

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA



Micropropagación *In Vitro* De Pitaya (*Stenocereus thurberi*) Mediante Sistemas
De Inmersión Temporal

Por:

DIANA MERCADO HERNANDEZ

TESIS

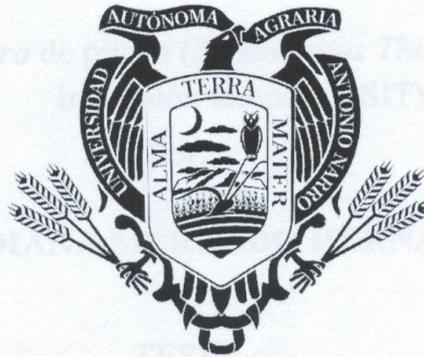
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Junio, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA



Micropropagación *in vitro* de pitaya (*Stenocereus Thurberi*) mediante sistemas de inmersión temporal (SIT)

Por:

DIANA MERCADO HERNANDEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal UAAAN

Dr. Martín E. Tiznado Hernández
Asesor Principal Externo

Saltillo, Coahuila, México.

Junio, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Micropropagación *in vitro* de pitaya (*Stenocereus Thurberi*) mediante sistemas de
inmersión temporal (SIT)

Por:

DIANA MERCADO HERNANDEZ

TESIS

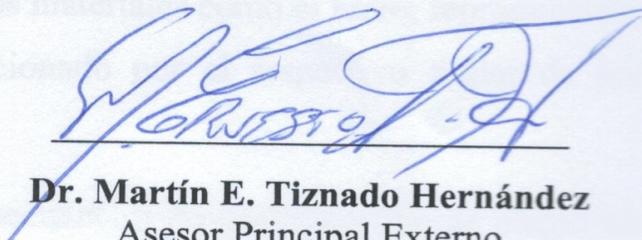
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Comité de Asesoría:



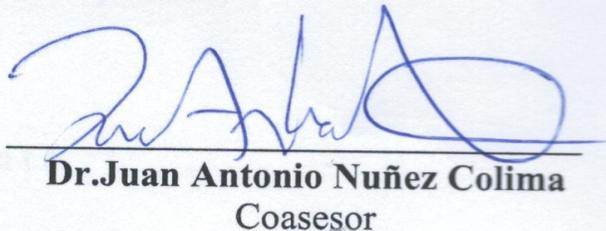
Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor Principal UAAAN



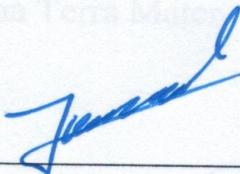
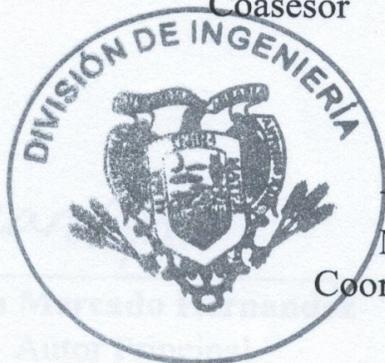
Dr. Martín E. Tiznado Hernández
Asesor Principal Externo



M.C. Luis Bernardo Rincón López
Coasesor



Dr. Juan Antonio Nuñez Colima
Coasesor



M.C. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería

Buenavista, Saltillo Coahuila, México.
Junio, 2023

DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

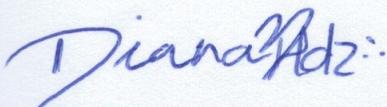
Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

A t e n t a m e n t e.

Alma Terra Mater



Diana Mercado Hernandez
Autor Principal



Dr. Julio César Tafolla-Arellano
Asesor Principal UAAAN

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro** por abrirme las puertas y convertirse en mi segundo hogar, que sin mi alma mater no estaría aquí cumpliendo mis metas.

Agradezco al **Dr. Julio César Tafolla-Arellano** por su paciencia, y apoyo a lo largo de mi formación académica, por brindarme esa seguridad de ser capaz de lograr lo que uno proponga, por ser además de un académico un amigo y por confiar en mis capacidades.

Agradezco a **Luis Bernardo Rincón López** por compartirme su aprendizaje en CTV, ya que es pieza esencial en mi formación académica. Agradezco sus consejos, sus regaños, sus enojos, pero también su apoyo, por escucharme siempre y ser paciente con mi forma de trabajar.

Agradezco al **Dr. Martín E. Tiznado Hernández** por aportación durante este proyecto y por aceptar ser parte de mi comité de tesis.

Agradezco al **Dr. Juan Antonio Núñez Colima** por aportación durante este proyecto y por aceptar ser parte de mi comité de tesis, por sus palabras de apoyo en todo momento.

Agradezco al **Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular** por abrirme las puertas y permitirme haber sido parte de su equipo de trabajo. Así como al proyecto **UAAAN-38111-425405001-0162** de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el financiamiento para desarrollar esta tesis.

DEDICATORIA

A mis padres **Julio Cesar Mercado Rodríguez** y **Norma Patricia Hernández Jiménez** por su apoyo incondicional, su paciencia, sus regaños a lo largo de mi carrera universitaria, que sin ellos no lograría ser lo que hoy en día soy.

A mi hermano **Omar Alejandro Mercado Hernández** † quien siempre me ha guiado desde el cielo.

A mi hermano **Julio Ángel Mercado Hernández** por su apoyo, su compañía, sus consejos a lo largo de mi vida, ya que junto con él he crecido aprendiendo y madurado.

A mi mejor amigo e incondicional compañero durante toda esta vida universitaria quien me acompañó en mis desvelos y momentos felices mi mascota **puppy perry**.

A mi mejor amiga **Alejandra Malacara Armendáriz** por ser mi confidente, mi compañera de lágrimas, estrés, alegrías, mi red de apoyo en los momentos más duros de mi vida y por alentarme siempre a salir adelante y ser mejor cada día. Y por traer al mundo lo más bonito y pequeño que hasta el día de hoy pude imaginar a Hanna Valeria.

A mis amigos **Mariana Obregón, Melisa Ledezma, Regina Guajardo, Manuel Encinas, Diego Durán, Juan Pablo Lugo** y **Andrés Loera** por estar siempre, por escucharme aconsejarme y apoyarme en todo momento.

A mis abuelos **Tomas Hernández** †, **Margarita Domínguez** †, **Elena Jiménez** y **Omar Mercado** por su apoyo y cariño a lo largo de mi vida.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO	IV
AGRADECIMIENTOS	V
DEDICATORIA	VI
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO	VII
ÍNDICE DE CUADROS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
RESUMEN	XII
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Justificación	2
1.2 Hipótesis	3
1.3 Objetivo General.....	3
1.3.1 Objetivos Específicos	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Generalidades de la pitaya	4
2.1.1 Botánica	4
2.1.1.1 Morfología de la planta.....	5
2.1.1.3 Requerimientos edafoclimáticos.....	8
2.1.1.3.1 Clima	8
2.1.1.3.2 Tipo de suelo	8
2.1.1.5 Formas de propagación.....	8
2.1.1.5.1 Propagación por semilla	9
2.1.1.5.2 Propagación por esquejes	9
2.1.1.5.3 Propagación por ápices (brazo)	9
2.1.1.6 Distribución	9
2.2 Usos y aplicaciones de la pitaya	10

2.3	Importancia de la pitaya	11
2.3.1	Importancia económica.....	11
2.3.2	Importancia ecológica.....	12
2.4	Amenazas.....	12
2.5	Cultivo de tejidos vegetales	12
2.5.1	Medio de cultivo	13
2.5.2	Reguladores de crecimiento.....	13
2.6	Sistemas de inmersión temporal:	14
2.6.1	Biocoupler™	14
2.6.2	Sistema BIT (Frascos gemelos).....	15
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
3.1	Material vegetal	16
3.1.1	Obtención del material vegetal	16
	Selección y preparación de semilla	16
3.2.1	Desinfección de la semilla.....	16
3.3	Establecimiento	16
3.3.1	Medio de cultivo para establecimiento de la semilla.....	16
3.3.2	Esterilización	17
3.3.3	Siembra de semillas	18
3.4	Estrategia Experimental.....	18
3.4.1	Tratamientos	18
3.5	Multiplicación por medio semisólido	18
3.5.1	Material vegetal	18
3.5.2	Cultivo in vitro en medio semisólido	21
3.5.3	Diseño experimental	21
3.5.4	Análisis estadístico	21
3.6	Multiplicación por Biorreactor Biocoupler™	22
3.6.1	Cultivo in vitro sistema Biocoupler™	24

3.7 Multiplicación por sistema frascos gemelos (BIT).....	24
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1 Germinación de la semilla	26
4.2 Multiplicación por tratamiento T0 (Testigo).....	27
4.3 Multiplicación en el tratamiento uno.....	28
4.4 Multiplicación en el tratamiento dos	29
4.5 Multiplicación en el tratamiento tres	30
4.6 Multiplicación en el tratamiento cuatro.....	31
V. CONCLUSIONES.....	33
VI. LITERATURA CITADA.....	34

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Etapas y tiempo de desinfección de la semilla.....	16
Cuadro 2. Medio de cultivo utilizado para el establecimiento.	17
Cuadro 3. Tratamientos evaluados	20
Cuadro 4. Tratamientos evaluados en biorreactores Biocoupler™.....	23
Cuadro 5. Tratamientos evaluados en el sistema de frascos gemelos (BIT).	25
Cuadro 6. Comparación de medias Tukey de la evaluación de los tratamientos para la multiplicación en el sistemas de inmersión temporal sólidos, biocupler™ y frascos gemelos.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de pitaya (<i>Stenocereus thurberi</i>) en el Desierto de Sonora (Carbó).....	5
Figura 2. Diferentes estado de desarrollo de pitaya. A) Flores de pitaya antes de la polinización. B) Pitaya a los 15 días después de floración. C) Pitaya a los 20 días después de floración. D) Pitaya a los 30 días después de floración. E) Pitaya a los 40 días después de floración. F) Pitaya en senescencia. Fuente: Tiznado-Hernández <i>et al.</i> , (2004).	6
Figura 3. Semillas de <i>Stenocereus thurberi</i>	7
Figura 4. Fruto abierto de <i>Stenocereus thurberi</i>	8
Figura 5. Distribución Geográfica de <i>Stenocereus thurberi</i>	10
Figura 6. Cartel de la feria de la pitaya.....	11
Figura 7. Sistema Biocoupler™	14
Figura 8. Frascos gemelos (BIT).....	15
Figura 9. Autoclave para esterilizar los medios de cultivo.....	18
Figura 10. Semillas sembradas en medio MS.....	18
Figura 11. Material vegetal establecido cinco meses después.....	19
Figura 12. Medios semisólidos.....	19
Figura 13. Corte del explante entre segmentos laterales	21
Figura 14. Preparación de tratamientos en Biocoupler™.....	22
Figura 15. Porcentaje de germinación en la semilla	26
Figura.16. Explantes Tratamiento cero.....	27
Figura 17. Explantes del tratamiento uno.	28
Figura 18. Explantes del tratamiento dos	29
Figura 19. Explantes del tratamiento tres.....	30
Figura 20. .Explantes del tratamiento cuatro	31

RESUMEN

Stenocereus thurberi, conocida como pitaya dulce, es un cactus endémico del desierto de Sonora, y su fruta tiene demanda para consumo humano así como un potencial hortícola e industrial. Sin embargo, las poblaciones naturales de esta especie han disminuido constantemente. Esto se debe principalmente a la destrucción de hábitats por el uso del suelo para la agricultura o la ganadería, granjas de camarón, y problemas fitopatológicos. Además, el crecimiento es lento y las poblaciones silvestres tienen poca capacidad de recuperación debido a la reducida capacidad para la multiplicación natural por semilla. La principal forma de propagación es vegetativa, a partir de los tallos, esquejes o cladodios. A pesar de su gran importancia económica e industrial, no se ha desarrollado un protocolo para su propagación *in vitro* que nos permitan clonar y multiplicar a gran escala esta planta. El objetivo de esta investigación fue evaluar la factibilidad de micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*) en diferentes sistemas (medio semisólido, sistema frascos gemelos y Bio coupler™) y medios de cultivo. Se establecieron distintos tratamientos en medio semisólido, sistema frascos gemelos y Bio coupler™ evaluando diferentes reguladores de crecimiento y concentraciones de medios durante 57 días. El sistema de frascos gemelos con el tratamiento de 1 mg/L⁻¹ de 6-benciladenina (BAP) y 4.3 g/L⁻¹ de medio MS, con una frecuencia de inmersión de 24 h durante 5 minutos obtuvo mayor número de brotes adventicios. En medio sólido se obtuvieron brotes adventicios de menor tamaño y en menor cantidad. Por otro lado, en el sistema de biocoupler™ no se observaron resultados en el crecimiento de brotes. El sistema BIT demostró ser el Sistema de Inmersión Temporal con mayor eficiencia en la producción de brotes adventicios, acumulación de biomasa y generación de raíces adventicias. Se concluye que es posible la multiplicación vegetativa de forma eficiente de la especie *S. thurberi*.

Palabras clave: Pitaya, micropropagación, Sistemas de Inmersión Temporal

I. INTRODUCCIÓN

Stenocereus thurberi, es un cactus endémico del desierto de Sonora, los frutos de esta cactácea está cubierta de espinas color negro-café, la coloración del epicarpio tiende a ser verdes, morados o rojos, la pulpa es dulce, jugosa con semillas color negro de alrededor de 2 mm de largo (López, 1993). La pitaya es importante para la fauna desértica como principal fuente de alimento. Además, su recolección y venta es una actividad económica importante y su consumo representa una importante aportación nutricional en la dieta alimenticia humana (Ruiz *et al.*, 2015; Sonora silvestre, 2023). Este cactus está amenazado por uso del suelo para actividades agrícolas y granjas acuícolas (Salomón *et al.*, 2016). El daño causado por bajas temperaturas también llega a afectar el crecimiento reduciendo la cantidad y calidad de las flores, ya que el frío reduce los tiempos de maduración, su calidad de sabor es menor y la forma de desarrollo es más lenta (Barrios, 2000). Además, su crecimiento es lento y tiene poca capacidad de recuperación de las poblaciones silvestres, lo que se debe a la ineficiencia de su multiplicación natural por semilla. La principal forma de propagación vegetativa en campo es a partir de los tallos, esquejes o cladodios, de manera natural a través de la separación de los tallos. Existen diferentes protocolos para la propagación de especies de cactus, como el caso de *Stenocereus stellatus* donde se obtuvieron brotes adventicios con tres tipos de citoquininas: Kinetina, 6-Benciladenina y 2-Isopentiladenina (Martínez *et al.*, 2011). Se ha reportado un protocolo en *Hylocereus undatus* en sistemas de inmersión temporal utilizando BIT, Biorreactor de flujo, y RITA, en el cual en 60 días obtuvieron brotes (Martínez, 2023). En el caso específico de *S. thurberi* solo se ha reportado un protocolo en medios semisólidos utilizando 6-Benciladenina y 2-Isopentiladenina donde se obtuvieron brotes adventicios (Molphe-Balch *et al.*, 2002). No obstante, a pesar de su gran importancia económica e industrial, ecológica y biotecnológica no se ha desarrollado un protocolo para su propagación *in vitro* que nos permitan multiplicar vegetativamente a gran escala esta planta.

1.1 Justificación

Esta investigación se enmarca en el objetivo 15 de la agenda ONU: Vida y de ecosistemas terrestres, que consiste en proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y detener la pérdida de biodiversidad y en el 15.5 que es: Adoptar medidas urgentes y significativas para reducir la degradación de los hábitats naturales, detener la pérdida de biodiversidad. *Stenocereus thurberi* tiene una gran importancia industrial, económica, social y alimentaria ya que de esta cactácea se obtiene el fruto con calidad nutricional, así como pigmentos hidrosolubles que de igual forma se pueden utilizar de cosméticos con una tonalidad rojiza o amarilla (Canseco, 2021).

El principal problema de esta cactácea es el largo período de tiempo para llegar a su edad reproductiva refiriéndose al fruto. Pues su establecimiento y su producción de fruto a partir de semillas tarda hasta el cuarto año (Vázquez, 2020). La mayoría de las pitayas crecen alrededor de entre 3 a 8 centímetros por año y este crecimiento lento es a causa de difíciles condiciones ambientales (Díaz *et al.*, 2010). El objetivo de esta investigación fue evaluar en diferentes sistemas (medio semisólido, sistema frascos gemelos y Bio coupler™) y medios de cultivo el porcentaje de respuesta de los explantes, número y longitud de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.2 Hipótesis

Es posible multiplicar vegetativamente pitaya mediante técnicas de cultivo de tejido a través de Sistemas de Inmersión Temporal .

1.3 Objetivo General

Evaluar en diferentes sistemas (medio semisólido, sistema frascos gemelos y Bio coupler™) y medios de cultivo el porcentaje de respuesta de los explantes, número y longitud de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1 Objetivos Específicos

1.3.1.1 Evaluar el efecto de medio Murashige y Skoog en medio semisólido, sistema BIT (frascos gemelos) y Biocoupler™ en el porcentaje de explantes, número y longitud de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1.2 Evaluar el efecto de medio Murashige y Skoog + 1 mg/L⁻¹ de BAP en medio semisólido, sistema BIT (frascos gemelos) y Biocoupler™ en el porcentaje de respuesta de los explantes, número y longitud de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1.3 Evaluar el efecto de medio Murashige y Skoog + 1 mg/L⁻¹ de BAP + 2iP en medio semisólido, sistema BIT (frascos gemelos) y Biocoupler™ en el porcentaje de explantes, número y longitud de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1.4 Evaluar el efecto de medio Murashige y Skoog 0.5X en medio semisólido, sistema BIT (frascos gemelos) y Biocoupler™ en el porcentaje de explantes, número y longitud de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1.5 Evaluar el efecto de medio Murashige y Skoog + 1g L⁻¹ AIA en medio semisólido, sistema BIT (frascos gemelos) y Biocoupler™ en el porcentaje de respuesta de los explantes, número y longitud de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de la pitaya

Stenocereus thurberi también conocida por su nombre común “pitaya” es un cactus endémico que se encuentra en el desierto de Sonora. Una de las cualidades por la que la pitaya tiene alto interés en la industria alimenticia es que su fruta es empleada para consumo humano.

Los frutos de la pitaya contienen betalainas los cuales son pigmentos nitrogenados solubles en agua y se sintetizan a partir de la tirosina, el cual es un aminoácido y se producen en dos grupos en los cuales: se representan por coloración rojo a violeta y en el otro grupo, betaxantinas con un color de entre amarillo o en tonalidades naranjas. La pulpa de la pitaya contiene diversos fenoles, y su función es como antioxidante, estos adquieren alto interés dentro de la nutrición y salud del ser humano (Castro *et al.*, 2020).

Dentro de la composición nutrimental de la pitaya tomando en cuenta el fruto, su cascara, pulpa y semillas, son ricos en vitaminas, proteínas, carbohidratos y lípidos. En los últimos años se ha utilizado como producto gastronómico y como ingrediente para la fabricación de productos para cosméticos, agregándole la importancia del aceite en las semillas del fruto. (Sonora silvestre, 2023).

2.1.1 Botánica

El registro de *Stenocereus thurberi* se publicó en *Botanische Studien* en 1961 y fue descrita por el botánico George Engelm.

2.1.1.1 Taxonomía

Reino: *Plantae*

Familia: *Cactaceae*

Subreino: *Tracheobionta*

Subfamilia: *Cactoideae*

División: *Magnoliophyta*

Tribu: *Pachycereeae*

Clase: *Magnoliopsida*

Género: *Stenocereus*

Subclase: *Caryophyllidae*

Especie: *S. thurberi*

Orden: *Caryophyllales*

2.1.1.2 Morfología de la planta

Stenocereus thurberi es un cactus columnar del desierto de Sonora, el cual adquiere una altura de alrededor 3-8 m, y tiene una amplia cantidad de tallos en forma vertical que surgen del suelo o de determinado tronco corto de la cactácea. La coloración de las espinas de la pitaya es negro o café oscuro, con un tamaño de entre 1 a 2 cm (Bustamante *et al.*, 2003). La pitaya produce flores, y estas son hermafroditas, se abren al atardecer, las flores duran una sola noche y son polinizadas por murciélagos, sin embargo, los colibríes son los principales polinizadores en algunos sitios del mismo desierto de Sonora (Fleming *et al.*, 1996). Los frutos maduran a lo largo del verano (Bustamante *et al.*, 2010).



Figura 1. Planta de pitaya (*Stenocereus thurberi*) en el Desierto de Sonora (Carbó).

Las flores de la pitaya (*Stenocereus thurberi*) toman una coloración entre blanca o color crema y en algunas de estas mismas puede notarse rosada o color púrpura claro (Figura 2). Las flores se localizan generalmente en la parte terminal del cactus. El tamaño de las flores de la pitaya ronda en un promedio de 15 a 29 cm por cada flor. Las flores se van orientando al mismo movimiento solar (Bustamante *et al.*, 2010).

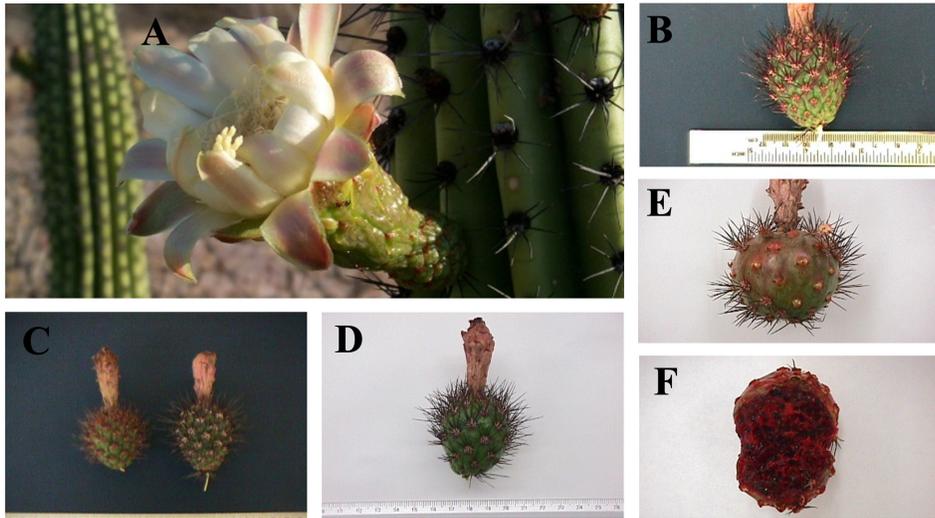


Figura 2. Diferentes estado de desarrollo de pitaya. A) Flores de pitaya antes de la polinización. B) Pitaya a los 15 días después de floración. C) Pitaya a los 20 días después de floración. D) Pitaya a los 30 días después de floración. E) Pitaya a los 40 días después de floración. F) Pitaya en senescencia. Fuente: Tiznado-Hernández *et al.*, (2004).

Las semillas de *Stenocereus thurberi* se encuentran ubicadas al abrir el fruto, su color se torna entre una tonalidad marrón u oscuro, miden entre 1 a 2.5 mm (López, 1993).



Figura 3. Semillas de *Stenocereus thurberi*.

Su fruto tiene una forma esférica y diámetro ronda entre 4 a 7 cm, el fruto de la pitaya es carnoso, y el color del interior de la pitaya es rojizo aunque puede tener tonalidades moradas, anaranjadas y blancas. Dispersas en la pulpa, se encuentran ubicadas las semillas (Figura 2F y 4).



Figura 4. Fruto abierto de *Stenocereus thurberi*

Obtenido de Naturalista, (2015)

2.1.1.3 Requerimientos edafoclimáticos

2.1.1.3.1 Clima

Stenocereus thurberi habita en una temperatura que ronda entre 10 °C a 40 °C, pero esta cactácea no soporta bajas temperaturas. También la pitaya habita climas cálidos y secos, así como climas húmedos. La altura máxima de genotipos de pitaya es hasta 1000 m sobre el nivel del mar (Pérez *et al.*, 2015)

2.1.1.3.2 Tipo de suelo

El tipo de suelo que las pitayas habitan son arenosos, y suelen tener drenaje, el suelo puede ser rocoso o contener gravilla, el pH del suelo tiende a encontrarse entre 5.5 a 8.2, y el pH apto para el buen crecimiento de la pitaya es de un rango entre 6-7.5 (Pimienta-Barrios, 2000).

2.1.1.5 Formas de propagación

La principal forma de propagación es mediante tallos y esquejes esto debido a que la semilla presenta un porcentaje bajo de germinación después de algunos años, entre otros problemas..

2.1.1.5.1 Propagación por semilla

Normalmente las pitayas se reproducen por semillas de manera natural ya que las aves y otros animales consumen el fruto y las semillas caen al suelo, sin embargo, la siembra por semillas requiere de mayores cuidados debido a que tarda de 4 a 6 años en llegar a su etapa de reproducción (Suárez, 2011). Por otro lado, la reproducción por semilla mantiene un nivel alto de variabilidad genética manteniendo características de resistencia en su población.

2.1.1.5.2 Propagación por esquejes

La propagación vegetativa mediante fragmentos del tallo de *Stenocereus thurberi* o esquejes es el método más utilizado. Se realiza mediante cortes vegetativos de un cactus maduro sembrándolos a una profundidad entre 5 a 10 cm sobre la tierra, en el pie de un tronco manteniendo la ubicación que ya tenía la planta madre. La temporada más favorable es la primavera (Díaz *et al.*, 2010). Se utiliza determinado tipo de compostaje, para almacenar humedad y así obtener un enraizado en menor tiempo (Abogado *et al.*, 2010; Córdova, 2022).

2.1.1.5.3 Propagación por ápices (brazo)

Para el uso de brazos debe mantener una longitud de 0.5m, utilizando la zona apical de forma vertical de la pitaya, pues de esta forma permite obtener mayor cantidad de brotes (García, 2021). Los brazos pueden ser trasplantados de lado vertical, quitando la parte apical ya que así se permite el crecimiento de nuevos brotes meristemáticos (Martínez *et al.*, 2000).

2.1.1.6 Distribución

Stenocereus thurberi se distribuye en el Desierto de Sonora en el pacífico del noroeste de México, puede llegar desde Sinaloa hasta el oeste de Chihuahua También se puede encontrar en el suroeste de Arizona (Bustamante *et al.*, 2010).

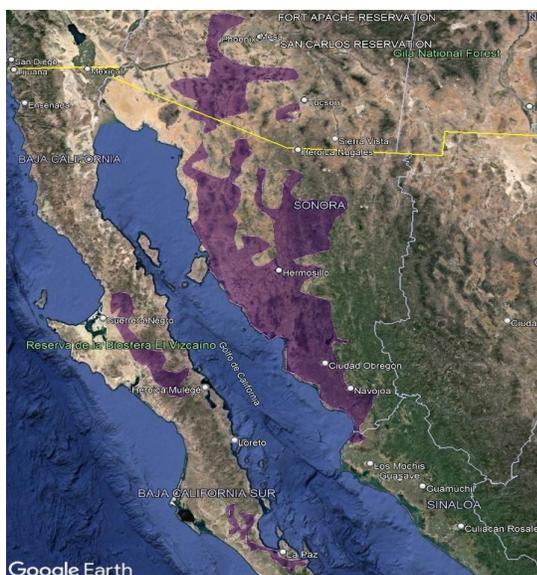


Figura 5. Distribución Geográfica de *Stenocereus thurberi*.

Adaptada de Bustamante *et al.*, (2010)

2.2 Usos y aplicaciones de la pitaya

La fruta de la pitaya tiene importancia alimentaria, ya que su fruto y semillas es rico en nutrientes para el ser humano, además, contiene diferentes compuestos con efectos positivos sobre la salud humana como prebióticos y antioxidantes. Además, se consumen las flores (Suárez, 2011). Por otro lado, se puede utilizar de forma ornamental para establecerlos ya sea en el jardín o en el patio (Vázquez, 2020).

Las semillas contienen oligosacáridos y de estas se pueden utilizar como productos nutracéuticos, así como propiedades antioxidantes. De la pulpa del fruto se pueden adquirir diversos productos los cuales pueden aprovecharse como alimentos o para la venta comercial.

2.3 Importancia de la pitaya

2.3.1 Importancia económica

La pitaya tiene un papel importante en la economía debido a que se obtienen recursos económicos del trabajo en las poblaciones, por la producción de alimentos para su venta y la extracción de colorantes para la industria cosmética (Villegas *et al.*, 2011). Asimismo, la colecta de la fruta y venta implica beneficios para las comunidades cercanas las cuales aprovechan para activar la economía (Suárez, 2021). En el municipio de Carbó, Sonora, se celebra anualmente la feria de la pitaya.



Figura 6. Cartel de la feria de la pitaya.

2.3.2 Importancia ecológica

Es esencial como fuente de alimento para polinizadores y fauna. De abril a junio *Stenocereus thurberi* produce la mayor cantidad de sus frutos y sus flores cuando la mayoría de las plantas no se encuentran en etapa de reproducción (Ruiz *et al.*, 2015).

2.4 Amenazas

La carencia de humedad en los suelos es un problema por que disminuye la posibilidad de crecimiento de la pitaya, así como sus flores que son esenciales para el alimento de diversos tipos de faunas (De la Torre, 2004). Además, la introducción del ganado influye en la disminución de especies de fauna, ya que es uno de los primeros forrajes que son utilizados con lo cual aumenta el peligro de extinción en zonas áridas (Sierra, 2011).

2.5 Cultivo de tejidos vegetales

Se inició a partir del estudio por parte de botánicos y fisiólogos en el año de 1950. En la biotecnología es esencial para realizar diversos tratamientos como seleccionar, hibridar, o mantener en control amenazas de los cultivos, producir cultivos vegetales y conservación de especies. Es un conjunto de técnicas en la cual de manera aséptica un explante es cultivado en un medio con las condiciones adecuadas, dependiendo del objetivo de cultivo de tejidos las células crecerán en un medio estéril y con todas las condiciones necesarias, pueden estar presentes con callos, raíces, tallos entre otros tipo de órganos (Mroginski *et al.*, 2004). La técnica de cultivo de tejidos vegetales (CTV) se basa en la teoría de la totipotencia celular de plantas, que establece que toda célula puede clonarse al darle determinadas condiciones necesarias para la misma, cualidad que adquiere cualquier célula somática vegetal para expresar su ADN completo adquirido de células que provienen de la división celular y con ello obtener diversos tipos de células diferenciadas, así como su regeneración (Trujillo, 1999; Portillo *et al.* 2004; Muñiz, 2018). Cultivo *in vitro* de tejidos vegetales es una técnica en la cual de una planta madre se toman explantes (raíces, embriones, tallos, entre otros) para cultivarlos en condiciones de asepsia, en determinados medios con los nutrientes requeridos para la planta, controlando condiciones como luz, temperatura, humedad, para obtener plántulas asépticas, libres de virus, o con determinada carga genética, o para uso de conservación de alguna especie en específico (Angarita, 1984).

Esta propagación surge del cultivo de plantas dentro de frascos en medios semisólidos o líquidos con un ambiente estéril, controlando los factores del crecimiento. Esto ha permitido la facilidad del estudio a nivel celular de las plantas en condiciones dentro de laboratorios a través de diferentes métodos. La organogénesis directa se produce por medio de semillas meristemas apicales, yemas axilares, tallos, entre otros explantes sin fases intermedias de células no diferenciadas. Por otro lado, la organogénesis indirecta implica la formación de brotes se lleva a cabo mediante una fase intermedia en la cual se induce a la formación de células indiferenciadas listas para diferenciarse y producir brotes (Martín *et al.*, 2015).

2.5.1 Medio de cultivo

La composición del medio de cultivo es crucial en CTV para cada planta, para obtener agua, macroelementos (Nitrógeno, Fósforo, Calcio, Potasio, Sodio etc.), así como microelementos (zinc, hierro, cobre, magnesio, azufre, manganeso), fuentes de carbono (Sacarosa), Vitaminas, reguladores de crecimiento, entre otros (Minchala, 2022).

2.5.2 Reguladores de crecimiento

Los reguladores de crecimiento se utilizan para inducir alguna respuesta de interés en el explante vegetal. se utilizan tres grupos diferentes: auxinas, citoquininas y giberelinas. Las auxinas son esenciales para la elongación celular, desarrollo del meristemo, inducción de raíces y estimulan la formación de tejido que no es diferenciado. El Ácido Indolacético (AIA) es una de las principales auxinas . Las citoquininas se utilizan para la promoción de la división celular, inducen la formación de brotes nuevos, y reducen la velocidad de la senescencia. La Zeatina (2iP) es la citoquinina más conocida. Las giberelinas inducen la división y elongación del tejido de la célula aumentando la plasticidad de la pared (Minchala, 2022).

2.6 Sistemas de inmersión temporal:

En el CTV se han elaborado diversos sistemas de micropropagación, uno de ellos son los sistemas de inmersión temporal, los cuales tienen ventajas sobre el sistema tradicional de medio semisólido reduciendo costos y periodos de tiempo (Ontaneda *et al.*, 2020). Dentro de los sistemas de inmersión temporal aumentan la difusión de los nutrientes en la planta, debido a que todos los segmentos de la planta entran en contacto directo con el agua y los nutrientes del medio líquido, lo cual facilita la producción de brotes.

Un biorreactor es un sistema automatizado, su finalidad es brindarle al cultivo un ambiente idóneo para adquirir las condiciones adecuadas para el crecimiento celular y obtener subproductos del cultivo (Muñiz, 2018).

2.6.1 Biocoupler™

Biocoupler™ es el biorreactor de inmersión temporal más simple. Acopla/conecta dos frascos con un filtro integrado con lo cual permite controlar el flujo de líquido, ayuda a prevenir el paso de pequeños propágulos y reduce el bloqueo de aire. Tiene un filtro de ventilación microporoso que permite igualar la presión interior a la presión atmosférica, lo que ayuda a prevenir la contaminación (Plant cell technology, 2023).



Figura 7. Sistema Biocoupler™

2.6.2 Sistema BIT (Frascos gemelos)

El sistema BIT también conocido como frascos gemelos, consiste en dos frascos conectados entre sí por mangueras, un frasco funciona como cámara de cultivo mientras que el otro se utiliza como tanque del medio de cultivo. Cada frasco está conectado a una línea de aire, el cual es controlado por temporizadores, con válvulas solenoides en sistemas semiautomatizados. Este sistema es seguro, fácil de utilizar y resulta ser más económico respecto a otros sistemas como los Recipientes de Inmersión Automatizado (RITA). Además, Su estructura permite adquirir mayor estabilidad durante largos lapsos de tiempo (Minchala, 2022).



Figura 8. Frascos gemelos (BIT)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

3.1.1 Obtención del material vegetal

Se recolectaron semillas de pitaya proveniente del municipio de Carbó del desierto de Sonora en el año de 2021.

Selección y preparación de semilla

Para la selección de semilla se tomaron aleatoriamente semillas de *Stenocereus thurberi* para propagarlos *in vitro* en medio de cultivo Murashigue y skoog (MS 100%), en el Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. para conservar el material por 6 meses hasta obtener el tamaño adecuado.

3.2.1 Desinfección de la semilla

Cuadro 1. Etapas y tiempo de desinfección de la semilla.

Compuesto	Tiempo
Captan ($1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)	10 minutos
Alcohol (70 %)	5 minutos
Cloro (25 %)	5 minutos

Gramos por litro ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)

3.3 Establecimiento

3.3.1 Medio de cultivo para establecimiento de la semilla

Se preparó medio de cultivo Murashigue y Skoog al 100% con un pH de 5.7 en 62 frascos.

Cuadro 2. Medio de cultivo utilizado para el establecimiento.

Compuesto	Cantidad
Murashigue y Skoog (CAS1912-24-9)	4.3 g. L ⁻¹
Sacarosa (CAS 87-89-8)	30 g. L ⁻¹
Myo-inositol (CAS 87-89-8)	0.1 g. L ⁻¹
Plant Preservation Mixture	0.1µl . L ⁻¹
Agar (CAS 9002-18-0)	7.9 g. L ⁻¹

Gramos por litro ($g. L^{-1}$) Microlitros de muestra por litro ($\mu l . L^{-1}$).

3.3.2 Esterilización

La esterilización del medio de cultivo se llevó a cabo por 20 minutos en autoclave marca Novatech modelo EV-30, con presión a 120 °C y 20 PSI.



Figura 9. Autoclave para esterilizar los medios de cultivo.

3.3.3 Siembra de semillas

Se sembraron 5 semillas por frasco y se incubaron a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad.



Figura 10. Semillas sembradas en medio MS.

3.4 Estrategia Experimental

3.4.1 Tratamientos

Se evaluaron 4 tratamientos y un testigo por triplicado cada uno en medio semisólido, frascos gemelos (BIT) y Biocoupler™. Se tomaron como explantes los brotes de las semillas con un largo de 5 cm por planta de la parte del establecimiento.

3.5 Multiplicación por medio semisólido

3.5.1 Material vegetal

El material vegetal de pitaya utilizados fueron las semillas establecidas en condiciones *in vitro*.



Figura 11. Material vegetal establecido cinco meses después.

Se evaluaron 4 tratamientos y un testigo, se tomaron explantes con 3 divisiones de segmentos laterales para su multiplicación *in vitro*.



Figura 12. Medios semisólidos.

Se tomaron como referencia tratamientos reportados en *Stenocereus thurberi*, el medio para los 5 tratamientos que se describen en el cuadro 3.

Cuadro 3. Tratamientos evaluados.

COMPUESTO	TESTIGO	T1	T2	T3	T4
Murashige y Skoog (CAS 1912-24-9) 1 X	4.3 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹	2.15 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹
Sacarosa (CAS 57-50-1)	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹	15 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹
Myo-inositol (CAS 87-89-8)	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹
Plant Preservation Mixture	1%	1%	1%	1%	1%
Reguladores de crecimiento	-----	BA (CAS 121439-7) 1 g. L ⁻¹ -	BA (CAS 121439-7) 1 g. L ⁻¹	-----	IAA (CAS 87-51-4) 1g. L ⁻¹
Reguladores de crecimiento	-----		2 Ip 1 g. L ⁻¹	-----	-----

Gramos por litro (*g. L⁻¹*), 6-Benzylaminopurine (BA), 3-Indoleacetic Acid (IAA), Microlitros por litro ($\mu\text{l} . L^{-1}$).

3.5.2 Cultivo *in vitro* en medio semisólido

Se tomaron 5 explantes de pitaya previamente establecidos, los segmentos se obtuvieron mediante 3 cortes rectos de 1 cm de longitud por explante para su cultivo en los diferentes tratamientos. Posteriormente, se incubaron a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad.



Figura 13. Corte del explante entre segmentos laterales

3.5.3 Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con un ANOVA ($\alpha \pm 0.05$) con 3 réplicas biológicas por tratamiento. Los datos fueron evaluados a los 57 días después de la siembra.

3.5.4 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza y prueba de comparación de medias Tukey ($\alpha=0.05$), utilizando el paquete estadístico STATISTICA 10 (StatSoft, 2014).

3.6 Multiplicación por Biorreactor Biocoupler™

Se evaluaron 4 tratamientos y un testigo con una repetición cada uno, se tomaron explantes con 3 divisiones de segmentos laterales para su multiplicación *in vitro*. Posteriormente, se incubaron a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad.



Figura 14. Preparación de tratamientos en Biocoupler™

El medio para los 5 tratamientos se describe en el siguiente cuadro:

Cuadro 4. Tratamientos evaluados en biorreactores Biocoupler™

COMPUESTO	TESTIGO	T1	T2	T3	T4
Murashige y Skoog (CAS 1912-24-9) 1X	4.3 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹	2.15 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹
Sacarosa (CAS 57-50-1)	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹	15 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹
Myo-inositol (CAS 87-89-8)	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹
Plant Preservation Mixture	1%	1%	1%	1%	1%
Reguladores de crecimiento	-----	BA (CAS 121439-7) 1 g. L ⁻¹ -	BA (c CAS 121439-7)1 g. L ⁻¹	-----	IAA (CAS 87-51-4) 1g. L ⁻¹
Reguladores de crecimiento	-----		2 Ip 1 g. L ⁻¹	-----	-----
Tiempo de 1 inmersión cada 24 horas.	5 minutos	5 minutos	5 minutos	5 minutos	5 minutos

Gramos por litro (g. L⁻¹), 6-Benzylaminopurine (BA), 3-Indoleacetic Acid (IAA), Microlitros por litro (µl . L⁻¹).

3.6.1 Cultivo *in vitro* sistema Biocupler™

Se tomaron 5 explantes de pitaya previamente establecidos, los segmentos se obtuvieron mediante 3 cortes rectos de 1 cm de longitud por explante priorizando los segmentos laterales para su cultivo en los diferentes tratamientos. Posteriormente, se incubaron a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad.

3.7 Multiplicación por sistema frascos gemelos (BIT)

Se evaluaron 4 tratamientos y un testigo con una repetición cada uno, se tomaron explantes con 3 divisiones de segmentos laterales para su multiplicación *in vitro*. Posteriormente, se incubaron a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16 h luz y 8 h de oscuridad. El medio para los 5 tratamientos se describe en el siguiente cuadro:

Cuadro 5. Tratamientos evaluados en el sistema de frascos gemelos (BIT).

COMPUESTO	TESTIGO	T1	T2	T3	T4
Murashige y Skoog (CAS 1912-24-9) 1X	4.3 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹	2.15 g. L ⁻¹	4.3 g. L ⁻¹
Sacarosa (CAS 57-50-1)	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹	15 g. L ⁻¹	30 g. L ⁻¹
Myo-inositol (CAS 87-89-8)	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹	0.1 g. L ⁻¹
Plant Preservation Mixture	1%	1%	1%	1%	1%
Reguladores de crecimiento	-----	BA (CAS 121439-7) 1 g. L ⁻¹ -	BA (CAS 121439-7)1 g. L ⁻¹	-----	IAA (CAS 87-51-4) 1g. L ⁻¹
Reguladores de crecimiento	-----		2 Ip 1 g. L ⁻¹	-----	-----
Tiempo de 1 inmersión cada 24 horas.	5 minutos	5 minutos	5 minutos	5 minutos	5 minutos

Gramos por litro (g. L⁻¹), 6-Benzylaminopurine (BA), 3-Indoleacetic Acid (IAA), Microlitros por litro (µl . L⁻¹).

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Germinación de la semilla

Se sembraron 325 semillas de las cuales solo 117 germinaron por un lapso de 5 meses, el porcentaje de germinación fue de 26.47 % y el promedio de elongación de los explantes de 0.58 mm.

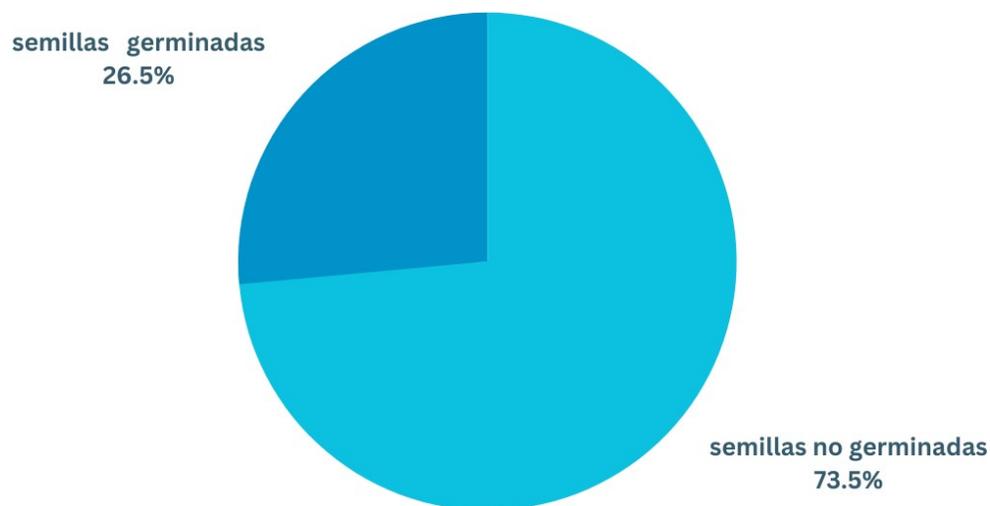


Figura 15. Porcentaje de germinación en la semilla

4.2 Multiplicación por tratamiento T0 (Testigo)

El tratamiento cero fue el tratamiento testigo, en el cual la multiplicación por medio semisólido de tres explantes laterales, solo en uno tuvo un brote en la réplica 1 (Figura 17A1) mostrando una tonalidad verde, en la réplica 2 (Figura 17A2) podemos observar que el explante presentó necrosis. El explante de la réplica 3 (Figura 17A3) no mostró brotes. El sistema Biocoupler no presentó crecimiento de brotes, y los tres explantes presentaron hiperhidricidad. Además, los explantes presentaron necrosis. En el sistema de frascos gemelos se observó un crecimiento de brotes en los tres explantes, y crecimiento de raíces en dos explantes (Figura 17C1 y C3).

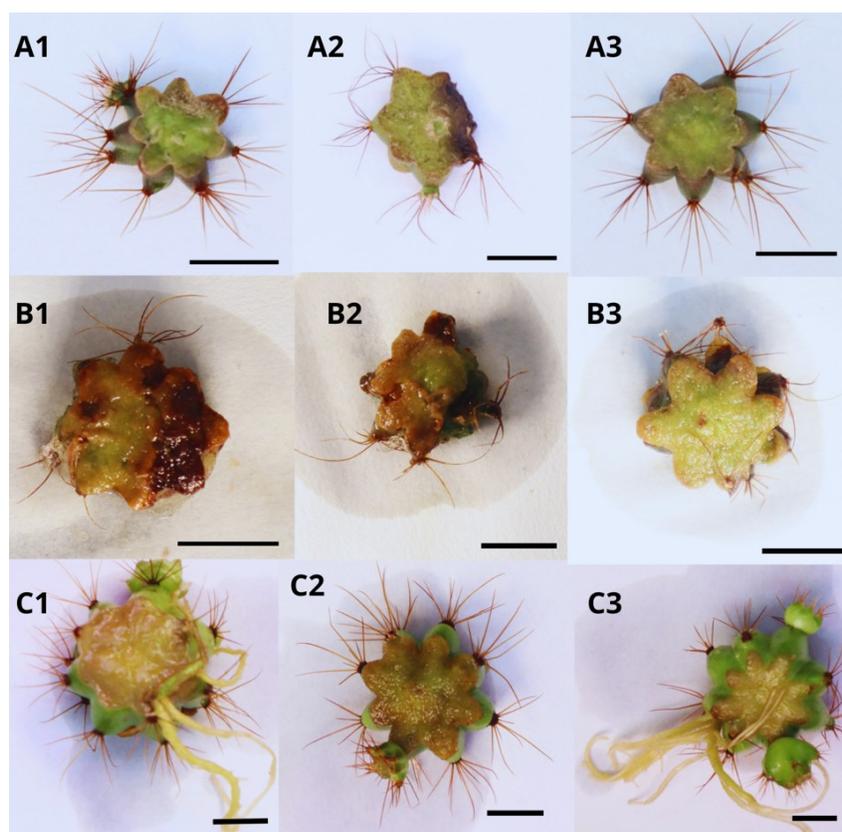


Figura.16. Explantes Tratamiento cero. Barra de escala = 1cm.

4.3 Multiplicación en el tratamiento uno

El tratamiento uno, demostró que en la multiplicación por medio semisólido de tres explantes laterales, mostraron dos brotes (Figura 18A1 y A2), uno en cada explante. En el tercer explante no se observó ningún brote. el color de los explantes se mostró un color verde y no se observó hiperhidratación o vitrificación. El sistema Biocoupler no presentó crecimiento de brotes, y solo en un explante se observa crecimiento de raíz las cuales tienen tonalidad amarillo claro (Figura 18B3). el color de los explantes se mantuvo verde y no se observan indicios de hiperhidratación o vitrificación. En el sistema de frascos gemelos se observó crecimiento de brotes en los tres explantes, en el explante de la réplica 1 (Figura 18C1) se observó crecimiento de dos brotes, en la réplica 2 (Figura 18C2) un solo brote mientras que en la réplica 3 se observó el crecimiento de cuatro brotes (Figura 18C3).

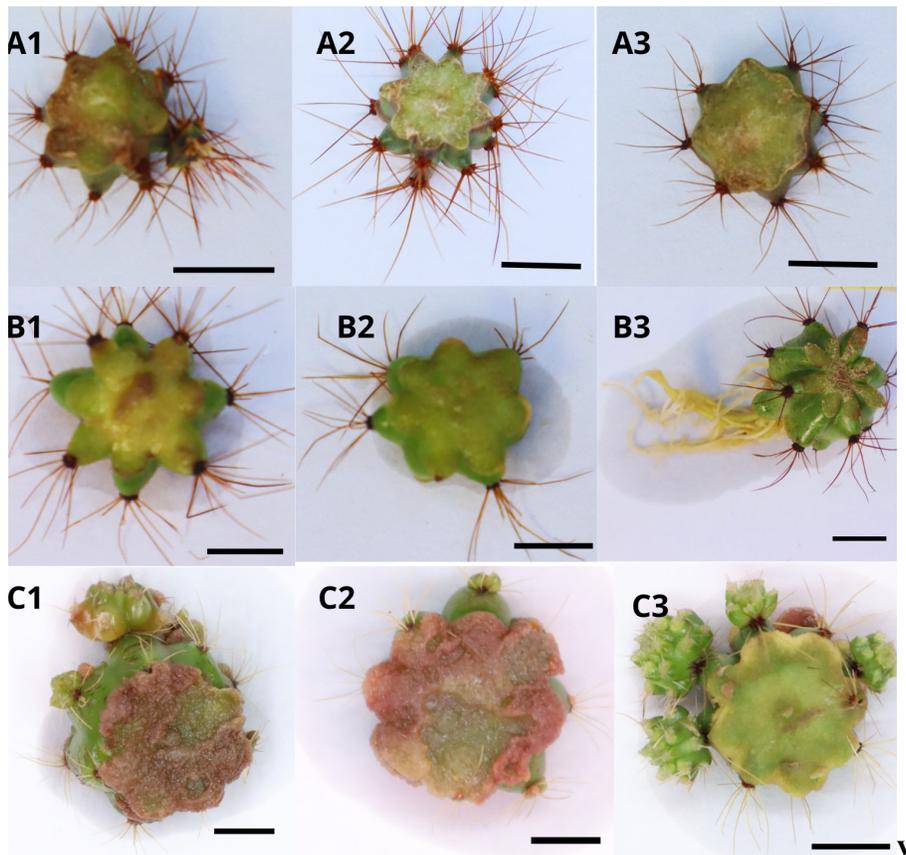


Figura 17. Explantes del tratamiento uno. Barra de escala = 1 cm.

4.4 Multiplicación en el tratamiento dos

El tratamiento dos, no presentó crecimiento de brotes en la multiplicación por medio semisólido de tres explantes laterales, pero si se observó crecimiento de raíces en cada explante (Figura 19A1,A2 y A3), En el sistema biocoupler no presentó crecimiento de brotes (Figura 19B1,B2,B3), y solo en la réplica 1 (Figura 19B1 se observó crecimiento de raíz. En el sistema de frascos gemelos no se observó crecimiento de brotes en ningún explante (Figura 19C1,C2,C3)

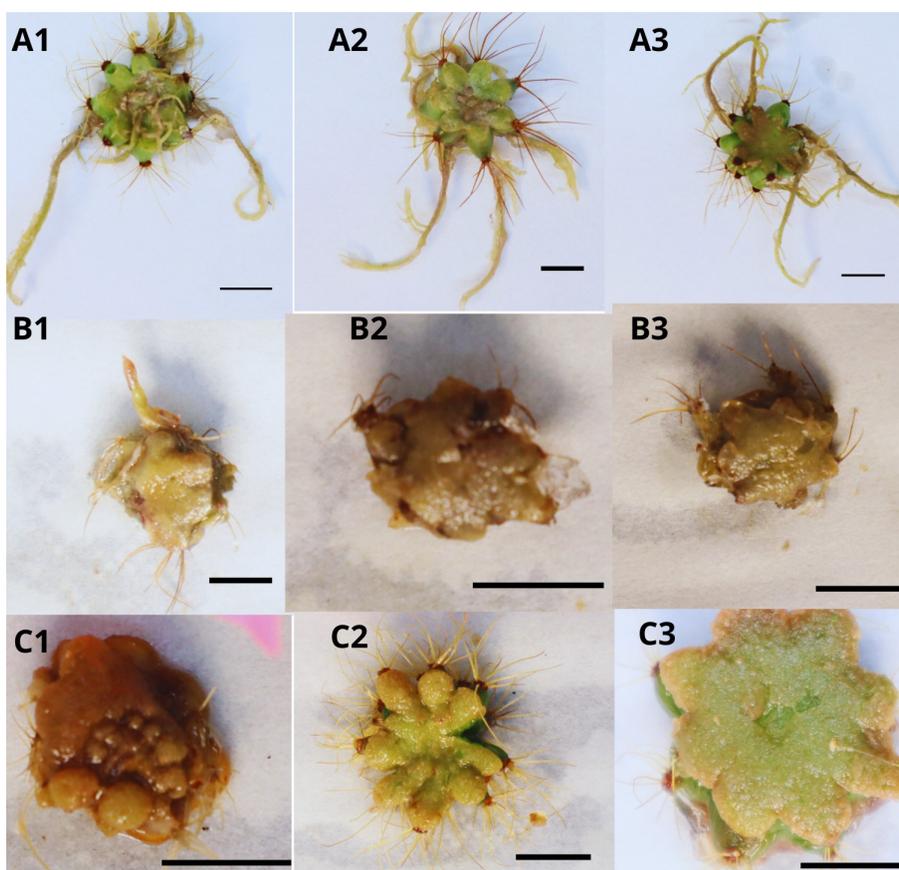


Figura 18. Explantes del tratamiento dos. Barra de escala = 1cm.

4.5 Multiplicación en el tratamiento tres

El tratamiento tres , presentó crecimiento de brotes en medio semisólido en la réplica 1 y 3 (Figura 20A1 y A3), así como crecimiento de raíces en la réplica 3 (Figura 20A3). En el sistema Biocoupler presentó crecimiento de brotes en la réplica 1 (Figura 20B1), y solo en la réplica 3 (Figura 20B3) se observó crecimiento de raíz. Por otro lado, en el sistema de frascos gemelos solo se observó crecimiento de brotes en el explante de la réplica 2 (Figura 20C2).

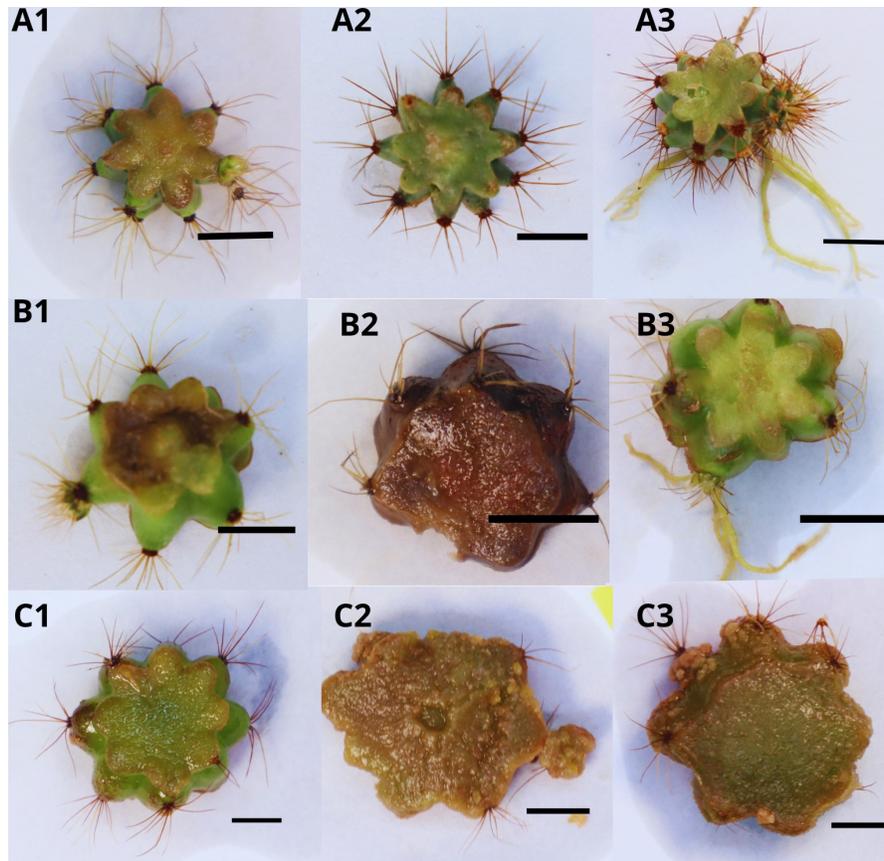


Figura 19. Explantes del tratamiento tres. Barra de escala = 1cm.

4.6 Multiplicación en el tratamiento cuatro

El tratamiento cuatro, presentó crecimiento de brotes en la multiplicación por medio semisólido de los tres explantes (Figura 21A1-3). También presentó crecimiento de raíces la replica 2 (Figura 21A2). En el sistema biocoupler ningún explante presentó crecimiento de brotes ni raíces (Figura 20B1,B2,B3). En el sistema de frascos gemelos no se observó crecimiento de brotes ni raíces en ningún explante.

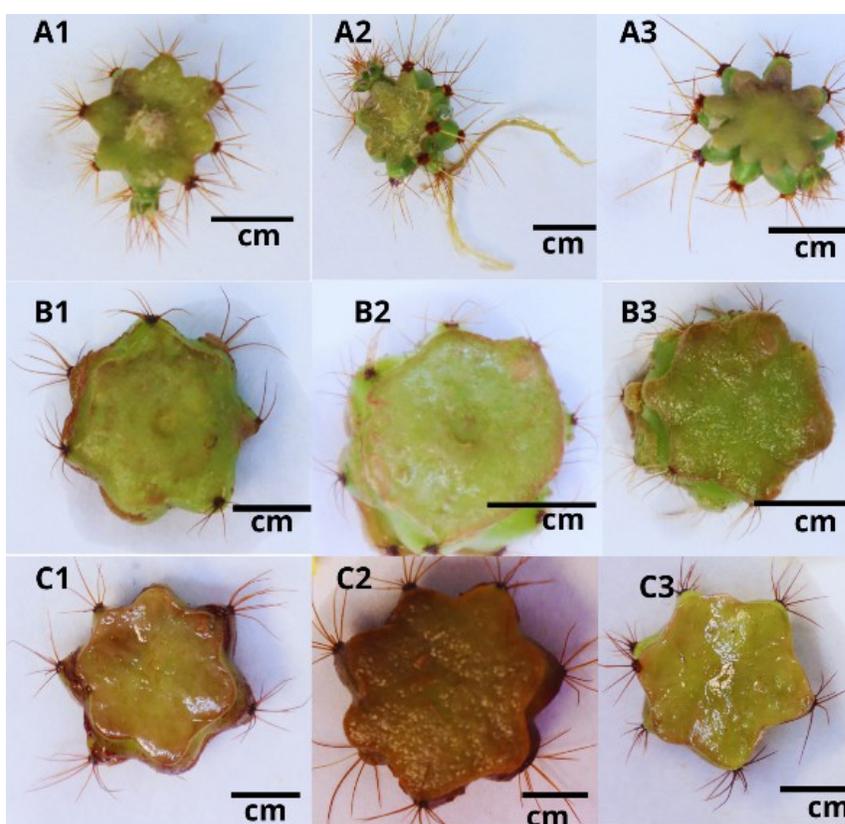


Figura 20. .Explantes del tratamiento cuatro. Barra de escala = 1cm.

4.7 Análisis estadísticos

Cuadro 6. Comparación de medias mediante la prueba de Tukey de la evaluación de los tratamientos para la multiplicación en el sistemas de inmersión temporal sólidos, biocupler™ y frascos gemelos.

TRAT	NB		LB		AB		NR		LR		LE		AE	
B0	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.00	a	17.08	abc	8.48	a
B1	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.33	a	8.99	a	16.24	abc	10.14	a
B2	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.33	a	9.96	a	14.89	abc	5.85	a
B3	0.50	a	1.54	ab	1.89	ab	0.50	a	11.34	a	16.80	abc	9.77	a
B4	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.00	a	17.87	abc	10.75	a
G0	1.33	ab	6.72	b	6.42	b	0.33	a	11.28	a	16.32	abc	10.65	a
G1	2.67	b	6.38	b	7.23	b	0.33	a	6.74	a	21.60	bce	11.66	a
G2	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.00	a	21.20	bce	8.77	a
G3	0.33	a	2.32	ab	2.29	ab	0.00	a	0.00	a	25.99	e	11.01	a
G4	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.00	a	0.00	a	22.76	ce	9.67	a
S0	0.33	a	3.08	ab	2.54	ab	0.00	a	0.00	a	9.80	a	4.85	a
S1	0.33	a	4.48	ab	2.68	ab	0.00	a	0.00	a	10.54	ab	5.36	a
S2	0.00	a	0.00	a	0.00	a	1.00	a	24.50	a	14.54	abc	8.75	a
S3	0.67	a	3.71	ab	3.46	ab	0.33	a	7.50	a	13.53	ab	10.40	a
S4	1.00	a	3.46	ab	2.57	ab	0.33	a	9.06	a	9.80	a	6.85	a

Diferencia Mínima Significativa DMS y Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $\alpha = 0.05$)

Biocupler™ (B), frascos gemelos (G) , semisólidos S, número de brotes NB, longitud de brotes LB, altura de brotes AB, número de raíces NR, longitud de raíces LR , longitud de explantes LE, altura de explantes AE.

V. CONCLUSIONES

El uso de los diferentes sistemas y medios de cultivo influyó en el porcentaje de respuesta de los explantes, número y longitud de brotes en la etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*). El sistema de frascos gemelos (BIT) con el tratamiento 1 obtuvo mayor número de brotes, con el uso de citoquinina 6-bencilaminopurina y periodos de 5 minutos de inmersión cada 24 horas.

VI. LITERATURA CITADA

- Abogado, P. B., & Castañeda, V. J. (2010). Pitayas y pitahayas (*Stenocereus spp. e Hylocereus spp.*), recursos agrícolas en el Valle de Tehuacán Puebla. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente*, 19, 101–120.
- Angarita, A. (1984). *Cultivo de Tejidos Vegetales" In vitro"*.
- Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. (2009). *Pitahaya*. Biblioteca Digital de La Medicina Tradicional Mexicana. <http://medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=stenocereus-thurberi>
- Bustamante, E., Casas, A., & Búrquez, A. (2010). Geographic variation in reproductive success of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae): Effects of pollination timing and pollinator guild. *American Journal of Botany*, 97(12), 2020–2030.
- Bustamante, O. E. (2003). Variación espacial y temporal en la reproducción y estructura poblacional de *Stenocereus thurberi*, una cactácea columnar del matorral costero del sur de Sonora. *México DF: Universidad Autónoma de México UNAM, Instituto de Ecología [Tesis de Maestría]*.
- Canseco Carreño, R. (2021). Evaluación de tratamientos de escarificación de semilla de *Stenocereus gummosus* y su germinación *in vitro* y sustrato peat moss.
- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *INIA, Uruguay*.
- Castro-Enríquez, D. D., Montañón-Leyva, B., Del Toro-Sánchez, C. L., Juárez-Onofre, J. E., Carvajal-Millán, E., López-Ahumada, G. A., Barreras-Urbina, C. G., Tapia-Hernández, J. A., & Rodríguez-Félix, F. (2020). Effect of ultrafiltration of Pitaya extract (*Stenocereus thurberi*) on Its phytochemical content, antioxidant capacity, and UPLC-DAD-MS profile. *Molecules*, 25(2), 281.
- Conacyt. (2016). *LA PITAHAYA, RIQUEZA NATURAL DE SONORA*. Conacyt.
- Córdova Oñate Hector Enrique. (2022). *Manejo agronómico del cultivo de pitaya amarilla (Selenicereus megalanthus) en el Ecuador*.
- de la Torre Alejandro, D. (2004). *Crecimiento en el pitayo de Querétaro (Stenocereus queretaroensis (Weber) Buxbaum) y su relación con factores ambientales y acido giberélico*.
- Delfino, P., Rivata, R., & Bima, P. (2020). Sistema de Inmersión Temporal (SIT): alta eficiencia en la propagación *in vitro* del portainjerto híbrido *Prunuspersica x P. amygdalus*. *Nexo Agropecuario*, 8(1), 13–18.
- Dr. W.M. Morgan. (n.d.). *Cultivo de tejido vegetal*. Nternational Plant Laboratories, Baltonsborough, UK. Retrieved April 19, 2023, from <http://exa.exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/CultivoTejidos.pdf>

- Escobar, R. H., Muñoz, L., Montoya, J. E., Tohme, J., & Roca, W. M. (2006). Implementación del sistema RITA® en la propagación a gran escala y en la embriogénesis somática de yuca. *Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1*.
- García Cruz, L. (2021). (2021). Conservación postcosecha y aprovechamiento de compuestos bioactivos de frutos de pitaya (*Stenocereus sp.*). (Doctoral Dissertation, Universidad Autónoma Chapingo).
- Giménez, C., & Colmenares, M. (2004). Sistemas prototipos para la micropropagación por inmersión temporal. *Revista de La Facultad de Agronomía, 21*(4).
- González-Arno, M. T., & Engelmann, F. (2013). *Crioconservación de plantas en América Latina y el Caribe*. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura.
- J. N. Mercado R., A.J. Ojeda C, & M.E. Tiznado H. (2021, December 31). *Cambios Fisiológicos Pre- y Postcosecha del Fruto del Pitayo (Stenocereus thurberi) del Desierto Sonorense*. Redalyc.Org. <https://www.redalyc.org/journal/813/81369610006/html/>
- Joel, L. P. (1993). *Caracterización agroecológica y social del pitayo Stenocereus queretaroensis, en la subcuenca de Sayula, Jalisco, México*.
- Kumar, S. B., Issac, R., & Prabha, M. L. (2018). Functional and health-promoting bioactivities of dragon fruit. *Drug Invention Today, 10*.
- Martín, R., Chong-Pérez, B., Pérez-Alonso, N., & para la correspondencia, A. (2015). Organogénesis *in vitro* en el género *Digitalis*. *15*(4), 195–206.
- Martín Mata Rosas, A. H. S. G. M. G. V. (n.d.). *Propagación de plantas mediante biorreactores*. INECOL. Retrieved April 21, 2023, from <http://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/component/content/article/17-ciencia-hoy/1374-propagacion-de-plantas-mediante-biorreactores>
- Martínez, G. F., Gómez, R. L., & Pérez, J. C. D. (2000). Vegetative propagation of three species of cacti: Pitaya (*Stenocereus griseus*), Tunillo (*Stenocereus stellatus*) and Jiotilla (*Escontria chiotilla*). *Agrociencia, 34*(3), 363–367.
- Martínez, H. F. C., Velasquez, G. R. B., Roca, M. D. E., Patiño, M. S. C., Falquez, O. F. C., & Aguiar, S. G. S. (2008). Propagación vegetativa de plátano y banano con la aplicación de benzilaminopurina (6-BAP) y ácido indolacético (AIA). *Ciencia y Tecnología, 1*(1), 11–15.
- Méndez Alegría, A. Y. (2014). *Uso de recipientes de inmersión temporal automatizados (RITA) para la micropropagación comercial de vainilla empleando nanopartículas de plata* (Bachelor's thesis). <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/5791/674314TL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mendoza Madrigal, G. (2007). *Propagación in vitro de astrophytum ornatum (de candolle) weber (cactaceae), especie amenazada de extinción*.

- Minchala, N. D. R. (2022). *Multiplicación masiva de palma iraca (Carludovica palmata Ruiz & Pav) mediante un Sistema Inmersión Temporal Automatizado*. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/82338/1169298.2022.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Mroginski Echenique, V., Rubinstein, C., Mroginski, L., Levitus, G. (2004). C. I. E. de cultivos de tejidos vegetales.. (2004). *Biotecnología y mejoramiento vegetal II*.
- Muñíz, R. (2018). La propagación in vitro de plantas con Sistemas de Inmersión Temporal. Una Tecnología Apropiaada para la agricultura sustentable. *Tekhné*, 21(3).
- Otaneda, A. L. C., Herrera, A. M., & Batista, R. M. G. (2020). Eficiencia del sistema de inmersión temporal frente al método de propagación convencional in vitro. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(2), 173–182.
- Pérez-González, S. B., Reyes-Olivas, Á., García-Moya, E., Romero-Manzanares, A., García-Nava, J. R., Lugo-García, G. A., & Sánchez-Soto, B. (2015). Almacenamiento de semillas y germinación de *Stenocereus thurberi*, una cactácea con viviparidad facultativa. *Botanical Sciences*, 93(2), 273–282.
- Pérez-Molphe-Balch, E., Pérez-Reyes, M. E., Dávila-Figueroa, C. A., & Villalobos-Amador, E. (2002). In vitro propagation of three species of columnar cacti from the Sonoran Desert. *HortScience*, 37(4), 693–696.
- Plant cell technology. (2023). *New Biocoupler™*. Plant Cell Technology. <https://www.plantcelltechnology.com/new-biocoupler/>
- Portillo, L., & Santacruz-Ruvalcaba, F. (2004). Totipotencia celular: Una revisión y aplicación del concepto. *Scientia-CUCBA*, 6(1–2), 13–18.
- Rico Reséndiz, F. E. (2014). *Establecimiento de un sistema de regeneración in vitro de Acacia angustissima vía organogénesis indirecta*.
- Rocha, P. J. (2004). Conceptos básicos en biotecnología de la palma de aceite. *Revista Palmas*, 25(especial,), 11–17.
- ma. cruz arriaga ruiz a ; enrique pimienta barrios, cecilia neri luna, adriana avendaño López, josé sánchez Martínez,luis javier arellano rodríguez,josé miguel padilla García,juanita acero ortega,cecilia jiménez Plascencia,david lópez ruiz,eduardo rodríguez guzmán a . *la pita a silvestre (stenocereus queretaroensis) una alternativa alimenticia, nutricional, socioeconomica*.
- Santos-Díaz, M. S., Pérez-Molphe-Balch, E., Ramírez-Malagón, R., Núñez-Palenius, H. G., Ochoa-Alejo, N., & Tepper, G. H. (2010). Mexican threatened cacti: current status and strategies for their conservation. *Species Diversity and Extinction*. Nova Science, New York, NY, USA, 1–60.
- Sierra, C. L. J. (2011). *Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan*.
- Sonora silvestre. (2023). *Pitaya*. Sonora Silvestre.
- StatSoft, I. N. C. (2014). *Statistica (Data Analysis Software System)*, Version 10 (Tulsa, Oklahoma, USA, StatSoft Inc.).

- Suárez Román, R. S. (2011). Evaluación de métodos de propagación en pitahaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (Haw.) Britt and Rose y pitahaya roja *Hylocereus polyrhizus* (Haw.) Britt and Rose. *Maestría Ciencias Agrarias*.
- Tiznado-Hernández, Martín-Ernesto; Ojeda-Contreras, Angel-Javier; Sánchez-Estrada, Alberto; Moreno-Velázquez, Delia y Mercado-Ruiz, Jorge-Nemesio. 2004. A Model to Predict the Developmental Stage of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) Fruit from Pulp and Skin Color. *Bradleya*. 22:77-84.
- Tropicos. (2023). *Name Publication Detail.* Tropicos.
<http://legacy.tropicos.org/NamePublicationDetail.aspx?nameid=5100601>
- Trujillo, I. (1999). Técnicas de clonación en *Eucalyptus grandis*. *INIA Serie Actividades de Difusión*.
- Vázquez, C. S., Vázquez, V. S., & Espinosa, V. M. H. (2020). *Agroindustrialización de pitaya*. Editorial Universitaria (Cuba).
- Villegas, Y. M. M., Rodríguez, M. A., Monter, Á. V., Tejacal, I. A., Torres, O. G. V., & Martínez, V. L. (2011). CULTIVO in vitro DE PITAYO (*Stenocereus stellatus* [Pfeiffer] Riccobono). *REVISTA CHAPINGO SERIE HORTICULTURA*, 17(3), 95–105.