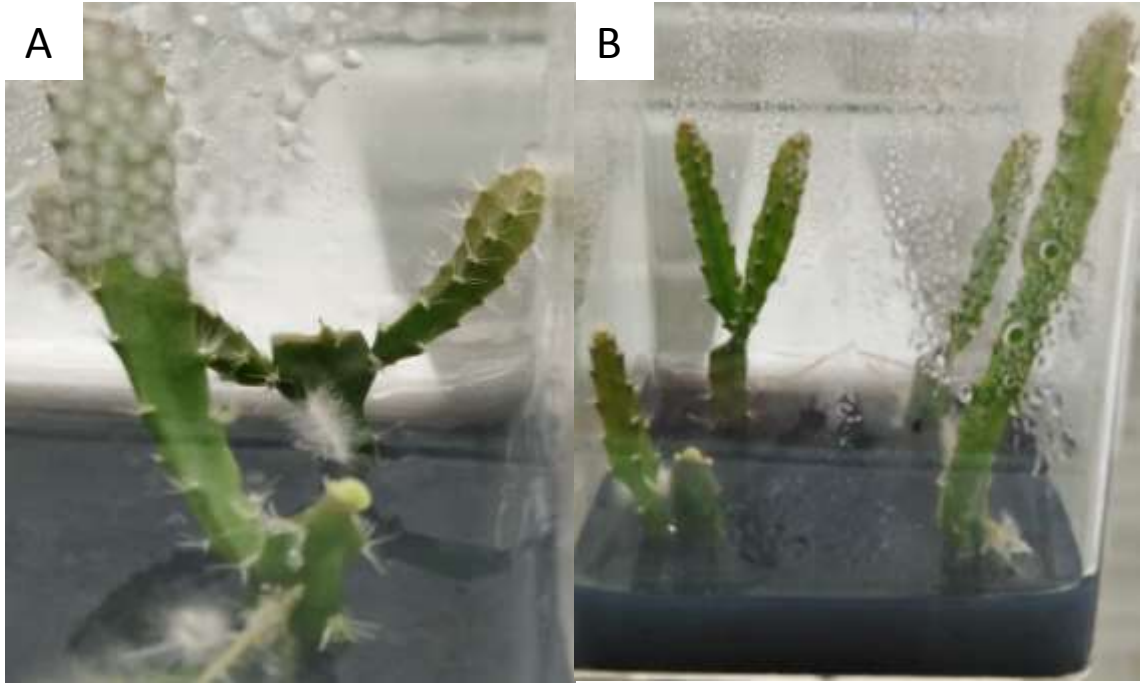
**Fotografía 10.** Ausencia y presencia de callosidad. **A:** 0 = NFC; **B:** 1 = LFC; **C:** 2 = FC y **D:** 3 = AFC. Resultados obtenidos por esta investigación.



**Fotografía 11.** Presencia y ausencia de raíz. Presencia de raíz en la imagen **A** y **B** (T3), y ausencia de raíz en la imagen **C** y **D** (T1 y T2). Según escala presencia de raíz 100% y ausencia de raíz 0%.



**Fotografía 12.** **A:** Formación de brotes a partir de las areolas (T3) y **B:** brotes con presencia de raíz (T3).



**Fotografía 13. A y B** Longitud de brotes a los 60 días (T3).