

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA



Micropropagación *in vitro* de pitaya (*Stenocereus thurberi*) mediante sistemas BIT

Por:

SAÚL RANGEL SORIANO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2023.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Micropropagación *In vitro* de pitaya (*Stenocereus thurberi*) mediante sistemas BIT

Por:

SAÚL RANGEL SORIANO

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

M.C. Luis Bernardo Rincón López
Asesor Principal Externo

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Micropropagación *in vitro* de pitaya (*Stenocereus thurberi*) mediante sistemas BIT

Por:

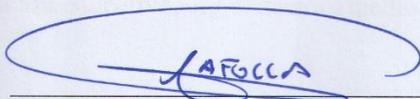
SAÚL RANGEL SORIANO

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


M.C. Luis Bernardo Rincón López
Asesor Principal externo
M.V. Silvia Patricia Acuña Álvarez
Coasesora
Ing. Brisa Adriana Bernadac Meza
Coasesora
M.C. Sergio Sánchez Martínez
Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila, México
Diciembre, 2023

DERECHOS DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

DERECHOS 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.

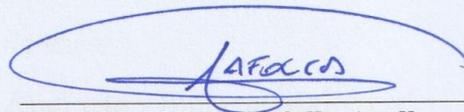
Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

Atentamente.

Alma Terra Mater



Saúl Rangel Soriano
Autor principal



Dr. Julio César Tafolla Arellano
Asesor principal

AGRADECIMIENTOS

Principalmente doy gracias a **Dios** por otorgarme la vida, por los seres queridos que me asignó, por darme la oportunidad de llegar hasta este momento y darme la fortaleza para superar los momentos más difíciles.

Agradezco a mi **Alma Mater**, por abrirme las puertas convirtiéndose en mi segundo hogar, brindarme experiencias inolvidables, los conocimientos académicos y de vida, necesarios para enfrentarme al mundo y hacer posible cumplir una meta más.

Agradezco al **Dr. Julio César Tafolla-Arellano** por su apoyo y disponibilidad durante mi formación académica, por permitirme formar parte de su equipo de trabajo y hacer posible la realización de este proyecto.

Agradezco a **Luis Bernardo Rincón López** por compartirme su conocimiento, sus consejos y regaños antes y durante la elaboración de este proyecto, agradezco también por brindarme su amistad y apoyo.

A la **Ing. Brisa Adriana Bernadac Meza** por formar parte de mi comité de asesoría, por su amistad y apoyo.

A **M.V Silvia Patricia Acuña Álvarez** por aceptar formar parte de mi comité de asesoría y abrirme las puertas del Departamento de Ciencias Básicas.

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.

A mis amigos, Carlos Josué Rubio Reyes, Jesús Hernández por su compañía y apoyo incondicional, sin olvidar a mi mejor amigo, **Jorge Luis Méndez Hernández** y a su familia, por abrirme las puertas de su casa y brindarme su apoyo para lograr con éxito esta etapa en mi vida.

A mis compañeros de clase, gracias por tantas experiencias.,

A mis compañeros y amigos del Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular.

DEDICATORIA

A mis padres **Emiliano Rangel Tobón** y **Silvia Soriano Palacios** por siempre estar en todos los momentos de mi vida, brindarme su apoyo incondicional y los recursos necesarios para continuar con mi educación, por darme ese impulso para siempre continuar adelante, inmensamente gracias.

A mis hermanos **Humberto Rangel Soriano**, **Griselda Rangel Soriano**, **José Antonio Rangel Soriano**, **Paúl Alonso Rangel Soriano** por apoyarme y escucharme siempre que lo necesité, por apoyar mis decisiones, por sus consejos y todas las aportaciones que me han hecho en mi formación profesional y como persona.

A mis abuelos **Hermelindo Rangel** †, **Rufina Tobón** †, **Faustino Soriano** † y **Candida Palacios** por su apoyo, anécdotas regaños y para guiarme por el mejor camino.

A mis tíos y tías por formar parte de mi vida, en especial a **Oscar**, **Leónides**, **Melanio**, **Margarita**, **Beatriz** y **Josefina** † por compartir tantas convivencias y consejos, gracias.

A mis cuñados **Vicente Iván**, **Consuelo** y **Fernanda** por compartir tantos momentos y consejos.

A mis sobrinos **Emiliano**, **Estefany**, **Romi** y **Max** por alegrarme siempre.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

Página

DERECHOS DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO.....	IV
AGRADECIMIENTOS	V
DEDICATORIA	VI
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO	VII
ÍNDICE DE CUADROS.....	IX
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
RESUMEN	XI
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 Taxonomía.....	4
2.1.1.2 Morfología de la planta	5
2.1.1.3 Requerimientos edafoclimáticos	8
2.1.1.3.1 Clima.....	8
2.1.1.3.2 Suelo.....	8
2.1.1.4 Formas de propagación	9
2.1.1.4.1 Propagación por semilla.....	9
2.1.1.4.2 Propagación por esquejes	9
2.1.1.4.3 Propagación por brazo (rama).....	10
2.1.1.5 Distribución.....	10
2.2 Usos y aplicaciones de la pitaya.....	11
2.3 Importancia de la pitaya	12
2.3.1 Importancia económica	12
2.3.2 Importancia ecológica	12
2.4 Amenazas	12
2.5 Cultivo de tejidos vegetales.....	13
2.5.1 Etapas del cultivo de tejidos.....	13

2.5.1.1 Acondicionamiento de la planta madre	14
2.5.1.2 Desinfección del material vegetal	15
2.5.1.3 Establecimiento del material vegetal en condiciones asépticas (<i>in vitro</i>)	15
2.5.1.4 Multiplicación	15
2.5.1.5 Enraizamiento	15
2.5.1.6 Aclimatación	16
2.5.2 Medio de cultivo	16
2.5.3 Reguladores de crecimiento vegetal y fitohormonas	16
2.6 Sistemas de inmersión temporal (SIT)	17
2.6.1 Sistema BIT (Frascos gemelos).....	18
III. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1 Material Vegetal.....	20
3.1.1 Obtención del material vegetal.....	20
3.1.2 Selección y preparación de semilla	20
3.2.1 Desinfección de la semilla.....	20
3.3 Establecimiento	20
3.3.1 Medio de cultivo para establecimiento de semillas	20
3.3.2 Esterilización.....	21
3.3.3 Siembra de semillas.....	22
3.4 Estrategia Experimental	22
3.4.1 Tratamientos.....	22
3.5 Multiplicación en sistema BIT (Frascos gemelos)	23
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 Multiplicación Tratamiento 1 (T1).....	26
4.2 Multiplicación tratamiento 2 (T2)	27
4.3 Multiplicación tratamiento 3 (T3)	28
4.4 Multiplicación tratamiento 4 (T4)	29
4.5 Multiplicación tratamiento 5 (T5)	30
4.6 Análisis estadísticos	31
V. CONCLUSIONES	35
VI. LITERATURA CITADA	36

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Desinfección de semillas.....	20
Cuadro 2. Medio de cultivo para establecimiento de semillas.....	21
Cuadro 3. Tratamientos evaluados en sistema de frascos gemelos (BIT).....	25
Cuadro 4. Comparación de medias Tukey de la evaluación de los tratamientos para la multiplicación en sistemas de inmersión temporal BIT frascos gemelos.....	31
Cuadro 5. Correlaciones absolutas de las variables evaluadas.	32

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Planta de <i>Stenocereus thurberi</i> durante la temporada de cosecha en Sonora	6
Figura 2. Flores de <i>Stenocereus thurberi</i> abiertas durante la noche	6
Figura 3. Semillas de <i>Stenocereus thurberi</i>	7
Figura 4. Fruto de <i>Stenocereus thurberi</i>	8
Figura 5. Propagación de <i>Stenocereus thurberi</i> mediante brazos (ápices).....	10
Figura 6. Distribución geográfica de <i>Stenocereus thurberi</i>	11
Figura 7. Etapas del cultivo de tejidos vegetales.	14
Figura 8. Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT).	19
Figura 9. Autoclave utilizada para la esterilización de medios de cultivo	22
Figura 10. Semillas sembradas en medio Murashige y Skoog (MS 1X).	22
Figura 11. Material vegetal de <i>Stenocereus thurberi</i> después de 5 meses de establecimiento	23
Figura 12. Multiplicación de <i>Stenocereus thurberi</i> en sistema BIT (Frascos gemelos)	24
Figura 13. Raíces de pitaya	26
Figura 14. Brotes de pitaya	26
Figura 15. Explantes del tratamiento 1	27
Figura 16. Explantes del tratamiento 2	28
Figura 17. Explantes del tratamiento 3	29
Figura 18. Explantes del tratamiento 4	30
Figura 19. Explantes del tratamiento 5	31
Figura 20. Número de brotes por tratamiento.	32
Figura 21. Longitud de brotes por tratamiento.....	33
Figura 22. Ancho de brotes por tratamiento.....	33
Figura 23. Número de raíces por tratamiento.....	34
Figura 24. Longitud de raíces por tratamiento	34

RESUMEN

Stenocereus thurberi (pitaya) es un cactus columnar endémico del desierto de Sonora, es de suma importancia ecológica y económica debido al incremento de la demanda de frutas exóticas, tiene usos en la industria alimenticia, médica y química. La especie se ve amenazada por el cambio en el uso de suelo, así como problemas patológicos que afectan su supervivencia, las bajas tasas de reproducción, lento crecimiento, entre otras. Dada la importancia que tiene, no se han implementado programas de conservación a cielo abierto o en condiciones de agricultura protegida, y los protocolos para el cultivo *in vitro* no han sido eficientes. El objetivo de esta investigación fue evaluar el número, longitud de brotes y raíces de explantes de pitaya (*Stenocereus thurberi*) en sistemas de inmersión temporal (frascos gemelos) en medio Murashige y Skoog 1X con 1 $g \cdot L^{-1}$ de 6-Benzylaminopurine (BAP) a diferentes frecuencias de inmersión. Se diseñaron 5 tratamientos (T1 8 horas, T2 12 horas, T3 24 horas, T4 48 horas, T5 72 horas) con una duración de inmersión de 5 minutos para determinar el mejor tratamiento. Los datos obtenidos (50 días) mostraron que las frecuencias de inmersión de 12 horas (T2) produjeron 1.02 brotes por replica biológica en comparación con 0.48 brotes del T5, y un mayor número de raíces (1.06) que el T2 (0.60).

Palabras clave: sistemas de inmersión, frecuencia de inmersión

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas del género *Stenocereus* presentan una amplia distribución a lo largo de todo el territorio mexicano, en este género podemos encontrar 24 especies de las que 21 son endémicas de México (Gibson y Horak, 1978), y del desierto de Sonora (Quiroz-Gonzalez *et al.*, 2018). Esta planta produce frutos redondos y cuentan con espinas, además, son de numerosos colores que van desde el púrpura, rosa, rojo, naranja, amarillo o blanco (Ramírez, 2017), al interior se aprecian una enorme cantidad de semillas que son de color negro intenso, el color de su pulpa es definido por el contenido y la cantidad de compuestos como las betalaínas (Hinojosa-Gómez y Muy-Rangel, 2023). Este fruto ha sido consumido desde la antigüedad y últimamente ha adquirido mayor grado de atención al igual que otras frutas exóticas como la pitahaya (*Hylocereus* spp.), y el xoconochtlí (*Stenocereus stellatus*) (Casas *et al.*, 1997) debido a sus propiedades organolépticas y los beneficios que se obtienen al consumirlos. El comercio de este fruto es importante para el consumo de mercados locales, su impacto en el mercado nacional e internacional no es relevante, ya que presenta una muy reducida vida de anaquel. Entre los riesgos más importantes que afectan las poblaciones de pitaya (*Stenocereus thurberi*) se encuentran los cambios en el uso del suelo correspondiente a las actividades humanas como el sobrepastoreo de ganado, la agricultura y la recolección de especímenes jóvenes y de los problemas de sanidad provocados por fitopatógenos (Pérez-Molphe-Balch *et al.*, 2002). Además, su propagación natural por medio de semillas es afectada por distintos factores como la disponibilidad de agua proveniente de las precipitaciones pluviales durante la floración y el desarrollo del fruto (Parker, 1988).

La propagación por medio de sistemas controlados como es el caso de la propagación *in vitro* parece ser una opción de conservación y producción de plántulas de pitaya (*Stenocereus thurberi*). Sin embargo, existe poca información acerca de la micropropagación de esta especie. En este sentido, Pérez-Molphe-Balch *et al.*, (2002) reportó la germinación y desarrollo de brotes de pitaya en medio semisólido, así como también se ha reportado la producción de brotes en sistemas de inmersión temporal.

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. La pitaya (*Stentocereus thurberi*) fue puesta en la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) en 2010 y considerada como Preocupación Menor, ya que sus poblaciones se han visto disminuidas debido a amenazas como el crecimiento de la agricultura, su uso como especie vegetal no maderable, el uso de las tierras para su uso en la producción de peces en granjas, así como la producción de forrajes para la industria ganadera (Burquez y Felger, 2017).

1.2 Hipótesis

Las frecuencias de inmersión cortas (12 h) inducirán el desarrollo y formación de brotes apicales en el cultivo de explantes de *Stenocereus thurberi* en sistemas de inmersión temporal BIT.

1.3 Objetivo General

Evaluar el número, longitud de brotes y raíces de explantes de pitaya (*Stenocereus thurberi*) en sistemas de inmersión temporal (frascos gemelos) a diferentes frecuencias de inmersión.

1.3.1 Objetivos Específicos

1.3.1.1 Evaluar el efecto de medio líquido Murashige y Skoog + 1 mg/L⁻¹ de BAP en sistemas BIT (frascos gemelos) con frecuencias de 8 horas y una inmersión de 5 minutos en número y longitud de brotes en etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1.2 Evaluar el efecto de medio líquido Murashige y Skoog + 1 mg/L⁻¹ de BAP en sistemas BIT (frascos gemelos) con frecuencias de 12 horas y una inmersión de 5 minutos en número y longitud de brotes en etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1.3 Evaluar el efecto de medio líquido Murashige y Skoog + 1 mg/L⁻¹ de BAP en sistemas BIT (frascos gemelos) con frecuencias de 24 horas y una inmersión de 5 minutos en número y longitud de brotes en etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1.4 Evaluar el efecto de medio líquido Murashige y Skoog + 1 mg/L⁻¹ de BAP en sistemas BIT (frascos gemelos) con frecuencias de 48 horas y una inmersión de 5 minutos en número y longitud de brotes en etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

1.3.1.5 Evaluar el efecto de medio líquido Murashige y Skoog+ 1 mg/L⁻¹ de BAP, en sistemas BIT (frascos gemelos) con frecuencias de 72 horas y una inmersión de 5 minutos en número y longitud de brotes en etapa de multiplicación durante la micropropagación de pitaya (*Stenocereus thurberi*).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de la pitaya

La “pitaya dulce” como se le llama comúnmente, es una cactácea perteneciente al género *Stenocereus*, la cual es endémica de México y Estados Unidos, requiere de climas áridos y semiáridos, se distribuye en los estados de Sinaloa, Baja California, Sonora y Arizona (Bravo-Hollis, 1978). Esta cactácea adquiere interés ya que sus frutos son considerados exóticos y son aptos para el consumo humano, de igual forma contienen gran cantidad de betalainas, compuestos que les confieren los colores vistosos de la pulpa, tienen propiedades antioxidantes y antimicrobianas, además, estimulan el sistema inmunológico que puede reducir padecimientos cardiovasculares y desórdenes degenerativos (Song *et al.*, 2016). Por otro lado, sus tallos son usados para formar cercas naturales, forraje para el ganado y con fines ornamentales (Casas, 2002).

2.1.1 Botánica

La especie *Stenocereus thurberi* fue descrita por George Engelm en el año de 1854, fue publicada hasta después de su muerte junto con especies como *Cereus giganteus*, *Cereus schottii* en el año de 1905 en los estudios de Berger (Gibson *et al.*, 1986).

2.1.1.1 Taxonomía

Reino: *Plantae*

Subreino: *Tracheophyta*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Caryophyllidae*

Orden: *Caryophyllales*

Familia: *Cactaceae*

Subfamilia: *Cactoideae*

Tribu: *Pachycereeae*

Género: *Stenocereus*

Especie: *Thurberi*

2.1.1.2 Morfología de la planta

Las pitayas (*Stenocereus thurberi*) son cactáceas que crecen en el matorral xerófilo y zonas costeras del desierto sonorense, llegan a medir de 3 a 10 metros de altura (Bustamante & Búrquez, 2008), poseen tronco corto (Bustamante *et al.*, 2010), están completamente ramificadas, cada rama o tallo de 20 a 30 cm de diámetro y no es común que éstos se vuelvan ramificar. Los cactus son de un color verde claro y en la base color café oscuro (Arreola-Nava y Terrazas, 2003); pose entre 12 y 21 costillas redondeadas en sección transversal, aréolas con tricomas glandulares los cuales le confieren su coloración oscura, espinas color negro que con el tiempo tienden a ser de una coloración grisácea. Además, son aciculares que van de los 0.7 a los 1.5 cm de largo; florece una vez al año durante abril-mayo y los frutos se cosechan entre mayo y junio. Las flores son subapicales o laterales, abren durante la noche, tienen forma que se asemeja al de un embudo, miden de 5.5 a 8.6 cm de largo y diámetro de 3.2 a 4.8 cm en el extremo (Arreola-Nava y Terrazas, 2003), son de color café rojizo al inicio para después tornarse a una tonalidad agrisada, producen grandes cantidades de néctar y polen, permanecen abiertas hasta por 18 horas, son flores quiropterófilas, es decir están adaptadas para atraer polinizadores como murciélagos los cuales actúan de noche, algunos insectos o aves durante la mañana (Salomón-Montijo *et al.*, 2016; Fleming *et al.*, 1996). Respecto al sistema radicular, las cactáceas no poseen uno complejo y extenso ya que cuentan con la posibilidad de acumular bastante cantidad de agua en su parte aérea (De la Barrera, 1997).



Figura 1. Planta de *Stenocereus thurberi* durante la temporada de cosecha en Sonora
Obtenido de: (CIAD, 2016).



Figura 2. Flores de *Stenocereus thurberi* abiertas durante la noche
Obtenido de: Cactáceas y suculentas mexicanas (2005).

Presenta semillas de forma ovalada de color negro brillante que van de los 2.2 a los 2.4 mm de longitud y de 1.5 a 1.7 mm de ancho; las cuales presentan una viviparidad menor del 10 %, aproximadamente 1500 semillas por fruto germinan sin agujerar el pericarpio (Arreola-Nava y Terrazas, 2003), este porcentaje de semillas carece de latencia, lo que hace posible la dispersión de semillas y la formación de nuevas poblaciones (Elmqvist y Cox, 1996).



Figura 3. Semillas de *Stenocereus thurberi*.

El fruto es de color verde y se torna a rojizo en la madurez, su forma va de redonda a ovalada, mide entre 3.5 y 6 cm de diámetro y pesa entre 50 a 60 gramos (Flores, 2003). Contiene espinas setosas en todo su exterior, las cuales se deprenden al pasar a un estado de mayor madurez, dejando a la pulpa y semillas expuestas (Arreola-Nava y Terrazas, 2003).



Figura 4. Fruto de *Stenocereus thurberi*

2.1.1.3 Requerimientos edafoclimáticos

Las condiciones climáticas y las estructuras del suelo son determinantes para el desarrollo y el crecimiento de las especies, la distribución de especies vegetales como las del género *Stenocereus* se ven delimitadas por las características que presente en el hábitat (Zañudo, 1998).

2.1.1.3.1 Clima

El clima en el que se desarrollan puede ser semiárido, árido, semicálido y cálido-subhúmedo encaminado a climas tropicales y templados, con una temperatura media de 15.8 y 29.1 °C, pero pueden soportar temperaturas por arriba de los 40 °C que se presentan en el desierto de Sonora y ser más susceptibles a temperaturas bajas que propicien heladas (Bárcenas y Jiménez, 2010). La altitud varía entre 400 y 2130 metros sobre el nivel del mar. Puede soportar períodos de sequía extremos de 6 a 8 meses con 450 y 650 mm de precipitación pluvial, así como en regiones del estado de Sonora donde las precipitaciones son limitadas llegando hasta 94 mm anuales y periodos secos de hasta 1 año (García, 2021).

2.1.1.3.2 Suelo

Las pitayas del género *Stenocereus* se pueden desarrollar en suelos con fuertes pendientes, expuestos a constante erosión eólica e hídrica, estos suelos suelen ser de tipo cambisol, regosol, feozem, luvisol, litosol, y rendzina (Flores, 2002).

2.1.1.4 Formas de propagación

La pitaya se propaga de forma asexual por medio de esqueje y brazos o sexual por medio de semillas, siendo la primera la más usada debido al rápido crecimiento, además de que la reproducción por semillas se ve afectada por factores como la acción de los polinizadores que reducen su viabilidad y factores abióticos como la temperatura y humedad (Valiente-Banuet, 2002),

2.1.1.4.1 Propagación por semilla

De manera natural es la forma en que se reproduce este tipo de cactácea, en la cual al ser de manera sexual da lugar a la variabilidad genética, la generación de nuevos individuos por semilla se ve afectada por la baja viabilidad de las semillas. Nolasco *et al.*, (1997) han demostrado que los porcentajes de germinación en condiciones de baja humedad y alta exposición de irradiación solar (que son las condiciones en las que deben de desarrollarse naturalmente) pueden disminuir hasta en un 66 % la germinación en los días que comienzan a brotar (Casillas-Álvarez *et al.*, 2018).

2.1.1.4.2 Propagación por esquejes

La propagación por medio de esquejes es la más utilizada a la hora de establecer cultivos, ya que presenta un tiempo de crecimiento más rápido comparado con la propagación por medio de semilla, con esta práctica los individuos que se generan contienen la misma constitución genética que su progenitor (García, 2021). La selección de los esquejes consiste en cortar una porción del tallo, se toma de una rama para eliminar la dominancia apical y así tener una producción más precoz (López-Gómez *et al.*, 2000). El tamaño del esqueje suele ser de 0.5 y 1 metros de longitud y cicatriza entre 15 y 30 días, este procedimiento de selección se realiza de manera visual, es decir mediante las características físicas que la planta y el tallo presenten (Sánchez-Cortés *et al.*, 2018).

2.1.1.4.3 Propagación por brazo (rama)

La propagación de cactáceas columnares se puede realizar por medio de brazos con la parte apical de 0.8 a 1.1 metros de longitud y cicatrizar de 15-45 días. El propágulo se planta dejando una ligera inclinación (20°-30°) para estimular el crecimiento de brotes (Luna y Aguirre, 2001).



Figura 5. Propagación de *Stenocereus thurberi* mediante brazos (ápices)
Obtenido de: Planet Desert

2.1.1.5 Distribución

La pitaya (*Stenocereus thurberi*) se distribuye en los estados de Sinaloa, Baja California, Sonora y Chihuahua en México, y siendo Arizona el único estado donde hay presencia en los Estados Unidos (Arreola-Nava y Terrazas, 2003).

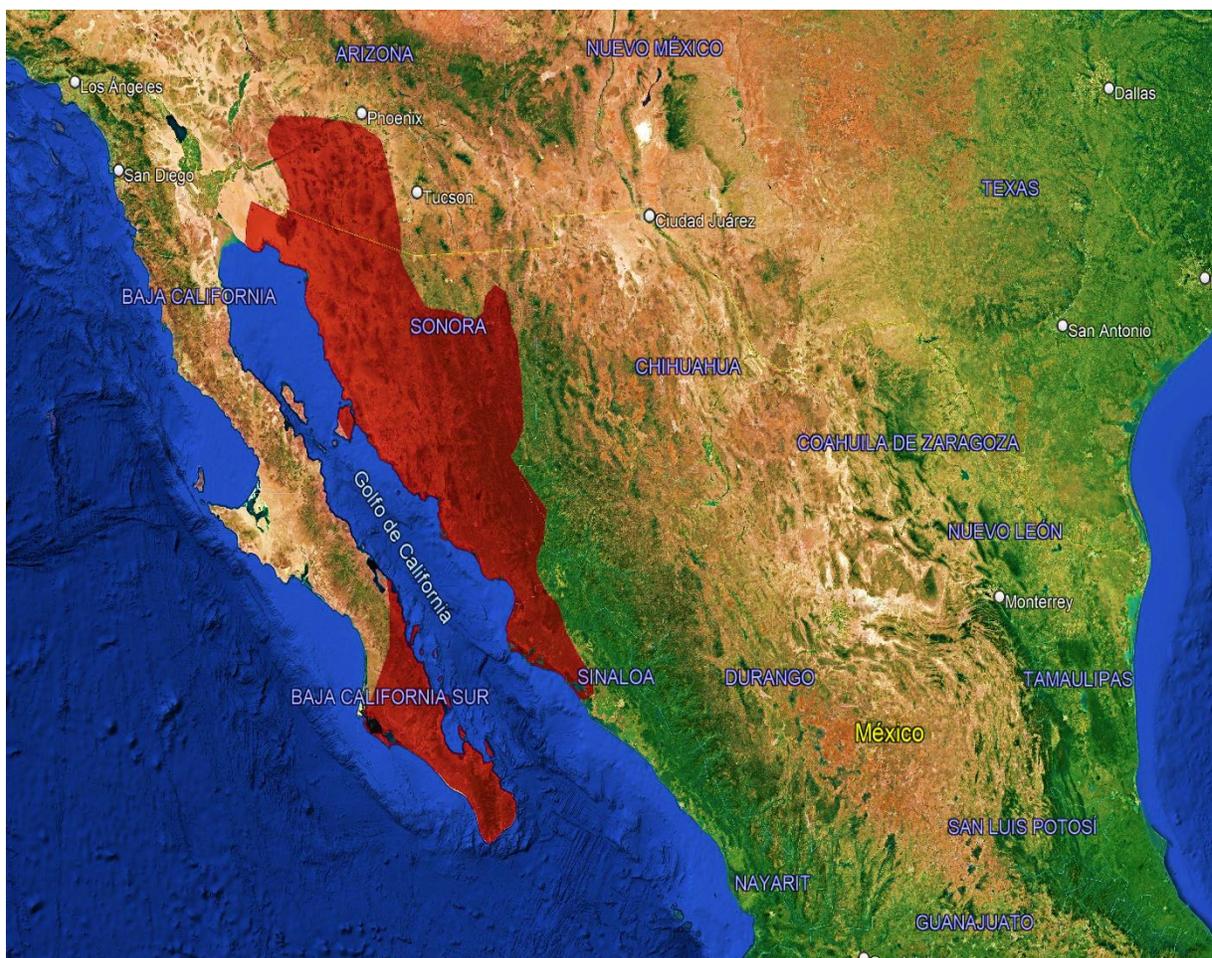


Figura 6. Distribución geográfica de *Stenocereus thurberi*

basado en: (Burquez y Felger, 2017)

2.2 Usos y aplicaciones de la pitaya

La pitaya tiene varios usos y aplicaciones en la industria alimentaria, ya que se elaboran helados, bebidas alcohólicas, jaleas, paletas, mermeladas, nieve, yogur, ate, jugos, entre otros (Santacruz *et al.*, 2009). Se ha reportado el uso de extractos en biopelículas con efecto antimicrobiano en almacenamiento de pescado (Castro-Enríquez *et al.*, 2023), así como también el uso de sus componentes como betalaínas para la sustitución de los colorantes artificiales (Vargas-Campos *et al.*, 2018), lo cual aumenta el contenido nutricional de los alimentos gracias a las capacidades antioxidantes y antimicrobianas que poseen estos compuestos (Song *et al.*, 2016). También, tiene aplicación en la industria farmacéutica y es utilizada como formadores de cercas naturales (Flores, 2002).

2.3 Importancia de la pitaya

La importancia de las cactáceas se remonta desde tiempos prehispánicos, los grupos étnicos como los “Seris” y “Sand Pápagos” las han utilizado como una fuente de alimento, construcción de viviendas, con fines medicinales y en rituales culturales (Arriaga *et al.*, 2015; Pérez, 2013)

2.3.1 Importancia económica

La fruta de pitaya adquiere gran importancia económica ya que su comercialización de temporada es ampliamente reconocida y esperada por los habitantes regionales debido a que representa un incremento en el flujo de ingresos, la mayoría el consumo es local (Flores, 2002).

2.3.2 Importancia ecológica

Stenocereus thurberi tiene gran importancia ecológica pues es fuente de alimento para los murciélagos nectarívoros, ya que influye en su distribución e inclusive en los periodos de migración (Valiente-Banued *et al.*, 1996), así como abejas y demás insectos que son atraídos por el aroma y el polen de su florescencia. Además, algunos animales usan sus tallos para anidar en ellos, e incluso se protegen de los rayos del sol usando la sombra que producen o refugiarse de los depredadores entre las partes muertas de este tipo de cactáceas (JUYAANIA, 2018).

2.4 Amenazas

Las poblaciones de pitayas se ven amenazadas ante la creciente deforestación de todo tipo de ecosistemas, siendo el noroeste, noreste y sureste en donde se encuentra la mayor parte de deforestación alrededor del 75 % (Céspedes *et al.*, 2010), la producción forestal de productos no maderables provenientes generalmente de zonas áridas y semiáridas ha aumentado de 62 a 99 mil toneladas según datos obtenidos del Programa Nacional Forestal 2020-2024 (Diario Oficial de la Federación, 2020), pues la explotación de especies como orégano y lechuguilla trae consigo pérdidas de poblaciones de pitaya debido a las actividades que se derivan del aprovechamiento de estas especies, además de la degradación y erosión de los suelos, la destrucción de sus hábitats para uso ganadero y agrícola (Pérez-Molphe-Balch *et al.*, 2002).

2.5 Cultivo de tejidos vegetales

El cultivo de tejidos es definido como el conjunto de técnicas que tienen en común el cultivo de un explante vegetal, es decir ya sean protoplastos, células, tejidos, así como también órganos, bajo condiciones asépticas controladas (Levitus *et al.*, 2010). Esta área de la biotecnología se remonta a finales del siglo XIX cuando Gottlieb Hamberlandt obtuvo tejidos y células de plantas superiores y las dispuso en medios de cultivo; no obtuvo resultados positivos ya que utilizó células parenquimáticas, las cuales están muy diferenciadas. Hoy en día es considerado como el padre de la técnica de micropropagación en el área de la biotecnología vegetal, sin embargo, fue hasta la década de 1930 que White y Gautheret lograron con éxito el cultivo de células vegetales *in vitro* (Sharry *et al.*, 2015).

2.5.1 Etapas del cultivo de tejidos

Para obtener una planta completa a través del cultivo *in vitro* se debe pasar por ciertas etapas o pasos, de los cuales dependerá el éxito del cultivo, es por eso que se consideran las siguientes etapas: Acondicionamiento de la planta madre, desinfección superficial del explante, establecimiento/introducción del material a condiciones estériles, multiplicación, medio de enraizamiento y aclimatación (Castillo, 2004; Segretín, 2006) **Figura 7**.

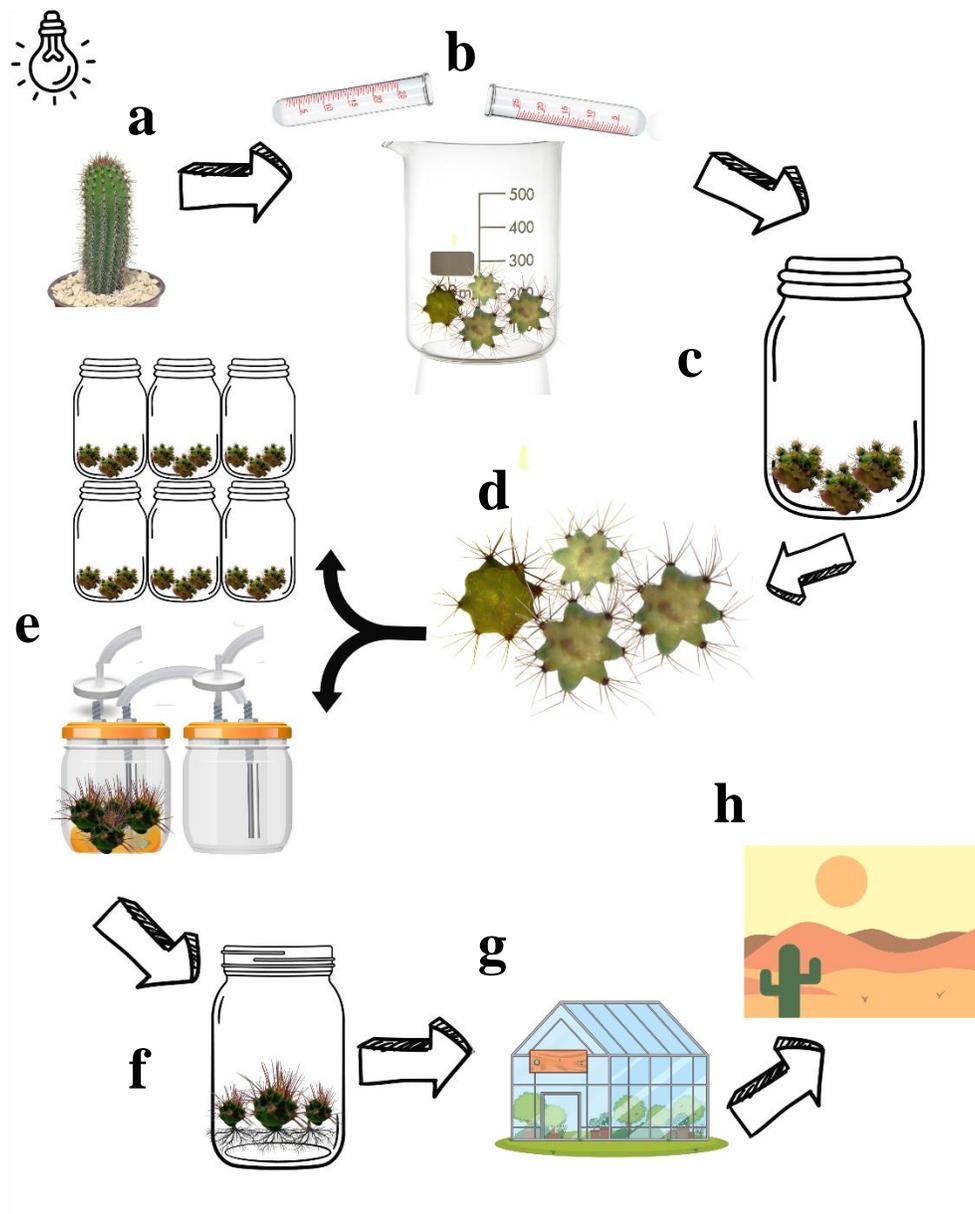


Figura 7. Etapas del cultivo de tejidos vegetales.

*a) Acondicionamiento de la planta madre; b) Desinfección; c) Establecimiento; d) y e) Multiplicación; f) Enraizamiento; g) y h) Aclimatación

2.5.1.1 Acondicionamiento de la planta madre

Es necesario preparar la planta de la cual se tomará la parte vegetal para su establecimiento en el cultivo de tejidos vegetales (Castillo, 2004). Mediante el suministro de los nutrientes necesarios para obtener explantes de mayor calidad y la aplicación de sustancias que eliminen enfermedades y microorganismos (Levitus *et al.*, 2010).

2.5.1.2 Desinfección del material vegetal

La desinfección del material vegetal es un punto clave para evitar pérdidas de explantes por contaminación, entre las sustancias que se utilizan se encuentran el etanol (C₂H₆O), el hipoclorito de calcio (CaClO), bicloruro de mercurio (HgCl₂), el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el hipoclorito de sodio (NaClO), siendo este último el más utilizado gracias a su efectividad, de fácil acceso y lo económico que resulta (Borges *et al.*, 2009).

2.5.1.3 Establecimiento del material vegetal en condiciones asépticas (*in vitro*)

Esta etapa consiste en introducir el material vegetal al medio de cultivo previamente esterilizado, en condiciones asépticas en una campana de flujo laminar, en esta etapa se seccionan los explantes con cortes limpios (esto para evitar la deshidratación y pérdidas por oxidación) de acuerdo a las características deseadas (Castillo, 2004).

2.5.1.4 Multiplicación

Los explantes de las etapas anteriores son utilizados en la producción de nuevos brotes en frascos con medio de cultivo (Castillo, 2004) y/o en otro tipo de medio de propagación como los sistemas de inmersión temporal, con la finalidad de obtener un número mayor de plántulas.

2.5.1.5 Enraizamiento

Para el proceso de enraizamiento se requiere un traspaso de los explantes a un medio con una concentración menor de sales, por ejemplo, MS (Murashige y Skoog) a una reducción de 0.5X muestra buenos resultados para la inducción de raíces, así como también la modificación en las concentraciones hormonales (Murashige y Skoog, 1962). Por su parte (Roca y Mroginski, 1991) indican que el aumento de auxinas exógenas es un buen estimulante para la formación de sistemas radiculares.

2.5.1.6 Aclimatación

Este proceso es el más crítico y en el cual se suele perder la mayor cantidad de plantas, debido a los procesos de adaptación a su nuevo entorno, todo esto desencadena una serie de cambios en los procesos fisiológicos, así como también a las nuevas interacciones biológicas principalmente en su entorno edáfico (Montes-Cruz *et al.*, 2016).

2.5.2 Medio de cultivo

La formulación de los diferentes medios de cultivo es crucial para el óptimo desarrollo del explante, el medio de cultivo puede definirse como una solución ya sea líquida o semisólida de formulación conocida que proporcionan al explante lo necesario para su crecimiento (Fernández *et al.*, 2019; Levitus *et al.*, 2010). Hoy en día existen un número bastante amplio de medios de cultivo, los cuales van acorde a la especie, y a los objetivos del cultivo que se desea obtener. Todos los medios concuerdan con una formulación base la cual contiene: una fuente de carbono (por lo regular se usa azúcar comercial), sustancias inorgánicas (macroelementos: Ca, N, K, Mg, P, S y microelementos: Zn, Fe, B, Co, Mn, Mo entre otros), vitaminas (B1, B2, B6, E, H, entre otras), reguladores de crecimiento (auxinas, giberelinas, citoquininas), materiales inertes (agar, agarosa) (Segretín, 2006). Los diferentes componentes y sus concentraciones influyen en el crecimiento de cada cultivo.

2.5.3 Reguladores de crecimiento vegetal y fitohormonas

Los reguladores de crecimiento vegetales son sustancias orgánicas que producen cambios en el crecimiento y desarrollo de las plantas, estas sustancias pueden ser obtenidas de organismos como *Bacillus*, *Rhizobium* y *Pseudomonas* o sintetizarse químicamente, es decir son de origen exógeno para las plantas (Sajjad *et al.*, 2017). Las hormonas vegetales o fitohormonas son definidas según (Thimann, 1948) como una sustancia orgánica de origen vegetal, es decir producida por la misma planta, la cual controla las funciones fisiológicas en sitios alejados de donde se produce y actúa en cantidades mínimas.

Entre las principales fitohormonas encontramos: auxinas, siendo el ácido indol-3-acético (AIA), ácido indol-3-butírico (IBA), ácido fenilacético (PAA), ácido cloroindol-3-acético (Cl-IAA) (Jordán y Casaretto, 2006); citocininas donde encontramos a la zeatina; giberelinas: el ácido

giberélico (AG3); brasinoesteroides (BR) como el brasinólido (Hernández y García-Martínez, 2016); etileno; jasmonatos como el ácido jasmónico; ácido abscísico y en los principales reguladores de crecimiento vegetal encontramos: auxinas como el ácido naftalenacético (ANA) y el ácido 2,4 diclorofenoxiacético, ácido 2-metoxi, 3,6-Diclorobenzoico (dicamba), ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T) ; citocininas como la 6 isopentamil adenina (2iP), 6-bencilamina (6 BA) y la kinetina (KIN); brasinoesteroides (BR); jasmonatos; estrigolactonas como el estrigol (GR24) (Orellana-Maldonado, 2022; Alcántara-Cortés *et al.*, 2019).

2.6 Sistemas de inmersión temporal (SIT)

Los sistemas de inmersión temporal partieron de la implementación del cultivo de tejidos en medio líquido, el contacto de los explantes con el medio era de forma permanente, por lo que se presentaba la hiperhidricidad la cual era una gran desventaja (Jara *et al.*, 2006). La denominación de sistemas de inmersión temporal fue acuñada por el Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo (CIRAD) por sus siglas en francés, en 1997 (Teisson y Alvard, 1997). Los SIT pueden definir como sistemas de cultivo automatizados o semiautomatizados periódicos (con inmersiones de unos minutos cada cierto tiempo) (Muñiz, 2018). El diseño de los SIT surgió con la idea de introducir un flujo de aire hacia uno de los frascos y pasar el medio de cultivo líquido al otro, en donde se encontrarán los explantes, después el medio regresaría por acción de la gravedad al frasco inicial (Rosales *et al.*, 2003). Estos frascos reciben el nombre de biorreactor, el cual se define como un recipiente o sistema, que proporciona las condiciones adecuadas para el crecimiento, desarrollo y/o producción de compuestos de interés que se origine del cultivo (Trujillo-Roldán y Valdez-Cruz, 2009).

El uso de sistemas de inmersión temporal presenta varias ventajas frente a los sistemas de micropropagación convencionales, entre las cuales podemos encontrar el uso de poca mano de obra (Paek *et al.*, 2005), ya que con el uso de propagación convencional se tienen que realizar subcultivo. También reducen problemas de vitrificación, permite una mayor absorción de nutrientes al sumergirse todo el explante y no solo se limita a la absorción por medio de la parte que mantiene contacto como es en el caso de cultivos en medio semisólido. Otra de las ventajas, es que permite el intercambio de gases dentro de los biorreactores ayudando así al endurecimiento de las plantas (Watt, 2012) y por ende una mayor tasa de supervivencia en etapas posteriores.

2.6.1 Sistema BIT (Fracos gemelos)

El sistema BIT fue implementado por (Escalona *et al.*, 1999), su diseño consiste en un contenedor el cual puede ser una botella, frasco, matraz u otro recipiente de boca ancha que actúa como un depósito para medio de cultivo y otro en el que permanece el material vegetal, así mismo estos están unidos por un tubo o manguera por el cual pasa el medio cuando se le introduce aire a uno de los recipientes mediante una bomba o compresor. Cada recipiente debe de estar conectado a una línea de aire a presión y a una válvula liberadora de presión (solenoide), además, de conectarse también a filtros hidrofóbicos de 0.2 micras que impidan el paso de microorganismos que pudieran afectar el cultivo (**Figura 8 A**). Tanto los flujos de aire como la liberación de presión deben de estar controladas por temporizadores para regular e iniciar los periodos de inmersión (Georgiev *et al.* 2014; Watt, 2012; Muñiz, 2018).

Este sistema de inmersión temporal reduce el costo de los recipientes en comparación con el sistema RITA®, debido a la rusticidad de recipientes como frascos de vidrio comerciales, recipientes (galones, botellas) de PET. Otra ventaja de este tipo de sistemas es la durabilidad, ya que pueden estar en funcionamiento durante largos periodos de tiempo sin la necesidad de hacer subcultivos (Jara *et al.*, 2006), también se ha incluido el uso de esponjas (**Figura 8 B**) en los recipientes contenedores del material vegetal con el fin de reducir el movimiento de los explantes durante el periodo de inmersión y mantener porcentajes de humedad de 85-90 % (Georgiev *et al.*, 2014).

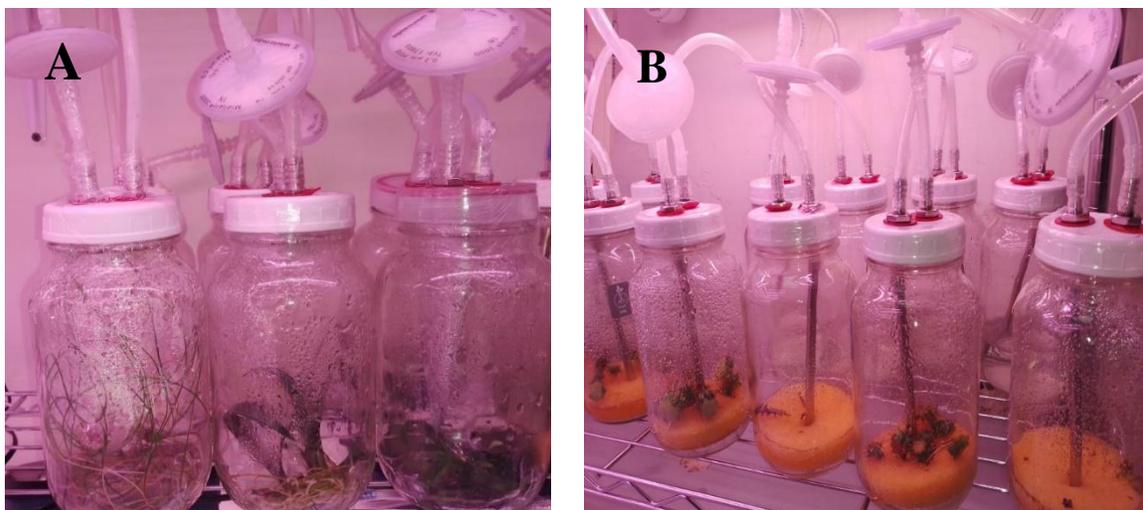


Figura 8. Biorreactores de Inmersión Temporal (BIT).

*A) sistema BIT sin esponjas; B) sistema BIT con esponjas

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material Vegetal

3.1.1 Obtención del material vegetal

El material vegetal se obtuvo por medio de la recolección de semillas en el estado de Sonora en el municipio de Carbó ubicado en el desierto de Sonora a aproximadamente 80 km al norte de Hermosillo.

3.1.2 Selección y preparación de semilla

Se seleccionaron completamente al azar semillas de pitaya (*Stenocereus thurberi*) para su propagación *in vitro* en medio basal Murashige y Skoog (MS 1X), en el Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular del Departamento de Ciencias Básicas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro sede Saltillo. Se utilizaron plantas de seis meses de edad para su posterior propagación.

3.2.1 Desinfección de la semilla

Se utilizó el protocolo previamente reportado para la desinfección de las semillas de pitaya de Mercado-Hernández, (2023) (**Cuadro 1**).

Cuadro 1. Desinfección de semillas

Solución	Tiempo (minutos)
Captan (1 g. L ⁻¹)	10
Alcohol (70 %)	5
Hipoclorito de sodio (25 %)	5

*Gramos por litro (1 g. L⁻¹)

3.3 Establecimiento

3.3.1 Medio de cultivo para establecimiento de semillas

El medio de cultivo utilizado para el establecimiento de semillas fue Murashige y Skoog (MS 1X), se ajustó el pH a 5.7 y se colocaron aproximadamente 20 ml en frascos con capacidad de

150 ml.

Cuadro 2. Medio de cultivo para establecimiento de semillas

Compuesto	Concentración
Murashige y Skoog (CAS 87-89-8)	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	100 µl. L ⁻¹
Agar (CAS 9002-18-0)	7.5 g. L ⁻¹

*Gramos por litro (g. L⁻¹) Microlitros de muestra por litro (µl. L⁻¹)

3.3.2 Esterilización

El proceso de esterilización se llevó a cabo en una autoclave marca Novatech modelo EV-30, durante un periodo de tiempo de 20 minutos a presión de 20 PSI y temperatura de 120 °C e inmediatamente llevados a campana de flujo laminar marca Novatech.



Figura 9. Autoclave utilizada para la esterilización de medios de cultivo.

3.3.3 Siembra de semillas

Se sembraron cuatro semillas por frasco a una profundidad de entre 4 y 7 mm en el medio de cultivo semisólido y se incubaron a una temperatura de 24 ± 2 °C, con un fotoperiodo de 16/8 horas luz-oscuridad.



Figura 10. Semillas sembradas en medio Murashige y Skoog (MS 1X).

3.4 Estrategia Experimental

3.4.1 Tratamientos

La evaluación consistió en cinco tratamientos tomando como variable la frecuencia de inmersión, cada tratamiento se realizó por duplicado en un Sistema de Inmersión Temporal (frascos gemelos), se utilizaron brotes de las semillas con una longitud de entre 5 y 6 cm.



Figura 11. Material vegetal de *Stenocereus thurberi* después de 5 meses de establecimiento.

3.5 Multiplicación en sistema BIT (Frascos gemelos)

Se evaluaron cinco tratamientos: T1 (8 horas), T2 (12 horas), T3 (24 horas), T4 (48 horas), T5 (72 horas) con diferentes frecuencias de inmersión. Se utilizaron plántulas de pitaya realizando 3 cortes transversales para su multiplicación *in vitro* (**Figura 14 a**): Posteriormente, se colocaron nueve explantes en biorreactores con capacidad para 1 Litro de medio (**Figura 14 b**). Finalmente, se incubaron a $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un fotoperiodo de 16/8 horas luz-oscuridad (**Figura 14 c**). El medio para los cinco tratamientos se describe en el **Cuadro 2**.

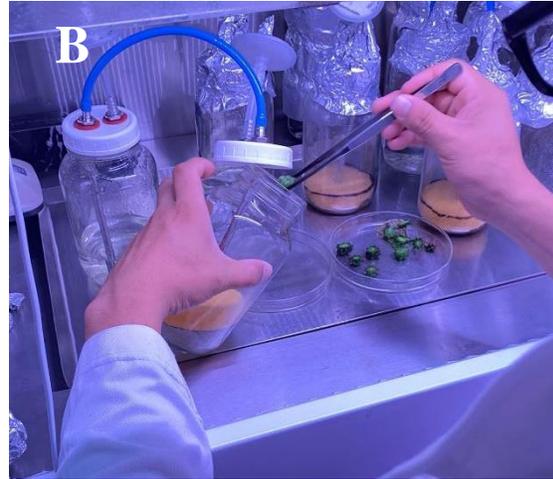


Figura 12. Multiplicación de *Stenocereus thurberi* en sistema BIT (Frascos gemelos)
*a) explantes de pitaya; b) introducción a biorreactores; c) incubación de pitaya en sistema BIT (frascos gemelos).

Cuadro 3. Tratamientos evaluados en sistema de frascos gemelos (BIT)

COMPUESTO	T1	T2	T3	T4	T5
Murashige y Skoog (CAS 4.3 1912-24-9) 1X	4.3 <i>g. L</i> ⁻¹				
Sacarosa (CAS 57-50-1)	30 <i>g. L</i> ⁻¹				
Myo-inositol (CAS 87-89-8)	0.1 <i>g. L</i> ⁻¹				
Plant Preservation Mixture	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%	0.1%
Reguladores de crecimiento	BAP (CAS 121439- 7) 1 <i>mg. L</i> ⁻¹	BAP (CAS 121439- 7) 1 <i>mg. L</i> ⁻¹	BAP (CAS 121439- 7) 1 <i>mg. L</i> ⁻¹	BAP (CAS 121439- 7) 1 <i>mg. L</i> ⁻¹	BAP (CAS 121439- 7) 1 <i>mg. L</i> ⁻¹
Tiempo de inmersión	5 minutos				
Frecuencia de inmersión	8 horas	12 horas	24 horas	48 horas	72 horas

*Miligramos por litro (*mg. L*⁻¹), 6-Benzylaminopurine (BAP), Microlitros por litro ($\mu\text{l. L}^{-1}$)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó respuesta a los 14 días de incubación en los tratamientos T3 y T5 con el surgimiento de raíces en el 30 y 50 % de los explantes respectivamente (Figura 13).

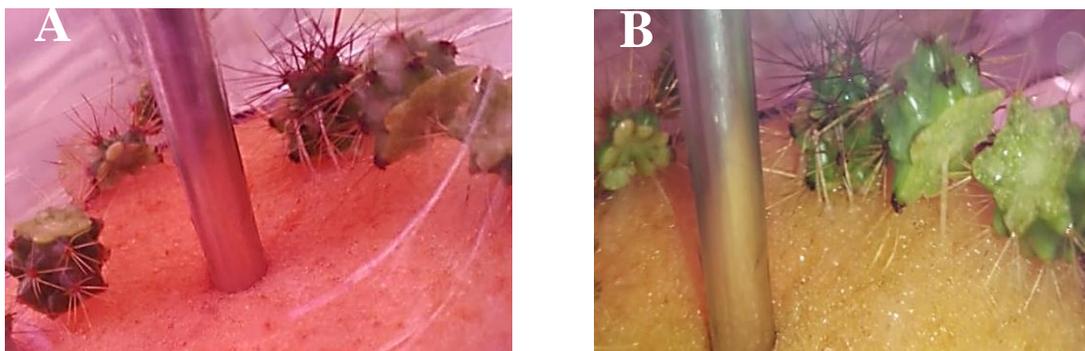


Figura 13. Raíces de pitaya

*A) Raíces en el tratamiento T3; B) Raíces en el tratamiento T5.

Los primeros brotes se presentaron a los 23 días en el 30 % de los explantes en el tratamiento T2 (Figura 14 a) y el 10 % en el T3 (Figura 14 b).

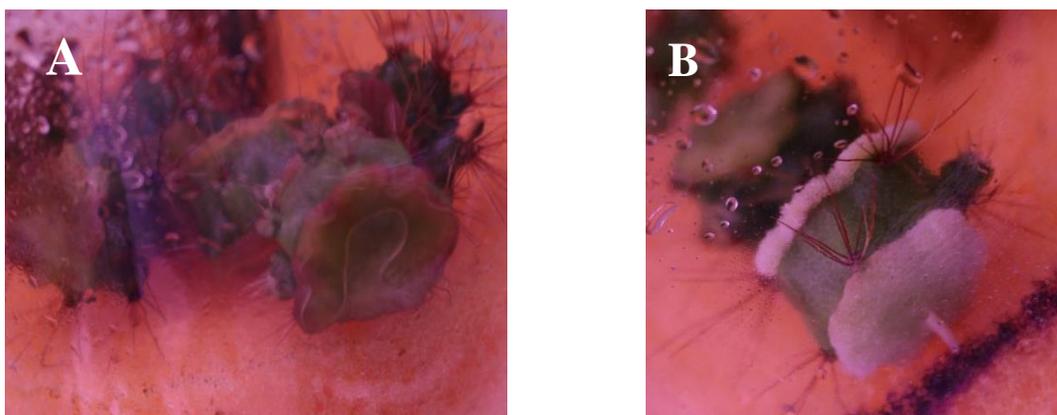


Figura 14. Brotes de pitaya

*A) Brotes en el tratamiento T2; B) Brotes en el tratamiento T3

4.1 Multiplicación Tratamiento 1 (T1)

Le evaluación realizada a los 50 días en los biorreactores a una frecuencia de 8 horas T1, con dos repeticiones, repetición uno “A”, repetición dos “B” y nueve replicas biológicas por cada

una de ellas, de las cuales tres eran brotes apicales y seis cortes laterales. En esta evaluación las réplicas A1, A2, A4, A5, B1, B3-B6 presentaron 3, 1, 2, 2, 1, 2, 2, 1, 2 y 1 brotes respectivamente, con una media promedio de 0.83 brotes por explante (**Cuadro 4**.) De los seis cortes apicales evaluados solo uno presentó la formación de brotes, y todos formaron raíces adventicias, con una media promedio de 0.36 raíces por explante (**Cuadro 4**). Las réplicas B2 y B3 presentaron oscurecimiento debido a la oxidación por compuestos fenólicos, pero no fueron necrosados. En este sentido, Rodríguez-Arteaga *et al.* (2019) reportó hasta 1.2 % de necrosis en explantes de *Stenocereus* spp.

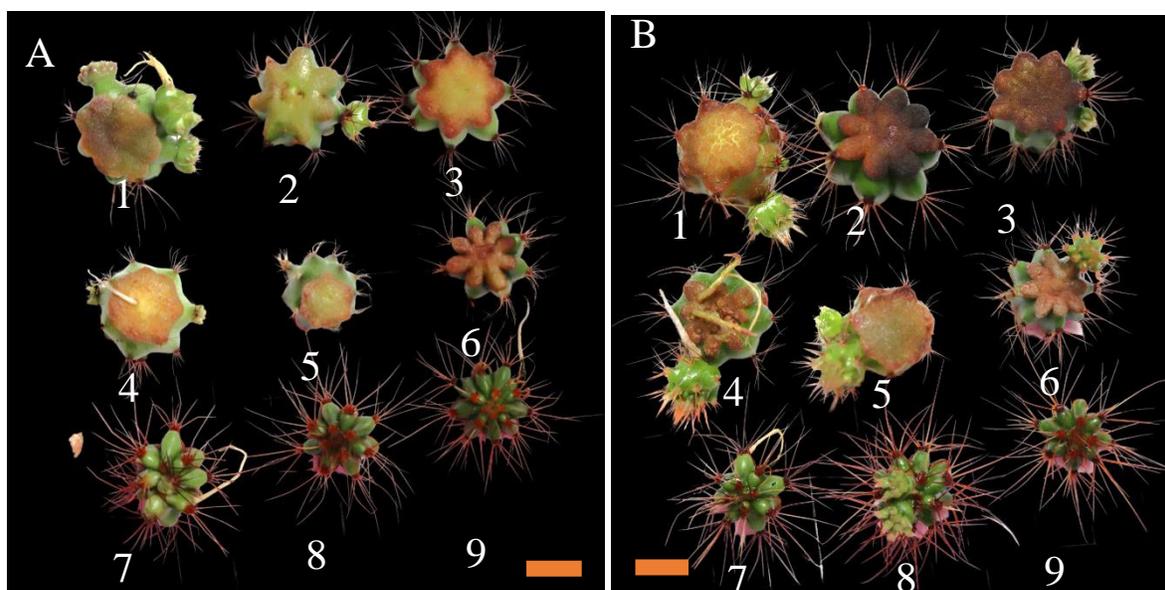


Figura 15. Explantes del tratamiento 1. Barra de escala = 1cm.

*A) repetición uno; B) repetición dos

4.2 Multiplicación tratamiento 2 (T2)

La evaluación del T2 a frecuencias de inmersión cada 12 horas con dos repeticiones “A” y “B” y nueve réplicas por cada repetición fueron seis explantes laterales y tres apicales. El T2 indicó que las réplicas A1, A4-A6, B1-B3, B5, B6 produjeron 3, 2, 6, 1, 1, 5, 3, 7 y 1 brotes respectivamente. Con una media promedio de 1.04 brotes por explante a la evaluación realizada a los 50 días. La media promedio para el número de raíces fue de 0.60 (**Cuadro 4**), en la etapa de multiplicación el número y longitud de raíces no son determinante, ya que son raíces adventicias del explante, por lo que estas se tendrán que separar de los brotes obtenidos

al momento de realizar los subcultivos subsecuentes (Martinez *et al.*, 2011).

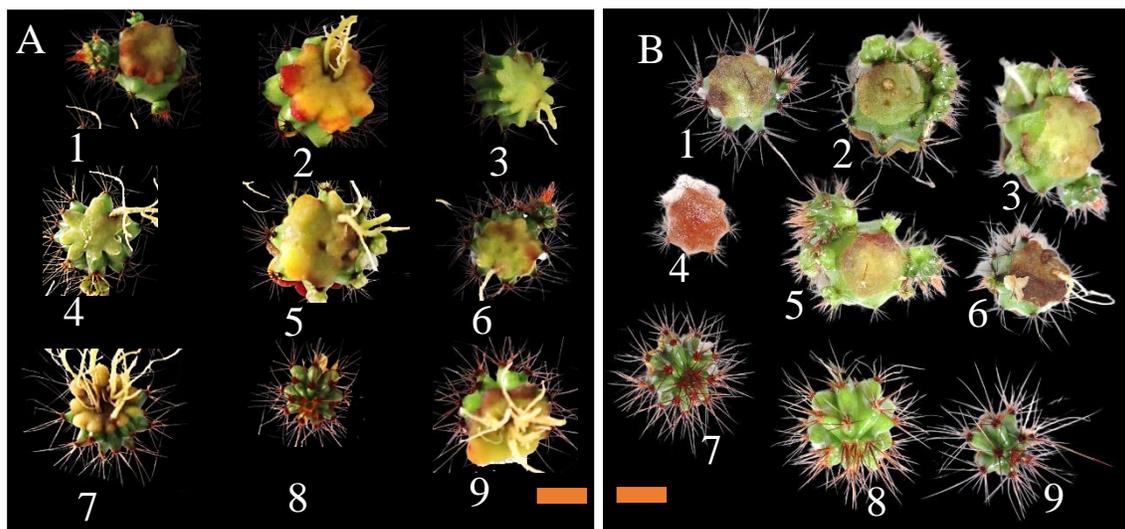


Figura 16. Explantes del tratamiento 2. Barra de escala = 1cm.

*A) repetición uno; B) repetición dos

4.3 Multiplicación tratamiento 3 (T3)

La evaluación del T3 a frecuencias de inmersión cada 24 horas con dos repeticiones “A” y “B” y nueve replicas por cada repetición de los cuales fueron seis explantes laterales y tres apicales mostraron que las réplicas A1, A2, A4, A6, B1-B4, B6 presentaron 1, 2, 3, 2, 2, 3, 2, 2 y 2 brotes respectivamente, con una media promedio de 0.83 brotes por explante (**Cuadro 4**), valor menor al obtenido en T2. La formación de raíces fue en aumento respecto de T1 y T2 con una media promedio de 0.67 (**Cuadro 4**).

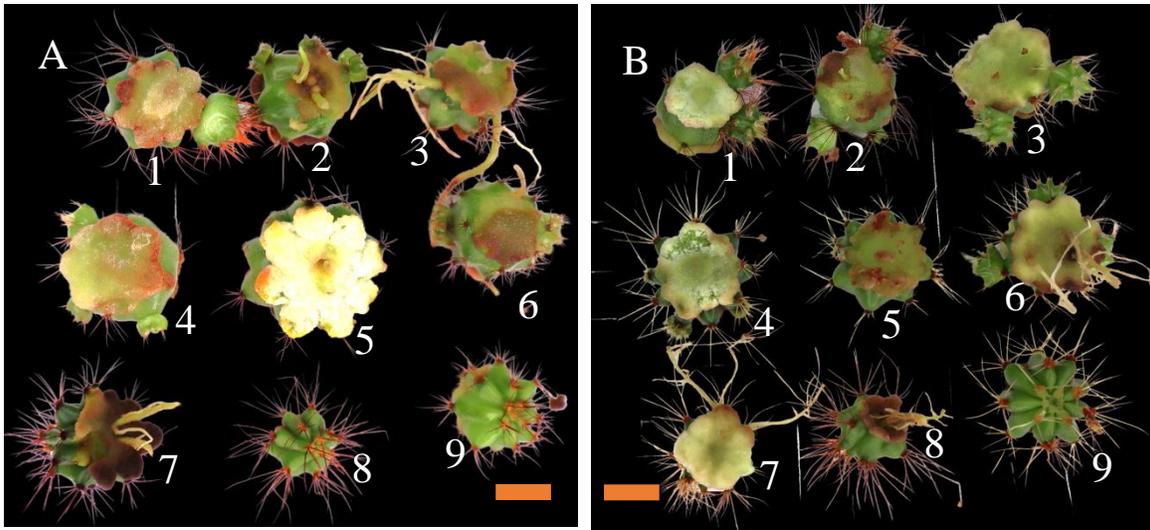


Figura 17. Explantes del tratamiento 3. Barra de escala = 1cm.

*A) repetición uno; B) repetición dos

4.4 Multiplicación tratamiento 4 (T4)

La evaluación de T4 a frecuencias de inmersión cada 48 horas con dos repeticiones “A” y “B” y nueve réplicas por cada repetición, de los cuales fueron seis explantes laterales y tres apicales mostraron que las réplicas A1-A3, A4, A5, B1-B6 presentaron 1, 3, 2, 1, 2, 1, 1, 1, 1 y 1 brotes respectivamente, con una media promedio de 0.78 brotes por explante (**Cuadro 4**), siendo menor que los valores obtenidos en T1, T2 y T3. La media promedio de raíces fue de 0.89 por explante 2.4 veces mayor que el valor obtenido en T1 (tratamiento con menor número de raíces), lo que sugiere que a menor frecuencias de inmersión se estimula el número y longitud de raíces.

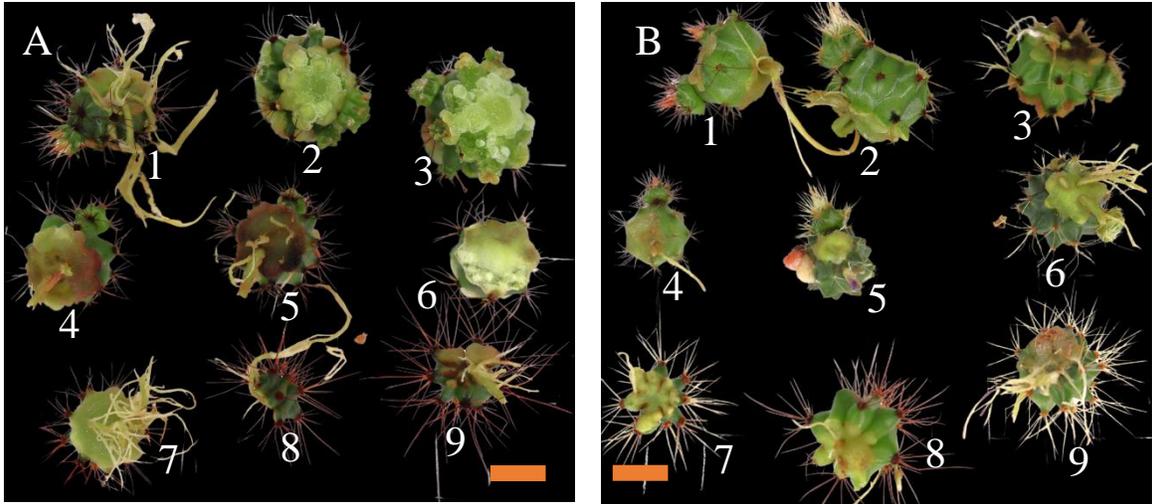


Figura 18. Explantes del tratamiento 4. Barra de escala = 1cm.

*A) repetición uno; B) repetición dos

4.5 Multiplicación tratamiento 5 (T5)

La evaluación de T5 a frecuencias de inmersión cada 72 horas con dos repeticiones “A” y “B” y nueve réplicas por cada repetición, de los cuales fueron seis explantes laterales y tres apicales mostró que las réplicas A1, A5, A6, B1-B3 y B6 tuvieron el crecimiento de 1, 2, 3, 1, 1 y 1 brotes, con una media promedio de 0.48 brotes por explante, siendo el valor más bajo comparado con los demás tratamiento (T1, T2, T3 ,T4), pero con la mayor generación de raíces (1.22) y 1.06 cm de longitud, respectivamente. Estos valores son superiores a los reportados por Rodríguez-Arteaga *et al.* (2019) donde obtuvieron valores medios de 0.4 cm de raíces de *Setenocereus spp.* en medio semisólido.

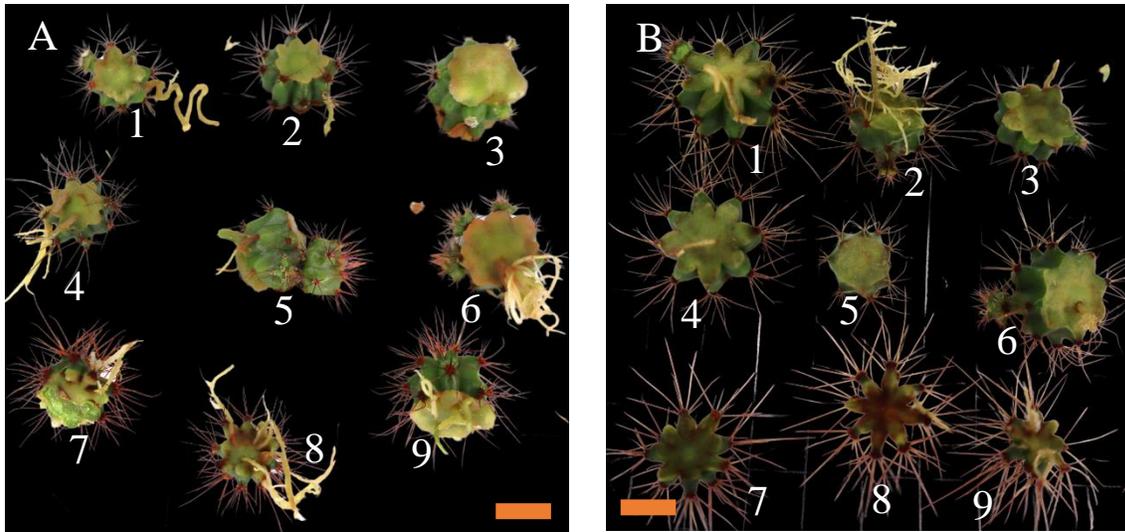


Figura 19. Explantes del tratamiento 5. Barra de escala = 1cm.

*A) repetición uno; B) repetición dos.

4.6 Análisis estadísticos

Cuadro 4. Comparación de medias Tukey de la evaluación de los tratamientos para la multiplicación en sistemas de inmersión temporal BIT frascos gemelos.

TRAT	NB	LB	AB	NR	LR
1	0.83 ab	0.27 ab	0.34 ab	0.36 a	0.46 a
2	1.04 b	0.23 ab	0.31 ab	0.60 a	0.50 a
3	0.83 ab	0.27 ab	0.39 ab	0.67 a	0.64 a
4	0.78 ab	0.29 b	0.40 b	0.89 a	1.03 a
5	0.48 a	0.14 a	0.19 a	1.22 a	1.06 a

* Valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey, $\alpha = 0.05$), número de brotes NB, longitud de brotes LB, ancho de brotes AB, número de raíces NR y longitud de raíz LR.

Cuadro 5. Correlaciones absolutas de las variables evaluadas.

VARIABLE	NB	LB	AB	NR	LR
NB	1.000000	0.731801	0.537161	0.612004	0.618921
LB	0.731801	1.000000	0.907813	0.484605	0.470634
AB	0.537161	0.907813	1.000000	0.285716	0.352368
NR	0.612004	0.484605	0.285716	1.000000	0.908839
LR	0.618921	0.470634	0.352368	0.908839	1.000000

*Valores cercanos a 1 denotan correlación entre variables, número de brotes NB, longitud de brotes LB, ancho de brotes AB número de raíces NR y longitud de raíz LR.

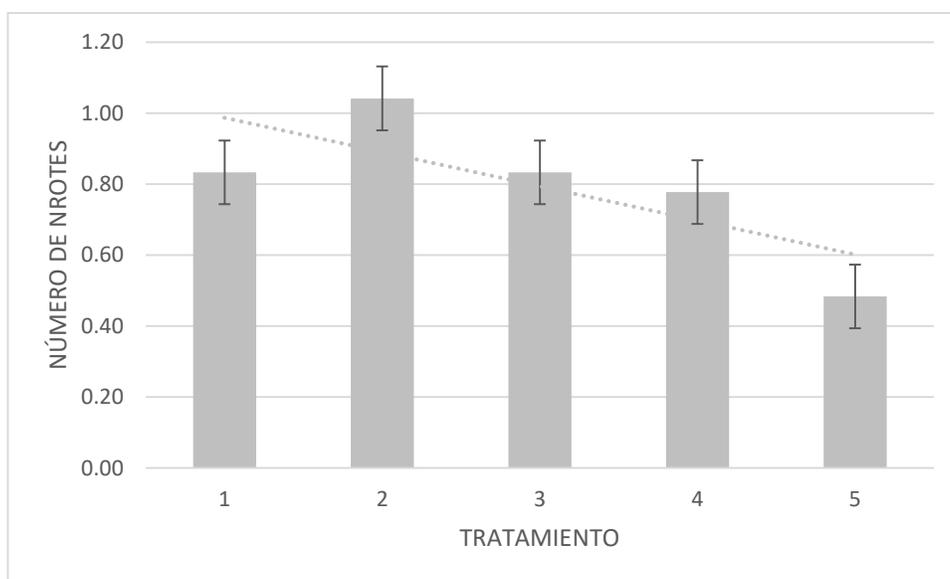


Figura 20. Número de brotes por tratamiento.

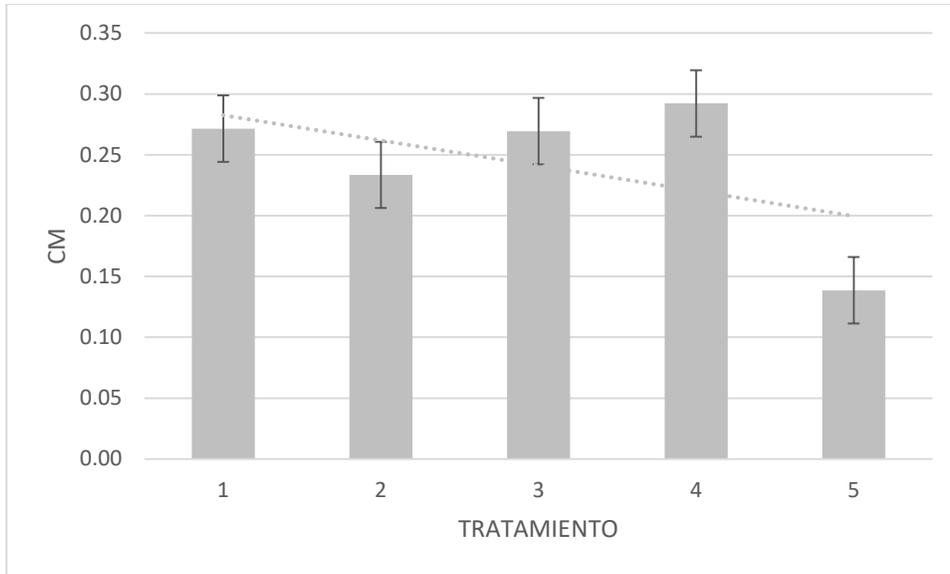


Figura 21. Longitud de brotes por tratamiento.

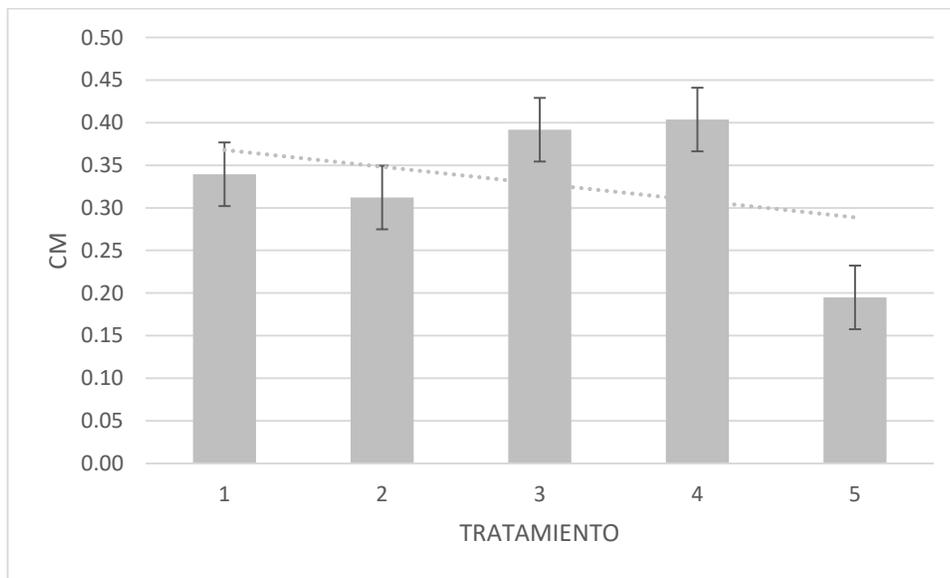


Figura 22. Ancho de brotes por tratamiento.

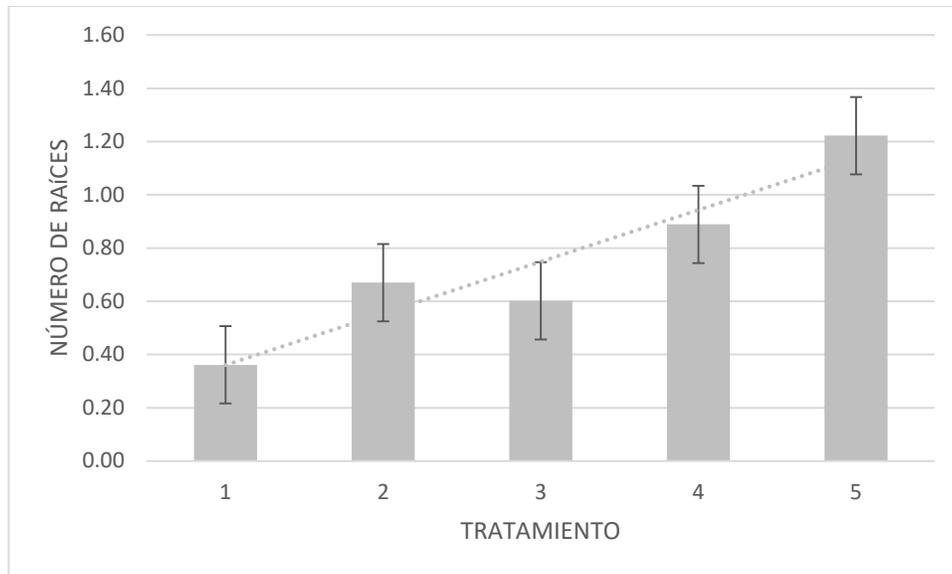


Figura 23. Número de raíces por tratamiento.

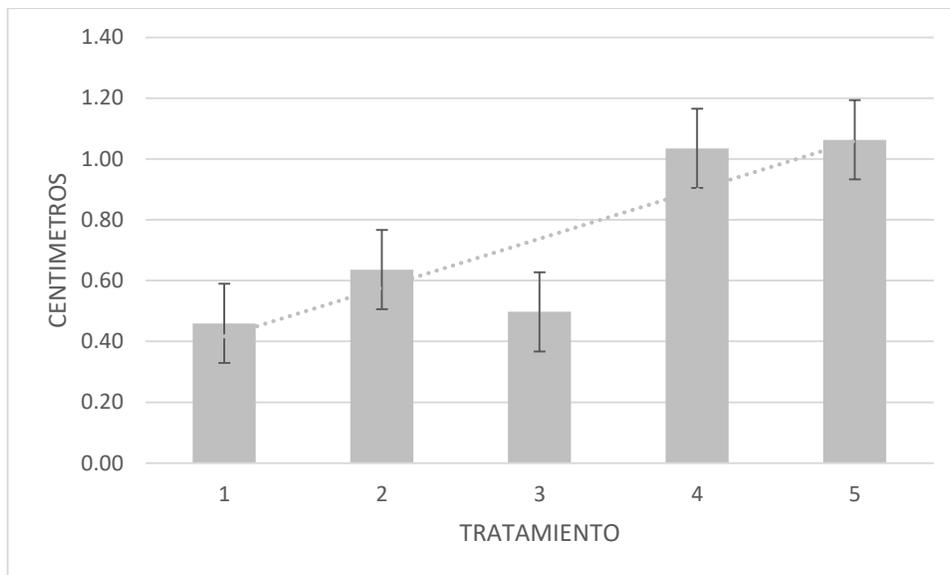


Figura 24. Longitud de raíces por tratamiento

V. CONCLUSIONES

Las frecuencias de inmersión cortas indujeron el desarrollo y formación de brotes apicales en el cultivo de explantes de *Stenocereus thurberi* en sistemas de inmersión temporal BIT siendo el tratamiento 2 (12 horas durante cinco minutos) el que obtuvo el mayor número de brotes.

Este trabajo establece las bases para la producción de pitaya en Sistemas de Inmersión Temporal, sin embargo, se sugiere la evaluación de distintos cortes en biorreactores, así como, la evaluación en brotes con periodos más largos.

VI. LITERATURA CITADA

- Arreola-Nava, H. J., & Terrazas, T. (2003). *ESPECIES DE STENOCEREUS CON ARÉOLAS MORENAS: CLAVE Y DESCRIPCIONES* (Vol. 64).
- Arriaga Ruiz, M. C., Pimienta Barrios, E., Neri Luna, C., Avendaño López, A., Sánchez Martínez, J., Javier Arellano Rodríguez, L., Miguel Padilla García, J., Acero Ortega, J., Jiménez Plascencia, C., López Ruiz, D., & Rodríguez Guzmán, E. (2015). *LA PITAYA SILVESTRE (Stenocereus queretaroensis) UNA ALTERNATIVA ALIMENTICIA, NUTRICIONAL, Y SOCIOECONOMICA*.
- Bravo-Hollis, H. (1978). *Las Cactáceas de México* (Vol. 2).
- Burquez Montijo, A., & Felger, R. . (2017). THE IUCN RED LIST OF THREATENED SPECIES™. *The IUCN Red List of Threatened Species*. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017>
- Casas, A. (2002). Uso y manejo de cactáceas columnares mesoamericanas. *ResearchGate*.
- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*.
- Castro-Enríquez, D., Miranda, J. M., Trigo, M., Rodríguez-Félix, F., Aubourg, S. P., & Barros-Velázquez, J. (2023). Antioxidant and Antimicrobial Effect of Biodegradable Films Containing Pitaya (*Stenocereus thurberi*) Extracts during the Refrigerated Storage of Fish. *Antioxidants*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/antiox12030544>
- Flores Valdez, C. A. (2003). *Pitayas y pitahayas Producción, postcosecha, industrialización y comercialización* (Universidad Autónoma Chapingo (ed.); 1st ed.).
- Hinojosa-Gómez, J., & Muy-Rangel, M. D. (2023). Caracterización fisicoquímica y compuestos bioactivos en los frutos de pitaya (*Stenocereus thurberi*) de cuatro colores. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 26. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.561>
- Muñiz, R. (2018). La propagación in vitro de plantas con Sistemas de Inmersión Temporal. Una Tecnología Apropriada para la agricultura sustentable. In *Rev. Tekhné* (Vol. 21).
- Orellana-Maldonado, F. J. (2022). *La aplicación de reguladores de crecimiento vegetal son claves para aumentar la productividad agrícola*. Universidad de Jaén .
- Quiroz-González, B., García-Mateos, R., Joel Corrales-García, J. E., & Teresa Colinas-León, M. (2018). Pitaya (*Stenocereus* spp.): an under-utilized fruit. In *JPACD* (Vol. 20).

- Roca, W. M., & Mroginski, L. A. (1991). *Cultivo de tejidos en la agricultura : fundamentos y aplicaciones*. CIAT, Centro Internacional de Agricultura Tropical.
- Salomón-Montijo, B., Reyes-Olivas, Á., & Sánchez-Soto, B. H. (2016). Fenología reproductiva de *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) en una región de transición del norte de Sinaloa, México. *ScIELO*.
- Sánchez-Cortés, H., Bustamante-González, B., Vargas-López, S., Pérez-Ramírez, N., & Morales-Jiménez, J. (2018). EL CULTIVO DE LA PITAYA DE AGOSTO (*Stenocereus stellatus* Pfeiffer) EN LA MONTAÑA DE GUERRERO. *Agro Productividad*, 11(10). <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i10.1267>
- Segretín, M. E. (2006). *Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales)*. http://www.sp.edu.sg/schools/cls/bioline_08.htm
- Sharry, S., Adema, M., & Abedini, W. (2015). *Plantas de probeta* (Editorial de la Universidad de la Plata (ed.)).
- Valiente-Banuet, A. (2002). Vulnerabilidad de los sistemas de polinización de especies de cactáceas columnares de México. *Revista Chilena de Historia Natural*.
- Wainwright Baquedano, K. N. (2022). *Encapsulación del extracto etanólico de cáscara de pitaya (*Hylocereus costaricensis*) utilizando maltodextrina como agente encapsulante* [Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano]. <https://bdigital.zamorano.edu/items/06ce7ccd-e0ea-42e4-91c4-46aa06eff268>
- Bustamante, E., & Búrquez, A. (2008). Effects of Plant Size and Weather on the Flowering Phenology of the Organ Pipe Cactus (*Stenocereus thurberi*). *Annals of Botany*, 102(6), 1019–1030. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn194>
- 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. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000071>
- Casas, A., Pickersgill, B., Caballero, J., & Valiente-Banuet, A. (1997). Ethnobotany and domestication in Xoconochtli, *Stenocereus stellatus* (Cactaceae), in the Tehuacán Valley and La Mixteca Baja, México. *Economic Botany*, 51(3), 279–292. <https://doi.org/10.1007/BF02862097>
- Casillas Álvarez, P., Reyes Olivas, A., Sánchez-Soto, B. H., García Moya, E., Lugo-García, G. A., & Soto-Hernández, R. M. (2018). Germinación diferencial asociada con viviparidad facultativa en *Stenocereus thurberi* (Cactaceae): correlaciones climáticas en poblaciones marginales de Sinaloa, México. *Acta Botanica Mexicana*, 123, 51–66. <https://doi.org/10.21829/abm123.2018.1250>

- Céspedes Flores, S. E., & Moreno Sánchez, E. (2010). Estimación del valor de la pérdida de recurso forestal y su relación con la reforestación en las entidades federativas de México. *Investigación Ambiental. Ciencia y Política Pública*, 2(2), 5–13. <https://biblat.unam.mx/es/revista/investigacion-ambiental-ciencia-y-politica-publica/articulo/estimacion-del-valor-de-la-perdida-de-recurso-forestal-y-su-relacion-con-la-reforestacion-en-las-entidades-federativas-de-mexico>
- CIAD. (n.d.). *LA PITAHAYA, RIQUEZA NATURAL DE SONORA*. <https://www.ciad.mx/La-Pitahaya-Riqueza-Natural-de-Sonora/>. Retrieved November 13, 2023, from <https://www.ciad.mx/la-pitahaya-riqueza-natural-de-sonora/>
- Diario Oficial de la Federación. (2020, December 31). *Programa Nacional Forestal 2020-2024*. https://www.dof.gob.mx/Nota_detalle.php?Codigo=5609275&fecha=31/12/2020#gsc.Tab=0. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5609275&fecha=31/12/2020#gsc.tab=0
- Elmqvist, T., & Cox, P. A. (1996). The Evolution of Vivipary in Flowering Plants. *Oikos*, 77(1), 3. <https://doi.org/10.2307/3545579>
- Escalona, M., Lorenzo, J. C., Gonzalez, B., Daquinta, M., Gonzalez, J. L., Desjardins, Y., & Borroto, C. G. (1999). Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant Cell Reports*, 18(9), 743–748. <https://doi.org/10.1007/s002990050653>
- Fleming, T. H., Tuttle, M. D., & Horner, M. A. (1996). Pollination Biology and the Relative Importance of Nocturnal and Diurnal Pollinators in Three Species of Sonoran Desert Columnar Cacti. *The Southwestern Naturalist*, 41(3), 257–269. <http://www.jstor.org/stable/30055122>
- García Cruz, L. (2021). *Conservación postcosecha y aprovechamiento de compuestos bioactivos de frutos de pitaya (Stenocereus sp.)*. Universidad Autónoma Chapingo.
- Georgiev, V., Schumann, A., Pavlov, A., & Bley, T. (2014). Temporary immersion systems in plant biotechnology. *Engineering in Life Sciences*, 14(6), 607–621. <https://doi.org/10.1002/elsc.201300166>
- Gibson, A. C., & Horak, K. E. (1978). Systematic Anatomy and Phylogeny of Mexican Columnar Cacti. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 65(4), 999. <https://doi.org/10.2307/2398781>
- Gibson, A. C., Spencer, K. C., Bajaj, R., & McLaughlin, J. L. (1986). The Ever-Changing Landscape of Cactus Systematics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 73(3), 532. <https://doi.org/10.2307/2399192>

- INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE PLANTAS PRIMO YUFERA. (n.d.). *Señalización del ácido abscísico*. [https://Www.Csic.Es/Es/Investigacion/Grupos-de-Investigacion/Senalizacion-Del-Acido-Abscisico#:~:Text=La%20hormona%20%20C3%A1cido%20absc%20%20ADsico%20\(A BA,Del%20crecimiento%20y%20desarrollo%20vegetal](https://Www.Csic.Es/Es/Investigacion/Grupos-de-Investigacion/Senalizacion-Del-Acido-Abscisico#:~:Text=La%20hormona%20%20C3%A1cido%20absc%20%20ADsico%20(A%20BA,Del%20crecimiento%20y%20desarrollo%20vegetal).
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nolasco, H., Vega-Villasante, F., & Diaz-Rondero, A. (1997). Seed germination of *Stenocereus thurberi* (Cactaceae) under different solar irradiation levels. *Journal of Arid Environments*, 36(1), 123–132. <https://doi.org/10.1006/jare.1996.0199>
- Paek, K. Y., Chakrabarty, D., & Hahn, E. J. (2005). Application of bioreactor systems for large scale production of horticultural and medicinal plants. In *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation* (pp. 95–116). Springer-Verlag. https://doi.org/10.1007/1-4020-3200-5_6
- Parker, K. C. (1988). Growth Rates of *Stenocereus thurberi* and *Lophocereus schottii* in Southern Arizona. *Botanical Gazette*, 149(3), 335–346. <http://www.jstor.org/stable/2995268>
- Ramírez Díaz, C. J. (2017). ¿Pitaya o pitahaya? Ni son lo mismo, ni son iguales. *CICY*, 63–65. <http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/2443>
- Sajjad, Y., Jaskani, M. J., Asif, M., & Qasim, M. (2017). APPLICATION OF PLANT GROWTH REGULATORS IN ORNAMENTAL PLANTS: A REVIEW. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 54(02), 327–333. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/17.3659>
- Sánchez Cortes, H., Bustamante-González, B., Vargas-López, S., Pérez-Ramírez, N., & Morales-Jiménez, J. (2018). Germinación diferencial asociada con viviparidad facultativa en *Stenocereus thurberi* (Cactaceae): correlaciones climáticas en poblaciones marginales de Sinaloa, México. *Acta Botanica Mexicana*, 123, 51–66. <https://doi.org/10.21829/abm123.2018.1250>
- Santacruz Vásquez, C., Santacruz Vásquez, V., & Huerta Espinosa, V. M. (2009). *Agroindustrialización de pitaya* (Editorial Universitaria (ed.)).
- SIAP. (2009). *PRODUCCION AGRICOLA*. [Http://Infosiap.Siap.Gob.Mx/Aagricola_siap/Ícultivo/Index.Jsp](http://Infosiap.Siap.Gob.Mx/Aagricola_siap/Ícultivo/Index.Jsp).
- Song, H., Chu, Q., Xu, D., Xu, Y., & Zheng, X. (2016). Purified Betacyanins from *Hylocereus undatus* Peel Ameliorate Obesity and Insulin Resistance in High-Fat-Diet-

- Fed Mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(1), 236–244.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05177>
- Teisson, C., & Alvard, D. (1997). RITA an apparatus for application of temporary immersions in plant tissues culture. *BIOVEG*.
- Thimann, K. V. (1948). Plant growth hormones. The Hormones: Physiology, Chemistry and Applications. *Academic Press*.
- Valiente-Banuet, A., Arizmendi, M. del C., Rojas-Martinez, A., & Dominguez-Canseco, L. (1996). Ecological Relationships between Columnar Cacti and Nectar-Feeding Bats in Mexico. *Journal of Tropical Ecology*, 12(1), 103–119.
<http://www.jstor.org/stable/2560167>
- Vargas-Campos, L., Valle-Guadarrama, S., Martínez-Bustos, F., Salinas-Moreno, Y., Lobato-Calleros, C., & Calvo-López, A. D. (2018). Encapsulation and pigmenting potential of betalains of pitaya (*Stenocereus pruinosus*) fruit. *Journal of Food Science and Technology*, 55(7), 2436–2445. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3161-7>
- Watt, P. M. (2012). The status of temporary immersion system (TIS) technology for plant micropropagation. *AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY*, 11(76).
<https://doi.org/10.5897/AJB12.1693>
- Alcántara-Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D., & Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores de crecimiento y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *NOVA*, 1–21.
- Bárceñas Abogado, P., & Jiménez Castañeda, venus. (2010). Pitayas y Pitahayas (*Stenocereus* spp. e *Hylocereus* spp.), recursos agrícolas en el Valle de Tehuacán Puebla. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente*, 1–20.
- Borges Garcia, M., Estrada Abeal, E., Perez Rodriguez, I., & Meneses Rodriguez, S. (2009). Uso de distintos tratamientos de desinfeccion en el cultivo in vitro de *Dioscorea alata* L. clon caraqueño. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 1–9.
- Cactáceas y suculentas mexicanas. (2005). *Fenología y biología reproductiva de las cactáceas columnares*.
www.ecologia.unam.mx/laboratorios/dinamica_de_poblaciones/cacsucmex/
- De la Barrera Montppellier, E. (1997). *Adaptaciones Reproductivas y Fisiológicas a la Aridez en Cactáceas*. UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA.
- Fernández, E., Zorrilla, C., García, A., & Amasifuen Guerra, C. A. (2019). *Manual de conservación in vitro en el Banco de Germoplasma del INIA* (INIA (ed.)).
www.inia.gob.pe

- Flores Valdez, C. A. (2002). *Producción y comercialización de pitaya en México*.
- Flores Valdez, C. A. (2002). *Producción y comercialización de pitaya (Stenocereus sp.) en México*.
- Hernández Silva, E., & García-Martínez, I. (2016). Brassinosteroids in agriculture. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7, 441–450.
- Ing Sánchez, F. (2008). Jasmonatos: compuestos de alto valor para la agricultura. Parte 1. Actividad biológica y ruta biosintética del ácido jasmónico en plantas. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 1–10.
- Jara, G., Muñoz, M., Seemann, P., & Daquinta, M. (2006). *CONSIDERACIONES TÉCNICAS SOBRE EL USO DE BIORREACTORES DE INMERSIÓN TEMPORAL (BIT)*.
- Jordán, M., & Casaretto, J. (2006). *Hormonas y Reguladores del Crecimiento: Auxinas, Giberelinas y Citocininas (Vol. 15)*.
- JUYAANIA. (2018). *EVALUACIÓN DE LA SITUACIÓN ACTUAL DE LAS POBLACIONES DEL PITAYO DE MARTÍNEZ Y SU INTERACCIÓN CON FAUNA EN RIESGO EN EL SUR DE SINALOA*.
- Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., & Mroginski, L. (2010). *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II* (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (ed.); 2nd ed.).
- López-Gómez, R., Díaz-Pérez, J. C., & Flores-Martínez, G. (2000). VEGETATIVE PROPAGATION OF THREE SPECIES OF CACTI: PITAYA (*Stenocereus griseus*), TUNILLO (*Stenocereus stellatus*) AND JIOTILLA (*Escontria chiotilla*). *Agrociencia*, 34(3), 363–367. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30234313>
- Montes-Cruz, S., Lalama-Aguirre, J. M., Echeverría-Félix, J. M., & Salazar-Torres, S. M. (2016). *Factores bióticos y abióticos que influyen en la aclimatación de las vitroplantas en invernadero (Vol. 2)*. <http://dominiodelasciencias.com/ojs/index.php/es/index>
- Pérez González, S. B. (2013). *Viviparidad, Supervivencia y Germinación de Stenocereus thurberi (CACTÁCEAE)*. COLPOS.
- 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. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.37.4.693>
- Ramírez Díaz, C. J. (2017). *Pitaya o pitahaya Ni son lo mismo ni son iguales*.

Rosales Maldonado, E., Rodríguez De Francisco, L. E., Alvarado-Gómez, O. G., & Cárdenas Cerda, M. E. (2003). *Diseño y Construcción de un sistema de inmersión temporal*. <https://www.researchgate.net/publication/278028054>

Trujillo-Roldán, M. A., & Valdez-Cruz, N. A. (2009). THE USE OF DISPOSABLE BIOREACTORS IN THE BIOPHARMACEUTICAL INDUSTRY AND ITS IMPLICATIONS ON ENGINEERING. *Redalyc.Org*, 1–10. www.gehealthcare.com

Zañudo Hernández, J. (1998). *RELACIÓN DE LOS FACTORES CLIMÁTICOS CON EL DESARROLLO Y LA ACTIVIDAD FISIOLÓGICA EN POBLACIONES SILVESTRES Y CULTIVADAS DE PITAYO (Stenocereus queretaroensis (WEBER) BUXBAUM)*. Universidad de Guadalajara.