

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

Evaluación de tres productos para desinfección y de cuatro concentraciones de thidiazurón (TDZ) para enraizamiento de la Pitaya Rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose) aplicando la técnica de cultivo de tejidos

Dafne María Morales Cadoret

**BIBLIOTECA**  
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Guatemala

2005



Evaluación de tres productos para desinfección y de cuatro concentraciones de thidiazurón (TDZ) para enraizamiento de la Pitaya Rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose) aplicando la técnica de cultivo de tejidos

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ingeniería

Evaluación de tres productos para desinfección y de cuatro concentraciones de thidiazurón (TDZ) para enraizamiento de la Pitaya Rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose) aplicando la técnica de cultivo de tejidos


**BIBLIOTECA**  
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Trabajo de investigación presentado por Dafné María Morales Cadoret para optar al grado académico de Licenciada en Ingeniería Agronómica

Guatemala

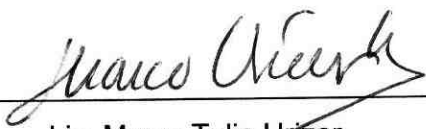
2005

Vo.Bo.:

(f)   
Lic. Marco Tulio Urizar

Tribunal Examinador:

(f)   
Dr. Rolando Cifuentes

(f)   
Lic. Marco Tulio Urizar

(f)   
Lda. Margarita Palmieri

Fecha de aprobación: Guatemala 24 de Noviembre 2005

## PREFACIO

La elaboración de este trabajo de investigación comenzó como la idea de obtener más información sobre un cultivo no tradicional con alto potencial de exportación. El cultivo que me llamó más la atención fue la pitaya rosada, por ser una fruta exótica y con una alta demanda en los Estados Unidos y varios países europeos, tales como Holanda, España, Reino Unido y Francia.

El título de la investigación lo definí después de cierto tiempo de haber comenzado a buscar información sobre el cultivo y darme cuenta que de este tema en particular no existe mucho desarrollo. Además observé que en el laboratorio de cultivo de tejidos casi sólo se utiliza hipoclorito de sodio, el cual no es biodegradable y puede ser dañino a la salud, por lo que decidí unir la parte de la reproducción de la fruta con investigación de distintos desinfectantes más amigables con el ambiente.

Encontrar información específica sobre la forma de propagar la pitaya por medio de meristemos no fue sencillo, así como delimitar las concentraciones a evaluar de los desinfectantes y de la hormona enraizadora. Tampoco lo fue conocer la mejor forma de corte de los meristemos para que presentaran mayor área de contacto y así facilitar su desarrollo en el medio.

Agradezco muy especialmente al Lic. Marco Tulio Urizar, mi asesor, por su valiosa orientación y la transmisión de sus conocimientos, también a la Lda. Margarita Palmieri y a la Ing. Mónica Espinoza por darme su apoyo y las facilidades para llevar a cabo este trabajo de graduación y brindarme información, a la Escuela Nacional de Agricultura (ENCA), por brindarme la materia prima y a sus catedráticos Ing. Luis Pereira e Ing. Juan Navichoc.

Así mismo le doy las gracias al Ph. D. Rolando Cifuentes por su ayuda para que este trabajo se llevara a cabo y llegara a su culminación.

Quiero expresar mi mayor agradecimiento a la compañía Bayer de Guatemala, por haberme proporcionado los insumos necesario para realizar este estudio y muy especialmente al Ing. Edgar Pérez, por su valioso apoyo y orientación.

Finalmente quiero plasmar mi más profundo agradecimiento, reconocimiento y admiración a mis padres por su incondicional apoyo a mi carrera.

## ÍNDICE

	Página
PREFACIO	vi
LISTA DE CUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMEN	xi
I. Introducción	1
II. Objetivos	3
III. Hipótesis	4
IV. Antecedentes	5
V. Revisión de literatura	6
A. Pitaya	6
1. Descripción del cultivo	6
2. Establecimiento del cultivo	6
3. Labores culturales	7
4. Periodo de producción cosecha y postcosecha	7
5. Zonas de producción actuales y potenciales en Guatemala	7
6. Costo de producción	8
7. Mercados y comercialización	9
a. El mercado estadounidense	9
b. El mercado canadiense	10
c. El mercado europeo	11
B. Cultivo de tejidos	13
1. Laboratorio de cultivo de tejidos	13
a. Sala de preparación del medio de cultivo	13
b. Sala de siembra	14
c. Sala de incubación	14
2. Micropropagación	14
a. Selección del meristemo	14
b. Desinfectación de los meristemas	14

c. Selección del medio de cultivo	15
d. Incubación en condiciones adecuadas	15
3. Hormonas	15
a. Ácido Naftalenacético	15
b. Thidiazurón	16
4. Desinfectantes	17
a. Ácido peracético	17
b. Hipoclorito de sodio	17
c. Virkon S®	18
VI. Materiales y Métodos	19
VII. Resultados	22
VIII. Discusión	27
IX. Conclusiones	32
X. Recomendaciones	33
XI. Literatura consultada	34
XII. APÉNDICES	36

## LISTA DE CUADROS

### Cuadro

	Página
1. Miles de dólares demandados de pitaya en los Estados Unidos dado el país de origen de fruto	9
2. Resumen de meristemas contaminados según el medio de cultivo y el tratamiento de desinfección en la primera prueba	22
3. Resumen de meristemas contaminados según el medio de cultivo y el tratamiento de desinfección en la segunda prueba	23
4. Resumen de datos de meristemas no contaminados por tratamiento de desinfección	23
5. Gráfica de porcentaje de meristemas no contaminados por tratamiento de desinfección evaluado	24
6. Resumen del análisis de varianza de los datos transformados (raíz cuadrada de los porcentajes) de la contaminación de meristemas	24
7. Resumen de datos de meristemas enraizados según la concentración de la hormona TDZ	25
8. Gráfica de número de meristemas enraizados según la concentración de la hormona TDZ	25
9. Resumen del análisis de varianza de los datos transformados (raíz cuadrada de $x+1$ ) del enraizamiento	26

## LISTA DE FIGURAS

### Figura

	Página
1. Zonas potenciales de producción de pitaya en Guatemala	8
2. Historial de los precios de pitaya en el mercado de la Unión Europea	12
3. Precios de venta del importados de la pitaya en los principales Mercados Europeos	12
4. Estructura del ácido natfalenacético	16
5. Estructura del thidiazurón	16
6. Contaminación de meristemas en el frasco 2 del tratamiento de Virkon al 1%	41
7. Contaminación de meristemas en el frasco 2 del tratamiento de Cloro al 1%	42
8. Contaminación de meristemas en el frasco 4 del tratamiento de Virkon al 0.8%	43
9. Crecimiento de los meristemas en el frasco 2 del tratamiento de TDZ [0.05 $\mu$ M]	44
10. Contaminación de meristemas en el frasco 3 del tratamiento de Hyperox al 5%	44

## RESUMEN

En este trabajo se evaluaron tres productos para desinfección en la propagación por meristemas y cuatro concentraciones de una citoquinina para enraizamiento de la pitaya rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose). Los desinfectantes que se utilizaron son soluciones de hipoclorito de sodio (Cloro Magia Blanca ®), ácido peracético (Hyperox ®) y ácido peracético con ácidos orgánicos más surfactantes (Virkon S ®) para determinar la mejor metodología a seguir en el proceso de desinfección. La evaluación de los desinfectantes se llevó a cabo para determinar qué producto y qué concentración es el más indicado para utilizarlo en cultivo de tejidos, además de determinar la mejor concentración de hormona (Thidiazurón) para el enraizamiento.

Se utilizó el medio de Murashige y Skoog (MS) junto con hormonas de crecimiento, una citoquinina, Thidiazurón (TDZ) y una auxina, ácido naftalen acético (NAA). Se sembraron en cinco bloques según el desinfectante a utilizar y se evaluó la presencia de contaminación durante 5 semanas.

Para evaluar el enraizamiento, se hizo otra siembra de meristemas en un medio MS con NAA y cuatro concentraciones distintas de TDZ. Se monitorearon los meristemas por ocho semanas.

Se estableció que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre los desinfectantes y concentraciones evaluadas. Sin embargo, sí presentaron un mayor poder desinfectante los compuestos de ácido peracético y ácido peracético más ácidos orgánicos y surfactantes. Tampoco existió diferencia estadísticamente significativa entre las concentraciones de hormona enraizadora evaluada, pero por los resultados se sugiere que la mejor concentración se encuentra alrededor de  $0.05\mu\text{M}$ .

## I. INTRODUCCIÓN

En los años recientes el cultivo de la pitaya rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose) y amarilla (*Cereus Pitaya* D.C) se ha incrementado en forma notable, no sólo en el país sino también en el resto del área de Centroamericana. Esto como resultado del incremento de la demanda por causas internas y en el mercado internacional.

Este fruto proporciona varios nutrientes. Es fuente de vitamina C, vitamina A, fibra para la digestión, fósforo, calcio y carbohidratos. Su semilla también produce un aceite laxante (Monterroso 2003).

Se cuentan con varias fuentes de información respecto del clima ideal para el desarrollo de la pitaya. Aún cuando los datos varían entre sí, los datos proporcionados por la Gremial de Exportadores de Productos No Tradicionales (AGEXPONT) son los más aplicables al país. De acuerdo a la organización, los tipos de clima más adecuados para el cultivo son: los tropical y subtropical, con temperatura de 18 a 25 °C. El cultivo se adapta mejor a suelos francos o francos-arenosos bien drenados, con precipitación anual de 800 a 2000 mm y una altitud de 700 a 1900 m SNM y con suelos porosos con buen drenaje (AGEXPRONT, 1999).

Así mismo es importante tener un buen programa de manejo de plagas y de buenas prácticas agrícolas para evitar problemas durante el desarrollo, cosecha y post-cosecha de los frutos para mantener su calidad y rentabilidad durante su proceso de transporte y comercialización.

En la actualidad la forma común de propagación de la pitaya es por esquejes. Sin embargo, debido al incremento en la demanda de la fruta, es importante establecer formas más rápidas de propagación. Dado que no se cuentan con información del desarrollo de la pitaya rosada en cultivo de tejidos, ni con información sobre la acción de diferentes desinfectantes, se hace necesario desarrollar e implementar un protocolo para mejor forma de reproducción de esta fruta exótica y conservar las mejores características vegetativas. También se promueve un procedimiento más amigable para las personas laborando en un laboratorio de cultivo de tejidos al tratar de eliminar el cloro del procedimiento, sustituyéndolo con distintos desinfectantes.

En el presente estudio también se evaluaron tres productos de desinfección en la propagación por meristemas y cuatro concentraciones de hormona thidiazuron (TDZ) para enraizamiento de la pitaya rosada para proponer la mejor concentración de hormona que promueva un mayor enraizamiento.

## II. OBJETIVOS

### A. Generales

1. Buscar nuevas alternativas de desinfección y enraizamiento en la propagación de la pitaya rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose) por cultivo de tejidos.

### B. Específicos

1. Comparar el efecto del uso de cloro, ácido peracético y de ácido peracético con ácidos orgánicos a diferentes concentraciones como desinfectantes en la propagación de la pitaya rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose) por medio de cultivo de tejidos.
2. Determinar la mejor concentración de TDZ (hormona enraizadora) para promover el desarrollo de la raíz en la pitaya rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose) al propagarla por medio de cultivo de tejidos.

### **III. HIPÓTESIS**

Las diferentes opciones de desinfección de meristemos y las cuatro concentraciones de hormona para el enraizamiento tienen el mismo efecto en cada una de las etapas de propagación por medio de cultivo de tejidos de la pitaya rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose).

#### IV. ANTECEDENTES

En Guatemala, el Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA) ha realizado investigaciones sobre posibles formas de propagar la pitaya por medio de cultivo de tejidos y han llegado a producir ciertas variedades cruzadas.

En Egipto, Mohamed-Yasseen (2002) realizó micropropagación de la pitaya rosada utilizando una solución de hipoclorito de sodio al 0.79% como desinfectante. Utilizó explantes y los sembró en medio Murashige y Skoog (MS) conteniendo 0.5  $\mu\text{M}$  ácido naftalenacético (NAA) y 0.5  $\mu\text{M}$  de thidiazuron (TDZ). De los tallos producidos extrajo explantes y los corto de dos formas, una longitudinal y la otra decapitados. Los sembró en distintas concentraciones de TDZ y obtuvo que los explantes decapitados producían más raíz que los cortes longitudinales.

Hasta la fecha no se han encontrado reportes que utilicen ácido peracético como desinfectante para la técnica de cultivo de tejidos en pitaya rosada ni en algún otro cultivo. Si se tienen descritas utilizaciones del ácido peracético y del ácido peracético con ácidos orgánicos en otros sistemas de producción agrícola, como en invernaderos, agroindustria, fruticultura y floricultura. El ácido peracético con ácidos orgánicos tiene además uso en campos veterinarios como la producción porcina, avícola, ganado mayor, equina y ovina (Smith 2004).

## V. REVISIÓN DE LITERATURA

### A. Pitaya

La pitaya rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose) es una fruta exótica y silvestre de la familia Cactácea originaria de América tropical. Se cree que es de origen colombiano.

Es una especie trepadora de tallo triangular y lleva de 4 a 8 meses desde la fecundación hasta la recolección del fruto, dependiendo de la temperatura. Su fruto tiene alto contenido en vitamina C, fósforo, carbohidratos y agua. También contiene calcio, tiamina, grasa, riboflavina, niacina y fibra. Su uso está dirigido principalmente para el consumo en fresco, pero también puede utilizarse en cócteles, refrescos y helados.

Actualmente es cultivada en el país, en los departamentos de Guatemala, Sololá, Escuintla, Sacatepéquez, Chimaltenango, Quiché y Santa Rosa. Su producción es de junio a septiembre. Después de germinada la semilla el fruto puede ser cosechado a los 18 meses.

Para el mercado externo debe empacarse en cajas de cartón de una sola capa y cada fruta se envuelve en papel de seda. Entre los principales mercados de exportación que demandan este producto se encuentran Estados Unidos y la Unión Europea, así también tiene un alto porcentaje de consumo local (Montenegro 2003).

1. Descripción del cultivo. La pitaya es un cactus suculento, rústico, originario de América tropical, encontrado en México, Centroamérica, Venezuela, Uruguay, Curazao y Brasil. La flor es tubular, hermafrodita, blanca o de color rosada. Mide unos 20 cm de largo, abre una sola vez en las horas de la noche y su aroma atrae a muchos insectos. Se autofecunda pero también puede cruzarse; los murciélagos la visitan de noche y actúan como polinizadores. Sin embargo, durante el día cuando están cerradas se han encontrado abejas, ya que las flores son melíferas. La formación del fruto, desde la polinización hasta el estado de recolección, dura entre 4 y 8 meses dependiendo de la temperatura.

2. Establecimiento del cultivo. Para la preparación del terreno comprende limpieza del terreno que se inicia en la época seca, trazado de los surcos que se debe de

tomar en cuenta la pendiente, el estaquillado, ahoyado del suelo donde lo hoyos dependerán del tamaño del material y la siembra o instalación de los tutores.

3. Labores culturales. Existen varias labores culturales que se le deben de dar a una plantación de pitaya entre estas están la poda, ya sea de formación y mantenimiento o la sanitaria; la fertilización que debe de ser programada dependiendo de la producción esperada, aplicando 8g de nitrógeno, 4g fósforo y 4g de potasio por cada kg de fruta esperada por ciclo; el manejo de malezas, que pueden ser muy perjudiciales para el cultivo en las primeras etapas de la plantación y el manejo de plagas y enfermedades, dado que estas pueden afectar la producción y disminuir la cantidad exportable o comercial de frutos.

4. Período de producción, cosecha y postcosecha. La pitaya tiene una producción escalonada de mayo a noviembre. Dependiendo de las lluvias y los clones, las cosechas se pueden extender hasta el mes de diciembre. Agosto y septiembre son los meses de mayor producción el área de Santa Rosa, Escuintla, Sololá y Mazatenango. La fruta en estado maduro se corta del pedúnculo con tijeras, sin afectar la corteza de la misma. Idealmente esto debe hacerse por la tarde.

Los frutos destinados a la exportación deben reunir una serie de características tales como: ser frutos sanos, sin manchas ni cicatrices o heridas. Deben presentar uniformidad en tamaño, forma, peso y color. El tamaño, número y disposición de las brácteas (orejas) debe ser uniforme.

5. Zonas de producción actuales y potenciales en Guatemala. La pitaya es cultivada actualmente en Guatemala en altitudes hasta de 2,000 m SNM como en el caso de los departamentos de Sacatepéquez, Chimaltenango y Quiché. La altitud ideal para la pitaya es de menor a los 1,600 m SNM como en los departamentos de Guatemala, Sololá, Escuintla y Santa Rosa.

Figura 1: Zonas potenciales de producción de pitaya en Guatemala (Montenegro 2003)



De acuerdo a la Asociación Guatemalteca de Exportación (AGEXPRONT), las áreas de mayor potencial para la producción de pitaya, teniendo en cuenta los factores agro ecológicos, la productividad de las plantas y las exigencias desde el punto de vista logístico para la exportación incluyen Jutiapa, Santa Rosa, Escuintla, Suchitepéquez, Retalhuleu, San Marcos, Sacatepéquez, Quiché, Chimaltenango, Huehuetenango, Baja Verapaz, El Progreso, Jalapa, Chiquimula, Zacapa, Izabal y Alta Verapaz.

El producto no tiene una clasificación o registro arancelario específico y por lo tanto, se incluye entre las importaciones bajo el rubro de "Otras frutas", es un producto No Tradicional.

6. Costo de producción. Los costos de producción en el cultivo de pitaya en condiciones de cultivo en el campo oscilan alrededor de US \$.5,116/hectárea, en un período de siete años. En relación a la productividad del cultivo, se puede mencionar que en condiciones normales de campo una hectárea puede producir al segundo año de plantado 1 t de fruta. Al tercer año se producen 3 t/ha de fruta y en los años sucesivos aumenta la producción hasta estabilizarse en el quinto año en 8 t de fruta/ha. Tomando en cuenta todos estos factores para calcular el costo aproximado, es posible inferir que cada tonelada métrica será producida a un costo de US \$.155. Si se estima un precio de venta de US \$515.87/t, esto da una rentabilidad aproximadamente de 61%.

7. Mercados y comercialización. Entre los principales mercados que demandan el producto se pueden mencionar: Estados Unidos, Unión Europea y el mercado nacional.

a. El mercado estadounidense. La pitaya en fresco es una fruta tropical considerada exótica, el consumidor promedio estadounidense no está familiarizado con su consumo, por lo que no tendría mucha aceptación en el mercado. En cambio, la pulpa de pitaya congelada es un producto industrial que actualmente ingresa a Estados Unidos procedente de Nicaragua y que presenta mejores oportunidades comerciales, tomando en consideración que la industria alimenticia transformadora de Estados Unidos valora sus propiedades de acidez e intenso color como materia prima para la elaboración de helados, jaleas y otros productos procesados.

En el Cuadro 1 se presenta información sobre la demanda de pitaya en el mercado estadounidense.

Cuadro 1: Miles de dólares demandados de pitaya en los Estados Unidos dado el país de origen del fruto.

País de origen	Año (miles de \$)				
	94	95	96	97	98
México	15,252	16,093	19,848	19,135	28,303
Tailandia	3,168	2,623	2,775	1,674	2,044
Israel	616	610	684	845	1,472
Taiwán		535	1,819	2,366	1,325
Nueva Zelanda	7,681	12,296	1,178	1,392	1,035
Otros (incluye Guatemala)	15,498	20,512	1,188	1,272	2,026
<b>TOTAL</b>	<b>42,215</b>	<b>52,666</b>	<b>28,184</b>	<b>26,684</b>	<b>36,205</b>

Fuente: Montenegro 2003

Independientemente del país de origen, el ingreso de la fruta por cualquiera de los puertos no está permitido a territorio de los Estados Unidos por riesgo de infestación fitosanitaria ocasionada por mosca de la fruta o mosca del mediterráneo (*Ceratitits capitata*). Se debe acordar un Análisis de Riesgo de Plagas y/o Protocolo Fitosanitario con los Estados Unidos donde se debe establecer el tratamiento cuarentenario requerido para que la fruta pueda ingresar.

Las oportunidades comerciales para pitaya de Guatemala en el mercado estadounidense –especialmente pulpa congelada de pitaya-, son buenas tomando en consideración el interés demostrado por los importadores hacia este producto. No existe actualmente un mercado para la pitaya en fresco en Estados Unidos ya que no es admitida por restricciones de carácter fitosanitario; sin embargo, teniendo en cuenta el auge de las frutas tropicales y exóticas en este mercado en los últimos años, es de esperarse que una vez superadas las actuales limitaciones, la pitaya podría tener un mercado interesante en este país, si se realizan, además, campañas de promoción.

Nichos del mercado europeo, especialmente del mercado inglés, podrían representar una *alternativa* para la comercialización de pitaya de Guatemala en el mediano o largo plazo, siempre y cuando existiera una oferta soportable continua (continuidad en el abastecimiento) de alta calidad, precios altamente competitivos y significativos volúmenes comerciales que permitan competir con la oferta exportable de otros países proveedores/exportadores.

b. El mercado canadiense. Canadá tiene actualmente uno de los consumos per cápita de frutas y verduras frescas más alto a nivel mundial (223 kg/año), un alto nivel de ingreso y un creciente consumo de frutas tropicales. De acuerdo con el estudio realizado por la firma Labrecque Marketing Inc. de Toronto para PROEXPORT-COLOMBIA, en 1995, los consumidores canadienses no conocen la pitaya y, por ende, no saben consumirla. Además, los comerciantes tienen poco conocimiento sobre el manejo adecuado de este producto. A pesar de lo anterior, esta firma concluyó que frutas como la pitaya podrían convertirse en productos de consumo habitual en Canadá si se promocionan y mercadean agresivamente.

La afluencia de los consumidores canadienses, así como las corrientes de inmigración de los últimos años que se han visto concentradas en población de origen asiático con altos niveles de ingreso y de educación, quienes por su mismo origen están más inclinados al consumo de una variada gama de frutas tropicales y exóticas, permite suponer que la Pitaya puede tener un potencial interesante de mercado en Canadá.

No existen restricciones fitosanitarias ni normas de calidad específicas para el ingreso de la pitaya a este mercado; sin embargo, una de las principales limitaciones para el acceso de frutas y verduras frescas radica en la falta de transporte aéreo directo. Para que el fruto ingrese a este país, están implicadas las dificultades través de aeropuertos en Estados Unidos. Por tratarse de un producto exótico, que no se produce en Canadá, no existen limitaciones de cuotas y la fruta está exenta del pago de aranceles. Existen disposiciones generales sobre residuos de pesticidas para frutas frescas y exigencias de carácter general en cuanto al rotulado de los empaques que deben observarse para exportar pitaya.

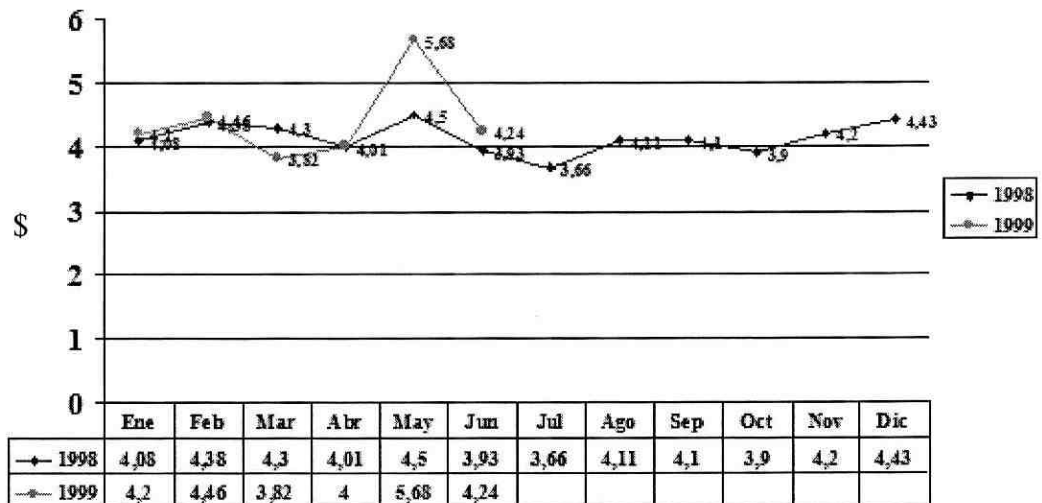
c. El mercado europeo. El mercado europeo de productos exóticos es pequeño y su crecimiento depende de una adecuada promoción y de la disponibilidad permanente de estos productos. Dentro de las exóticas que se exportan, se encuentra la pitaya. La mayoría de países que actualmente están importando esta fruta desean aumentar su distribución y promover el crecimiento en el mercado de la misma. Para aumentar el mercado recomiendan desarrollar una mayor coordinación entre los exportadores o, incluso, buscar exportar el producto con un sello único. Se debe desarrollar una estructura precio/calidad más lógica que permita mantener una mayor rentabilidad en el mercado; solucionar los problemas de transporte y desarrollar campañas de educación orientadas al consumidor, principalmente en relación con el grado de madurez óptimo para el consumo de la pitaya, así como sobre sus propiedades medicinales y otras formas de uso.

El principal problema en el desarrollo del mercado para estos productos radica en la escasez de la oferta, ya que bajo estas condiciones no es posible programar campañas promocionales efectivas. Como en el caso de los demás mercados, se considera fundamental contar con una oferta permanente de fruta de óptima calidad. De acuerdo con la información proporcionada por los importadores, existe una demanda permanente a lo largo del año para la pitaya en este mercado.

Actualmente, el precio promedio de la pitaya al consumidor final está entre € 2.1 y € 3.36 (US \$2.73-US \$4.37). En opinión de uno de los detallistas entrevistados, la demanda podría aumentar significativamente si el precio se pudiera mantener alrededor de € 2.1 (US \$2.73) la unidad (de 200 gr. en promedio).

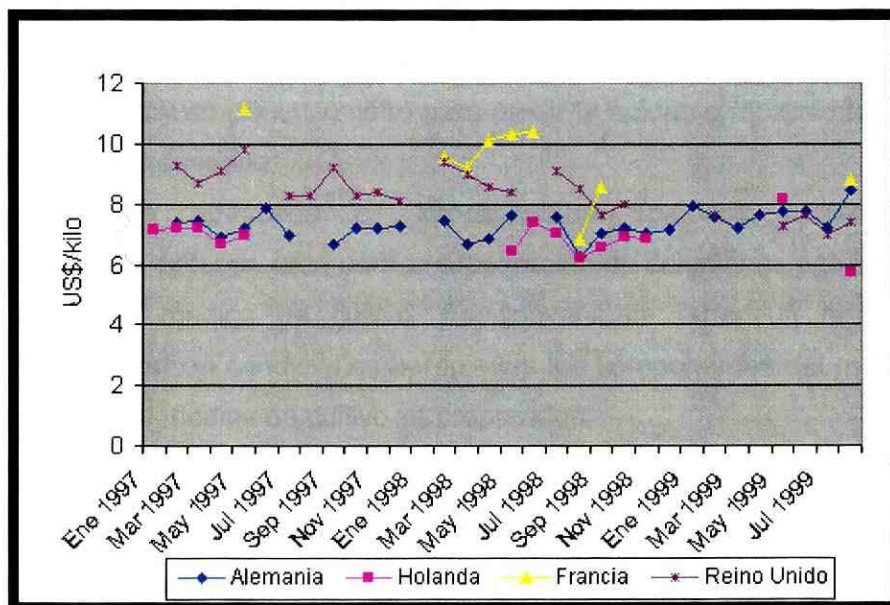
La mayor parte de las importaciones de Pitaya realizadas a Europa por medio de Holanda se re-exportan hacia los mercados de Escandinavia, Bélgica, Francia y Alemania y el resto se vende en el país, principalmente a hoteles y restaurantes.

Figura 2: Historial de los precios de pitaya en el mercado de la Unión Europea.



Fuente: Agro-International Inc., 2000.

Figura 3: Precios de venta del importador de la pitaya en los principales mercados europeos



Fuente: MNS-ITC. Ginebra. Cálculos: Corporación Colombia Internacional.

El precio de exportación FOB en USD por kilo de pitaya exportado en el año 2000 se incrementó en un 17.8% frente a 1999. En 1999 el mayor precio por kilo, que ha sido el nivel más alto durante los dos años considerados, lo pagó Reino Unido (USD 5/kg). Este nivel bajó drásticamente en octubre del 2000 cuando las exportaciones a este mercado se vendieron en USD 2.80 / kg. Para el 2000, el mejor precio fue de USD 4.4 / kg que se registró en las exportaciones hacia Canadá.

Debido a la demanda norteamericana y europea, Guatemala debería contar con 25.7t semanales de producto en fresco para satisfacer la demanda de pitaya (fruta fresca) y 18 t semanales de pulpa congelada para satisfacer la demanda de producto procesado (Corporación Colombiana Internacional 1999).

## **A. Cultivo de Tejidos**

### **1. Laboratorio de cultivo de tejidos**

a. Sala de preparación del medio de cultivo. La sala de preparación debe incluir un área para lavado del material de cristalería, estantes para el almacenamiento de ésta y reactivos, y un espacio para la disolución y mezcla de los diferentes componentes del medio de cultivo, y para su esterilización. Es necesario contar con balanza analítica para pesar con exactitud los componentes químicos del medio que se requieren en cantidades pequeñas y un potenciómetro para medir la acidez o alcalinidad del medio de cultivo y ajustar al pH deseado.

La cristalería adecuada es imprescindible (balones aforados, beakers, erlenmeyers, varillas, goteros, etc.) para la preparación de soluciones patrón o soluciones concentradas y los medios de cultivo. Es conveniente tener un refrigerador para almacenar y conservar en condiciones apropiadas los componentes del medio de cultivo en solución, así como medios de cultivo ya preparados.

La esterilización del material de cristalería e instrumental puede realizarse en autoclave. La esterilización es el uso de agentes físicos o químicos para eliminar de un

material todas las formas viables (microorganismos) y permite excluir la contaminación de los cultivos.

El uso de la autoclave es la forma más común para esterilizar el medio de cultivo y se emplea una temperatura de 121°C durante 15-20min a 1.5atm de presión.

b. Sala de siembra. Es donde se realiza la desinfectación y siembra de los inóculos en el medio de cultivo para la siembra debe de existir un área estéril, porque en esta sala debe de tenerse los máximos cuidados de asepsia. Lo mejor es contar con una campana de flujo laminar de aire, y si se cuenta con una lámpara de luz ultravioleta es mejor aún. Ambos componentes deben de ponerse a funcionar 10-15min antes de realizar el cultivo de tejidos.

c. Sala de incubación. La sala de incubación es indispensable para mantener el material vegetal sembrado en condiciones controladas de temperatura, intensidad luminosa y fotoperíodo, por lo que debe de contar con aire acondicionado, repisas para colocar los frascos de cultivo, iluminación adecuada y un reloj de intervalos que controle la duración del fotoperíodo.

## 2. Micropropagación

a. Selección del meristemo. Se puede iniciar a partir de cualquier planta y la elección dependerá de los objetivos que se persigan. Si la especie ha sido poco investigada, es recomendable probar diferentes fuentes del meristemo.

Para la selección del meristemo es importante considerar:

- la calidad de la planta madre
- la edad fisiológica de la planta madre y del inóculo
- la época del año
- el tamaño del meristemo

b. Desinfectación de los meristemas. Las plantas llevan adheridos en la superficie diversos microorganismos que de no ser eliminados antes de la siembra, contaminarán los medios de cultivo afectando el desarrollo de los inóculos.

Para obtener resultados satisfactorios en el cultivo, es necesario establecer un método que permita la eliminación eficiente del material biológico mediante una desinfectación. No se debe confundir la desinfectación con la desinfección, dado que la última se aplica a objetos inanimados.

c. Selección del medio de cultivo. Para el crecimiento y desarrollo del material vegetal separado de la planta es necesario que el medio de cultivo contenga todos los nutrientes, vitaminas y fitoreguladores del crecimiento que las células recibirían a través de las raíces o de los órganos fotosintetizadores de la planta. Por esto la composición del medio de cultivo es un factor determinante para obtener resultados satisfactorios en la micropropagación de una especie vegetal.

La mayoría de medios de cultivos están constituidos por:

- Sales inorgánicas
- Sustancias orgánicas
- Compuestos naturales de origen vegetal o animal
- Agua destilada

d. Incubación en condiciones adecuadas

- Temperatura: en general, mantener una temperatura constante de 20-30°C.
- Luz: Tanto la calidad y la periodicidad son importantes (Álvarez et al, 2001).

3. Hormonas. Las hormonas son compuestos naturales que tienen la propiedad de regular procesos fisiológicos en concentraciones muy por debajo de otros compuestos como las vitaminas y nutrientes, dado que en dosis más altas llegarían a afectar.

Amplifican, traducen, y generan una respuesta en otra parte de la planta al recibir el estímulo de un órgano sobre un proceso. Pueden inhibir o promover determinados procesos.

Las hormonas vegetales están en casi todas las células y existe una variación en la cantidad existente según el órgano (Azcon-Bieto y Talón 2000)

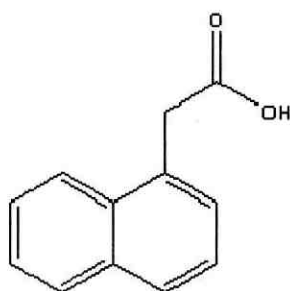
a. Ácido Naftalenacético (NAA). No todas las plantas tienen la capacidad de enraizar espontáneamente, por lo que necesitan sustancias hormonales que provoquen

formación de raíces. Las auxinas son hormonas reguladoras y el ácido naftalen acético está en este grupo. Estimula la elongación de las células y estimula la producción de raíces adventicias en estacas y explantes. Es una auxina sintética, dado que no existe como tal en las plantas.

Es utilizada como hormona de enraizamiento para estacas y en los medios de cultivo de tejidos (Vázquez *et al* 1997).

Este químico no ha sido incluido en las pruebas que realiza la Agencia de Protección Ambiental (EPA por sus siglas en inglés).

Figura 4: Estructura del ácido naftalenacético



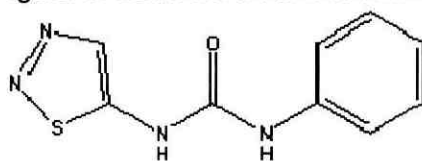
Fuente: Chemfinder.com

b. Thidiazurón (TDZ). Tiene usos bioquímicos como una citoquinina de las más activas e induce gran proliferación y producción de raíces a comparación de las demás citoquininas. Es un regulador de crecimiento absorbido por las hojas (Khawar *et al* 2003).

Su uso principal y por el que es más conocido este químico es el de herbicida y está entre el grupo de fenilurea.

Su toxicidad  $LD_{50}/oral/ratón = >4000mg/kg$  y  $LD_{50}/ojos-piel/conejo = >4000mg/kg$ , es un irritante medio para los ojos. Su solubilidad de 20ppm en agua y la vida media en agua es de 3 días y en el suelo es de 10 días (Hua 2005).

Figura 5: Estructura del thidiazurón



Fuente: Chemfinder.com

4. Desinfectantes. La desinfección de instrumentos y superficies de los puestos de trabajo, básicamente en el laboratorio donde se manipulan muestras biológicas, constituye la forma más adecuada de evitar el posible contagio. Esto se consigue con una correcta utilización de desinfectantes (Martí *et al* 1997).

a. Ácido peracético. El punto de arranque de la investigación y desarrollo de la aplicación de los iones del ácido peracético se produjo a partir del reconocimiento que los perácidos, en particular el ácido peracético, son óptimos reemplazantes del glutaraldehído por su acción biocida y su inocuidad para el ambiente. Su eficiencia dura 24 horas. Los iones no poseen impacto ambiental.

Es activo contra bacteria, esporas bacteriológicas, virus, y hongos a concentraciones bastantes bajas. El olor es fuerte, lo positivo es que se usa en bajas concentraciones para que tenga efecto (0.2%) (Wa 1996).

Tiene una alta solubilidad en agua (mayor de 10g/100ml a 19C). Su toxicidad  $LD_{50}/oral/rata = 1540 \text{ mg/kg}$ ,  $LD_{50}/inhalación/rata = 450\text{mg/m}^3$  y el  $LD_{50}/piel/conejo = 1410 \text{ mg/kg}$  (Scorecard 2004)

El Hyperox ® es una mezcla de 5% de ácido peracético, 25% peróxido de hidrógeno, ácido acético y un surfactante en una solución acuosa estabilizada.

b. Hipoclorito de sodio. El hipoclorito de sodio es un líquido transparente o ligeramente turbio, de color amarillo verdoso con densidad de 1.2 Kg/L y cuya cualidad principal es su reactividad o propiedad de liberar fácilmente el Cloro, propiedad que le da su valor comercial. Son relativamente económicos.

Los compuestos de cloro son buenos desinfectantes sobre superficies limpias, pero son rápidamente inactivados por la materia orgánica. El cloro es efectivo contra bacteria y muchos virus. Estos compuestos son también mucho más activos en agua caliente que en agua fría.

El público en general puede estar expuesto a pequeñas cantidades al usar productos domésticos, pero los trabajadores en ocupaciones en las cuales utilizan estas sustancias, corren riesgos al tener una mayor exposición. El hipoclorito puede irritar la piel, ojos y vías respiratorias y gastrointestinales, además es corrosivo con el metal. La exposición prolongada a bajos niveles puede producir irritación en la piel.

Cuando el hipoclorito de sodio se libera al aire, es degradado por la luz solar. En el agua y suelo se separa en iones y pueden reaccionar con otras sustancias existentes en el medio (ATSDR 2002).

Los efectos tóxicos del hipoclorito de sodio se deben principalmente a las propiedades corrosivas del hipoclorito. La toxicidad aguda es de  $DL_{50}/oral/ratón = 5800$  mg/kg (Smith *et al* 2004).

c. Virkon S ®. Posee un efecto superior contra microorganismos. No es corrosivo ni irritante. No contamina, por el contrario, reduce la infección microbiológica. No mancha. Su ligero aroma a limón brinda una propiedad deodorizante adicional. Es sumamente estable y perfectamente soluble en agua, lo que permite su fácil aplicación en volumen ultrabajo (ULV).

Es una mezcla sinérgica y balanceada de ácidos orgánicos, biocidas orgánicos, y compuestos preoxigenados que da como resultado un desinfectante formulado de amplio espectro contra virus, bacterias, hongos y algas.

después de haber sido sumergidos por 15s en etanol al 70%. En cada frasco de compota se sembraron 5 meristemas. Los esquejes habían pasado 2 días en refrigeración.

En la tercera prueba se utilizaron 60 meristemas y fueron cortados de manera distinta, dado que después de decapitar el esqueje recto, se cortó también tejido de epidermis para dejar más expuestos al medio de cultivo tejidos como el xilema y floema, así como parénquima, quedando meristemas de 0.5-1cm de largo. Se introdujeron por 15s a 80ml de etanol al 70% y se utilizaron dos desinfectantes, solución de cloro al 79% y solución de ácido peracético al 5%. Al tener los meristemas cortados, se introdujeron a 40ml de la solución desinfectante y se dejaron agitando por 10min, después se extrajeron y se les realizó 3 lavados esterilizada con agua para sembrarlos en el medio. Los esquejes habían pasado 3 días en refrigeración.

En las tres pruebas se determinó si existía o no contaminación después 4 semanas de la siembra.

Siempre al trabajar en el laboratorio se lavaron los pisos y toda el área de trabajo con DSC 1,000 y se encendió la campana media hora antes de realizar la siembra desinfectándola con etanol al 70%.

Después de las pruebas anteriores, se realizaron unas modificaciones a la metodología y en base a ello se hizo el experimento siguiente:

Se obtuvo 100 esquejes de la misma manera antes descrita y la forma de lavado fue igual. Después del lavado por 20 minutos con DSC 1,000 y 15s con etanol al 70% a los meristemas, se desinfectaron de la siguiente manera:

- Con hipoclorito de sodio (Cloro Magia Blanca ®) al 1% por 10 minutos con agitación.
- Con ácido peracético (Hyperox ®) al 1% por 10 minutos con agitación
- Con ácido peracético (Hyperox ®) al 5% por 10 minutos con agitación
- Con ácidos orgánicos con compuestos peroxidados (Virkon S ®) a 0.8% por 10 minutos con agitación.
- Con ácidos orgánicos con compuestos peroxidados (Virkon S ®) a 1% por 10 minutos con agitación.

Después de las distintas formas de desinfección se realizó un lavado con agua destilada esterilizada antes de realizar el cultivo. Por último los meristemas se sembraron en medios de cultivo conteniendo medio de Murashige y Skoog (MS) + Ácido Naftalen Acético (NAA) + Thidiazurón (TDZ).

De cada uno de los tratamientos, se realizaron 5 repeticiones, cada una consistió de un frasco de compota con 4 meristemos.

Para realizar el cultivo de tejidos, se colocaron en los frascos 25 ml del medio de cultivo compuesto del medio MS, 30 g/l de sacarosa, 8 g/l de agar, 0.5  $\mu\text{M}$  NAA y 0.5  $\mu\text{M}$  de TDZ.

Después de 5 semanas se determinó si existía o no contaminación de los meristemos según el tratamiento que se utilizó, la variable que se obtuvo fue el número de plantas no contaminadas. Se utilizó una prueba de análisis de varianza de una sola vía, con un nivel de confianza de  $P_{\alpha}= 0.05$  con los datos transformados.

Para evaluar el enraizamiento, se hizo otra siembra con 80 nuevos meristemos a un medio de cultivo MS, 30g/l de sacarosa, 8g/l de agar, 0.5 $\mu\text{M}$  NAA con distintas concentraciones de TDZ para evaluar el enraizamiento. El lavado de los esquejes se realizó con DSC 1,000 por 20min, después se cortaron los meristemos y se introdujeron por 15s en etanol al 70%, la desinfección se realizó sumergiendo los meristemos en Hyperox al 5% con agitación por 20min. Las concentraciones a evaluar fueron:

- $\mu\text{M}$  TDZ
- 0.05  $\mu\text{M}$  TDZ
- $\mu\text{M}$  TDZ
- 0.5  $\mu\text{M}$  TDZ

A las 5 semanas después de sembrados los meristemos se determinó la mejor concentración de TDZ según la cantidad de meristemos que desarrollaron raíz. Esto se observó en los meristemos de dos formas, una sólo de forma visual con los meristemos dentro de los frascos y la otra con estereoscopio sacando el meristemo para observar si tenía desarrollo raíces.

Se realizó una prueba de análisis de varianza de una sola vía con un nivel de confianza de  $P_{\alpha}= 0.05$  utilizando Analysis Tool Pack de Excel. Por la naturaleza de los datos de no tener una distribución normal, se realizó la transformación de los mismos. Para evaluar la desinfección, se utilizó la raíz cuadrada de los porcentajes de meristemos contaminados y en el enraizamiento, la raíz cuadrada de  $x+1$  de los meristemos enraizados. Esta diferencia se dio por la cantidad y tipo de datos con los que se contaba en cada experimento.

## VII. RESULTADOS

En la primera prueba, el tratamiento que menos meristemos contaminados presentó fue el Hyperox 5% en el medio MS+NAA+TDZ, teniendo 4 meristemos contaminados. En dos de los tratamientos con cloro, todos los meristemos fueron contaminados. En el tratamiento de hyperox 5% con agitación y medio con hormonas, dos meristemos presentaron desarrollo radicular y uno de los mismos también presentó crecimiento apical de 2.5cm a las 4 semanas de estar en el medio. Todos los meristemos fueron siendo desechados al presentar contaminación.

Cuadro 4: Resumen de meristemos contaminados según el medio de cultivo y el tratamiento de desinfección en la primera prueba

Medio	Desinfectante	Meristemos totales	Meristemos contaminados
MS+NAA+TDZ	Cloro 0.79%	12	12
	Hyperox 5%	12	8
	Cloro 0.79% con agitación	12	8
	Hyperox 5% con agitación	12	4
MS	Cloro 0.79%	12	12
	Hyperox 5%	12	8

En la segunda prueba realizada, todos los meristemos sembrados en el medio de cultivo MS+NAA presentaron contaminación. En el medio MS+TDZ hubo mayor contaminación en los meristemos desinfectados con hipoclorito de sodio al 1%. En el medio MS+NAA+TDZ se presentaron tres meristemos con desarrollo radicular, uno desinfectado con cloro al 1% con agitación y los otros dos con hyperox al 5% con agitación.

Cuadro 3: Resumen de meristemos contaminados según el medio de cultivo y el tratamiento de desinfección en la segunda prueba

Medio	Desinfectante	Meristemos totales	Meristemos contaminados
MS+NAA+TDZ	Cloro 1% con agitación	15	10
	Hyperox 5% con agitación	15	10
MS+NAA	Cloro 1% con agitación	15	15
	Hyperox 5% con agitación	15	15
MS+TDZ	Cloro 1% con agitación	15	15
	Hyperox 5% con agitación	15	10

De la tercera prueba realizada, todos los meristemos murieron, 20 fueron contaminados y los demás a pesar de no presentar contaminación murieron. A la semana y media de la siembra empezaron presentando tejido necrótico en la parte superior y a las tres semanas, todos los meristemos estaban muertos.

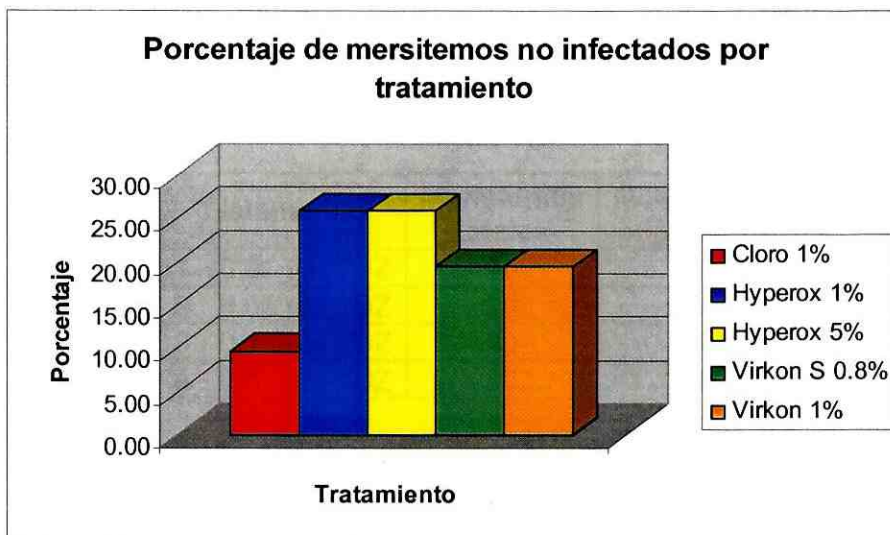
Dados los resultados de las tres pruebas, se decidió una metodología para realizar el experimento completo y la toma de datos. Se decidió realizar los cortes rectos sin quitar tejido de las orillas del meristemo, también de hacer la desinfección en la solución dada con agitación por 10min y de efectuar las siembras con el medio MS+NAA+TDZ. Para el enraizamiento, probar distintas concentraciones de TDZ cercanas a la utilizada en el primer medio.

Al realizar el experimento con los 100 meristemos y las cinco formas de desinfección, con la solución de cloro únicamente 6 de 20 (30%) meristemos no presentaron contaminación. Entre las soluciones de ácido peracético al 1% y al 5%, no existió diferencia en número de no contaminados, ambos desinfectantes mostraron 16 meristemos de 20 (80%) no contaminados. En las soluciones de ácido peracético más ácidos orgánicos y surfactante al 0.8% y al 1%, 12 de 20 (60%) no presentaron contaminación.

Cuadro 4: Resumen de datos de meristemos no contaminados por tratamiento de desinfección

Tratamiento	Meristemos totales	Meristemos no contaminados
1 Cloro ® al 1%	20	6
2 Hyperox ® al 1%	20	16
3 Hyperox ® al 5%	20	16
4 Virkon S ® al 0.8%	20	12
5 Virkon S ® al 1%	20	12

Cuadro 5: Gráfica de porcentaje de meristemas no contaminados por tratamiento de desinfección evaluado



En el análisis de varianza de un solo factor realizado a los datos transformados (transformación= raíz cuadrada del porcentaje de meristemas contaminados) se obtuvo una F de 0.93, siendo la F crítica= 2.86 y el valor de P= 0.46. Dados estos valores, no existe diferencia estadísticamente significativa P (>0.05) entre los tratamientos. También se obtuvo el coeficiente de variación para los datos y fue de 77%.

Cuadro 6: Resumen del análisis de varianza de los datos transformados (raíz cuadrada de los porcentajes) de la contaminación de meristemas

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	87.85641	4	21.9641	0.930379	0.466243	2.866081
Within Groups	472.1539	20	23.6077			
Total	560.0103	24				

En el procedimiento de inducción radicular utilizando cuatro diferentes concentraciones de TDZ, tres (0.01, 0.1 y 0.5  $\mu\text{M}$ ) no presentaron enraizamiento en ningún meristemo. La concentración de TDZ 0.05  $\mu\text{M}$  mostró 6 de 20 (30%) meristemas enraizados.

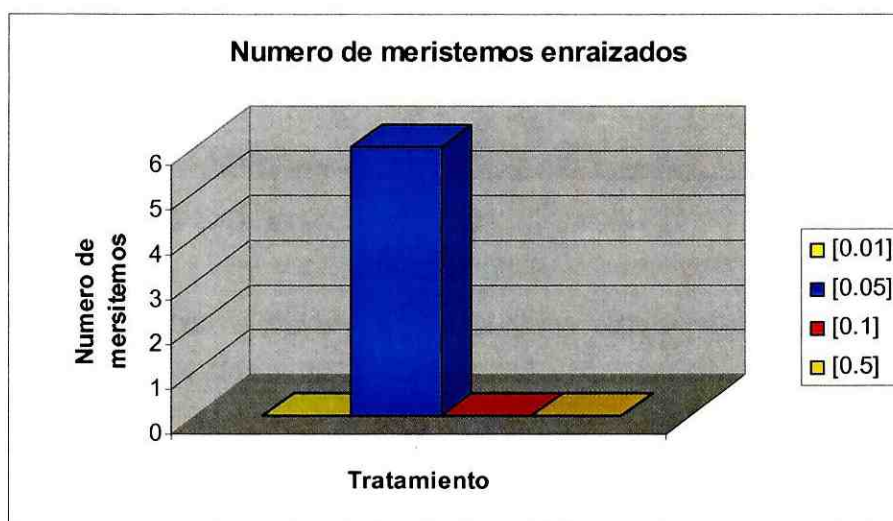
Los meristemas fueron evaluados 4 semanas después de la siembra, pero al notar que había pocos meristemas enraizados se dejó evaluar por más tiempo. Se monitoreó

por 4 semanas más pero no se presentaron más meristemas enraizados. El único cambio que se observó fue en los meristemas que ya presentaban raíz, se fue desarrollando más la raíz y cuatro meristemas empezaron a tener desarrollo apical.

Cuadro 7: Resumen de datos de meristemas enraizados según la concentración de la hormona TDZ

Tratamiento	Meristemas totales	Meristemas enraizados
1 0.01 $\mu$ M TDZ	20	0
2 0.05 $\mu$ M TDZ	20	6
3 0.1 $\mu$ M TDZ	20	0
4 0.5 $\mu$ M TDZ	20	0

Cuadro 9: Gráfica de número de meristemas enraizados según la concentración de la hormona TDZ



Al aplicar el análisis de varianza de un solo factor con los datos transformados (transformación: raíz cuadrada  $x+1$ ), la  $F_{crítica} = 0.32$  y la  $F = 2.86$  lo que muestra que no existe diferencias estadísticamente significativas ( $P\alpha=0.05$ ), el coeficiente de variación obtenido con la raíz cuadrada del cuadrado medio dividido la media y esto multiplicado por cien fue de 22%.

Cuadro 9: Resumen del análisis de varianza de los datos transformados (raíz cuadrada de  $x+1$ ) del enraizamiento

<b>Source of Variation</b>	<b>SS</b>	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>F</b>	<b>P-value</b>	<b>F crit</b>
Between Groups	87.85641	4	21.9641	0.930379	0.466243	2.866081
Within Groups	472.1539	20	23.6077			
Total	560.0103	24				

## VIII. DISCUSIÓN

Las tres pruebas previas que se realizaron fueron para empezar a desarrollar técnica para el cultivo de tejidos para que en el momento de hacer el experimento se tuviera mayor conocimiento de la metodología, además las pruebas ayudaron a establecer la metodología a seguir. En uno de los ensayos se siguió exacta la metodología hecha por Mohamed-Yasseen en la microporpagación de la pitaya rosada, que es un protocolo básico para la producción de pitaya en cultivo de tejidos (Yasseen 2001). Se realizaron ciertas variaciones de la metodología de Yasseen por no contar con mayor información sobre la micropropagación y de esta manera definir los pasos y la metodología a seguir en el experimento con los tres desinfectantes.

En las tres pruebas y en ambas partes del experimento se cortaron los esquejes con el meristemo apical de color morado a verde claro, dado que de este color el meristemo esta vivo y joven y de esta manera existe mayor facilidad que el tejido se desarrolle crezca en un medio de cultivo. El meristemo se desarrolla en un medio de cultivo si tiene las condiciones ideales de humedad, nutrientes, luz y no contaminación.

Es importante meter los esquejes después de cortados en una hielera para transportarlos para que pierdan la menor cantidad de humedad y turgencia posible. Si no se siembran en el medio de cultivo el mismo día que fueron cortados, ponerlos en refrigeración.

En la primera prueba, en el medio MS+NAA+TDZ presentaron menos infección los tratamientos que tuvieron agitación por 10min con la solución desinfectante que a los que no se les realizó agitación (ver Cuadro 4). Esto se debe a que la agitación ayuda a remover la materia que pueda tener el meristemo entre los tejidos.

En el medio MS no se encontró desarrollo radicular en ningún meristemo. Este es un factor que pudo ser dado porque ese medio no poseía hormonas, y tanto el ácido naftalen acético como el thidiazurón ayudan a promover la raíz. El NAA es sintético y por su naturaleza de auxina, promueve la elongación de las células (Vasquez *et al* 1997). El thidiazurón en cambio es una citoquinina de las más activas y se ha utilizado desde 1982 en la inducción de raíces (Mok *et al* 1982) e induce la producción de múltiples raíces en la pitaya cuando es sembrada al suelo (Yasseen 2002).

En el medio MS+NAA+TDZ con la desinfección de Hyperox al 5% con agitación sí se presentó desarrollo de raíz en dos meristemas, esto se pudo deber a que contenía hormonas que ayudaban al desarrollo de la raíz. Los dos meristemas que sí llegaron a

desarrollar raíz se presentaron en el tratamiento que menos contaminación tuvo y donde más número de meristemas sobrevivieron a las tres semanas.

Hay que tomar en cuenta que en el medio MS hubo mayor contaminación, por lo que el número de meristemas que pudo haber desarrollado raíz es menor, sólo cuatro meristemas que fueron desinfectados por Hyperox al 5% no se contaminaron, pero de estos, ninguno presentó desarrollo radicular.

Se realizó una parte de esta prueba en el medio MS como control, así de esta manera se podía definir la importancia de las hormonas en el medio. Después de los resultados que se observan en el cuadro 4, se decidió realizar otra prueba, pero esa segunda vez, en todos los tratamientos de desinfección se realizó agitación. Ya no se probó el medio MS como tal porque no había presentado ningún signo de enraizamiento.

En la segunda prueba se utilizaron tres medios distintos para observar el comportamiento de los meristemas según la hormona que contenía. El mayor problema de esta prueba fue que presentó mayor contaminación que la primera, (ver cuadro 5) esto pudo darse debido a que el material vegetativo de esta segunda prueba se encontraba más sucio que el primero, ya que la recolección de esquejes se realizó después de lluvia durante el mes de mayo y varios esquejes presentaban bastante lodo y tierra.

Se observó que de los 15 meristemas no contaminados, 10 se encontraron en el medio MS+NAA+TDZ y de estos, 3 presentaron enraizamiento. Esto se debe a que la combinación de las dos hormonas induce a la formación de las raíces, mientras exista el mejor balance entre la auxina (NAA) y la citoquinina (TDZ), mayor desarrollo y formación de raíces presentara el cultivo (Urtado y Merino 1994).

En la tercera prueba afectó la forma del corte que se realizó al meristemo, dado que en las pruebas anteriores en las que se había realizado el corte solo como una decapitación y recto sin quitarle tejido de epidermis de los alrededores no se puso necrótico.

Tejidos más sensibles se encontraban expuestos por no contener la epidermis ni la cutícula. Estos frascos presentaron más gotas en las paredes de alrededor y en la tapadera, por lo que el meristemo perdió líquido y no los recuperó. La necrosis de los meristemas comenzó en la parte superior y fue bajando hasta llegar a la parte que estaba introducida al medio. La parte que estaba adentro del medio tardó más tiempo en ponerse necrótica, pero después de 4 semanas, todos los meristemas no contaminados (40 meristemas) estaban muertos. Además hay que tomar en cuenta que estos esquejes ya llevaban 3 días en refrigeración, por lo que también en esta etapa perdieron agua.

Al aplicar los cinco diferentes métodos de desinfección con los tres productos, se mostró una mejor acción en ambas soluciones de ácido peracético (1 y 5%), seguido por el desempeño del ácido peracético más ácidos orgánicos y surfactantes (0.8 y 1%) y por último se observó la acción menor de la solución de cloro (1%) (ver cuadro 6 y 7).

La forma de desinfección para los 5 tratamientos se llevó a cabo de la misma manera, primero lavando los esquejes con agua a cierta presión y después introduciéndolos en una solución de DSC 1,000 por 20min, por último en etanol al 70% por 15s. Los meristemas desinfectados de esa manera fueron separados en cinco para luego ser introducidos a una de las soluciones y después de ser agitadas por 10 minutos, lavadas con agua esterilizada y sembradas en el medio. La desinfección previa a la utilización de los distintos desinfectantes y concentraciones fue por igual a todos meristemas, esto ayuda a determinar que la contaminación que se observó en cada solución sí fue dada por el potencial de desinfección de cada solución.

La acción menor en la desinfección se observó en la solución de cloro al 1% y pudo ser dado porque los meristemas contenían aún materia orgánica después de haber sido sumergidos y lavados con un jabón desinfectante. Debido a que el cloro pierde su eficacia con materia orgánica, su potencial de desinfección disminuyó y la cantidad de meristemas infectados fue mayor. Para que en presencia de materia orgánica tenga casi el mismo funcionamiento, debe utilizarse en concentraciones del 10% (Martí *et al* 1997) pero en esa concentración puede quemar ciertos tejidos sensibles de la planta, dado que el hipoclorito si se considera corrosivo (Smith *et al* 2004).

Al comparar el potencial de desinfección del ácido peracético y del ácido peracético más ácidos orgánicos, el ácido peracético sin ácidos orgánicos tiene mayor capacidad de desinfección dado que la concentración de este ácido es mayor que en el Virkon S que contiene ácido peracético más disuelto por contener además otro ácidos (webtelmex.net.mx 2005).

Se llevó a cabo una transformación de datos por el tipo de distribución que se tiene, dado que no es de tipo normal. Los resultados de las desinfecciones fueron muestras relativamente pequeñas y la variación de los datos fue grande. En el análisis de desinfección se transformaron los datos obteniendo la raíz cuadrada de los porcentajes de meristemas no contaminados, y para la evaluación del desarrollo radicular se utilizó una transformación de datos distinta, dado que la mayoría de resultados eran cero se trabajó con la raíz cuadrada del dato mas uno ( $x + 1$ ).

Para llegar a definir el tipo de análisis estadístico y la transformación de los datos, se realizaron distintas pruebas estadísticas. Se realizó un análisis de varianza de un factor sin los datos transformados y éste dio que ninguno de los dos experimentos era estadísticamente significativo, dado que la F daba mayor a la F crítica. Por contar con pocos datos, también se realizaron dos pruebas de estadística no paramétrica, la prueba de los signos y la prueba de Wilcoxon, en ambas tampoco salió diferencia estadísticamente significativa (Mendenhall *et al* 2002). Se escogió la transformación de los datos y el análisis de varianza de un solo factor debido a que se tenían pocos datos y no se contaba con una distribución normal.

A pesar que la contaminación en las soluciones de ácido peracético y de ácido peracético más ácidos orgánicos y surfactante no fue estadísticamente significativa en comparación con la acción desinfectante del cloro, es sugestiva la aplicación de soluciones con ácido peracético para técnica de cultivo de tejidos en la pitaya rosada.

La diferencia entre los tratamientos no fue estadísticamente significativa, dado que la F crítica es mayor que la F dada por los datos del experimento (ver cuadro 8). La prueba puede ser no significativa por la gran variabilidad en los datos, dado que se tiene un coeficiente de variabilidad del 77%, el cual es bastante alto y está afectando al realizar el análisis. Al observar los datos del cuadro 6, la cantidad de meristemas no contaminados en el cloro es 50% menor que en Virkon S y 80% menor que en Hyperox, pero la variabilidad de todos los datos es demasiada grande.

La utilización de desinfectantes distintos al cloro ayudaría a que el procedimiento fuera más amigable con las personas laborando en el laboratorio de cultivo de tejidos. El hipoclorito de sodio es levemente tóxico al igual que el ácido peracético, pero el cloro se considera corrosivo y la exposición seguida a niveles bajos puede ocasionar irritación tanto en la piel como en vías respiratorias (ATSDR 2004).

El hipoclorito de sodio tiene la ventaja de ser más económico, pero se inactiva rápidamente con materia orgánica, lo que no le ocurre al Hyperox, además de no ser corrosivo y, a pesar de poseer un olor fuerte, son suficientes concentraciones pequeñas (iguales o menores del 0.2%) para que tenga efecto contra bacterias, hongos, virus y esporas.

En la metodología aplicada para la inducción radicular, los medios de cultivo con las concentraciones de TDZ al 0.01, 0.1 y 0.5 $\mu$ M no presentaron ningún signo de enraizamiento en los 60 meristemas, 20 de cada una de las concentraciones. El único medio que presentó signos de enraizamiento fue el de concentración 0.05 $\mu$ M, que mostró

6 de 20 meristemas (ver cuadro 9 y 10). Al aplicar el análisis de varianza de un solo factor con transformación de datos, no se encontró diferencias estadísticamente significativas, sin embargo los resultados sugieren que alrededor de  $0.05\mu\text{M}$  de hormona en el medio de cultivo debe ser la concentración más adecuada para el estímulo de este meristemo radicular.

Los 6 meristemas que presentaron signos de enraizamiento se encontraban verdes y tuvieron crecimiento superior e inferior. Dada la concentración de TDZ, se observa que la pitaya no necesita de tanta concentración de hormona enraizadora para que se desarrolle el meristemo y se pueda reproducir por medio de cultivo de tejidos esta planta. Se puede notar que en la primera prueba, al no utilizar ninguna hormona, no se presentó enraizamiento.

De las hormonas utilizadas, el NAA no ha sido incluido en las pruebas de la EPA, es muy ampliamente utilizada como hormona de enraizamiento en medios de cultivo de tejidos (Vázquez *et al* 1997) y la combinación con la hormona TDZ, que es también ampliamente utilizada en cultivos *in vitro* que poco tóxica dan una mezcla de hormonas en medio MS muy poco tóxico. Este tipo de medio de cultivo ayuda a desarrollar el cultivo y en las concentraciones utilizadas para este fin, no causa daño para la salud (Urtado y Merino 1994).

La pitaya es atractiva tanto para su consumo como para su siembra, para su consumo porque posee una gran cantidad de nutrientes y para su siembra porque tiene una rentabilidad aproximada del 61% al llevar un buen manejo del cultivo. En Guatemala hay muchas áreas con las características necesarias para poder sembrar pitaya y que aún no ha sido explotada tales como en Ratalhuleu, Santa Rosa, San Marcos, Jalapa, Suchitepequéz y Escuintla.

La razón por la que se escogió la pitaya rosada fue porque posee un alto potencial de desarrollo a nivel agrícola dado que tiene una gran demanda de exportación a Estados Unidos y Europa que aún no ha sido cubierta (Yasseen 2001; Montenegro 2003) e igual a nivel nacional tiene un mercado interno aún no cubierto completamente. Por estas razones, es importante determinar una forma de reproducción *in vitro* con una metodología establecida que sea más amigable con las personas que realizan los cultivos y más eficiente, ayudaría a la reproducción de esta fruta. También una ventaja que posee esta fruta para el experimento realizado es que por ser un Cactacea, presenta dificultad para la desinfección de sus tejidos por sus características ergonómicas.

## IX. CONCLUSIONES

1. Al comparar el efecto de la solución de cloro al 1% y de las soluciones de ácido peracético al 1% y 5% y de ácidos peracético con ácidos orgánicos al 0.8% y 1% como desinfectantes no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la capacidad desinfectante. A pesar que las soluciones ácidas presentaron un mayor poder de desinfección que la solución de cloro utilizada.
2. Aunque la concentración de TDZ de  $0.05\mu\text{M}$  presentó signos de mayor capacidad de enraizamiento, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las diferentes concentraciones de TDZ evaluadas.

## X. RECOMENDACIONES

1. Continuar con este tipo de experimentos para optimizar los procedimientos de desinfección en el cultivo de tejidos, para sustituir las soluciones de cloro.
2. Experimentar cómo reaccionan otros cultivos a la desinfección con ácidos peracéticos.
3. Ampliar la utilización de la combinación de las hormonas NAA y TDZ en diferentes cultivos para la producción de raíces.
4. Probar hacer el cultivo de tejidos de la pitaya con el corte en forma de V para que mayor cantidad de tejido esté en contacto con los nutrientes y hormonas del medio.
5. Encontrar la concentración exacta de TDZ para la inducción de enraizamiento de la pitaya rosada (*Hylocereus undatus* Britt & Rose).
6. Repetir el estudio con más muestras y en frascos individuales.
7. Promover la producción de pitaya en las áreas climatológicas aptas para el cultivo dada la alta potencialidad de este cultivo.
8. Ampliar el conocimiento de la alta rentabilidad del cultivo de la pitaya rosada a las poblaciones en las que puede desarrollarse el cultivo.

## XI. LITERATURA CONSULTADA

1. Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR). 2002. *ToxFAQs™ para Hipoclorito de Calcio/Hipoclorito de Sodio*. Estados Unidos. [http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es\\_tfacts184.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/toxfaqs/es_tfacts184.html). Última fecha visitada: 19 noviembre 2005.
2. AGEXPRONT. 1999. *Pithaya*. Centro de Información y Análisis. Guatemala. 5pp.
3. Álvarez, Alvaro; B. Luna y J. Arredondo. 2001. *Micropropagación de plantas*. Editorial Trillas. México. 107pp.
4. Ardila, Luis. 2001. *El cultivo de la pitaya y su posicionamiento en el mercado. Colombia*. <http://www.angelfire.com/ia2/ingenieriaagricola/index.html>. Última fecha de ingreso: 19 noviembre 2005.
5. Azcon-Bieto, Joaquín and M. Talón. 2000. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. España. 522pp
6. Corporación Colombia Internacional. 1999. *Perfil de la Pitaya*. Boletín CCI: SIM. Perfil de Producto. No. 5. <http://www.cci.org.co/publicaciones/revistas/perfilPitaya5.htm>. Última fecha de acceso: 20 Junio 2005.
7. Hurtado, Daniel. y M. Merino. 1994. *Biotecnología Vegetal*. 3ra edición. Editorial Trillas. México. Pp. 233.
8. Khwar, Khalid, et al. 2003. *Effect of Thidiazuron on Shoot Regeneration from Different Explants of Lentil ( Lens culinaris Medik.) via Organogenesis*. University of Ankara, Department of Field Crops. Turkía.
9. Martí, Maria-Carmen, et al. 1997. *Desinfectantes: características y usos más corrientes*. España. [http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp\\_429.htm](http://www.mtas.es/insht/ntp/ntp_429.htm). Última fecha de acceso: 30 septiembre 2005.
10. Mok, Machteld, et al. 1982. *Phytochemistry*. Vol 21, 1509–1511.
11. Montenegro, Miguel. 2003. *La Pitaya*. Data Export, Revista de Comercio Exterior. Guatemala.

12. Pagano, Robert. 1999. *Estadística para las ciencias del comportamiento*. 5ta edición. Editorial Thomson Editores. México. 548pp.
13. *Proyecto Regional de Fortalecimiento de la Vigilancia Fitosanitaria en Cultivos de Exportación no Tradicionales – VIFINEX – República de China - OIRSA -*, Informe anual 1999. Managua, Nicaragua.
14. Orellana, Estuardo. y C. Ruiz. 2003. *Consideraciones del cultivo de pitaya (Hylocereus undatus) en Guatemala*. Editorial Serviprensa S.A. Guatemala. 45pp.
15. Scorecard. 2004. *Peracetic acid*. Estados Unidos. <http://www.scorecard.org/> Última fecha visitada: 14 noviembre 2005.
16. Smith, Tom. 2004. *Fundamentos de la desinfección y del saneamiento*. Estados Unidos. <http://webs.demasiado.com/delpino/desinfeccion.html> Última fecha de ingreso: 12 noviembre 2005.
17. Vázquez, Carlos. *et al* 1997. *La reproducción de las plantas: semillas y meristemas*. México. [http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec\\_2.htm](http://omega.ilce.edu.mx:3000/sites/ciencia/volumen3/ciencia3/157/htm/sec_2.htm). Última fecha ingreso: 19 noviembre 2005.
18. www.webtelmex.net.mx. 2005. Virkon S. El Último Avance en Desinfección. México. <http://www.webtelmex.net.mx/leved/VirkonS.htm>. Última fecha de ingreso: 8 agosto 2005.
19. Xing, Hua. 2005. *Plant growth regulator: Thidiazuron*. China. [http://anpon.en.alibaba.com/product/10276010/10368970/Plant\\_Growth\\_Regulator/Thidiazuron.html](http://anpon.en.alibaba.com/product/10276010/10368970/Plant_Growth_Regulator/Thidiazuron.html). Última fecha visitada: 17 noviembre 2005.
20. Yasseen, Mohamed. 2002. *Micropropagation of pitaya (Hylocereus Undatus Brito et Rose)*. In Vitro Cell Dev. Biol. 38:427-429.

## XII. APÉNDICES

Apéndice 1: Composición del medio Murashige y Skoog (MS) utilizado en el cultivo de tejidos

<b>Componente</b>	<b>Para un litro de medio MS</b>
Macronutrientes	100ml
Micronutrientes	1ml
Ca	10ml
Fe	10ml
Vitaminas	0.5ml
Sucrosa	30g
Agua	Hasta llegar al Lt
Gel	2g



Apéndice 3: Resultados obtenidos en el experimento de desinfección

Fecha	Desinfección en pitaya															Dafné Morales 01033														
	1					2					3					4					5									
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5					
31.05.05	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
03.06.05	0	4	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	1	0
07.06.05	0	4	3	0	3	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	2	0
13.06.05	0	4	3	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	3	0	0	4	0	4	0
14.06.05	0	4	4	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	3	0	0	4	0	4	0
20.06.05	0	4	4	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	4	0	0	4	0	4	0
23.06.05	0	4	4	1	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	4	0	0	4	0	4	0
29.06.05	0	4	4	1	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	4	0	0	4	0	4	0
09.07.05	1	4	4	1	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	4	0	0	4	0	4	0
TOT INF	1	4	4	1	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	4	0	0	0	0	4	0	4	0	0	4	0	4	0
TOT NO INF	3	0	0	3	0	4	4	4	4	0	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	0	4	4	0	4	0
% no infectado	75	0	0	75	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
TOT NO INF	6					16					16					12					12									

- 1 Cloro 1%
- 2 Hyperox 1%
- 3 Hyperox 5%
- 4 Virkon S 0.8%
- 5 Virkon S 1%

Apéndice 4: Porcentajes de meristemas contaminados según el tratamiento

	Frasco				
	1	2	3	4	5
<b>Cloro 1%</b>	75	0	0	75	0
<b>Hyperox 1%</b>	100	100	100	0	100
<b>Hyperox 5%</b>	100	100	0	100	100
<b>Virkon S 0.8%</b>	100	0	100	0	100
<b>Virkon S 1%</b>	100	0	100	100	0

Apéndice 5: Raíz cuadrada de los porcentajes de meristemas contaminados según el tratamiento.

	Frasco				
	1	2	3	4	5
<b>Cloro 1%</b>	8.66	0	0	8.66	0
<b>Hyperox 1%</b>	10	10	10	0	10
<b>Hyperox 5%</b>	10	10	0	10	10
<b>Virkon S 0.8%</b>	10	0	10	0	10
<b>Virkon S 1%</b>	10	0	10	10	0

Apéndice 7: Muestra de hoja de toma de datos de enraizamiento

Universidad del Valle de Guatemala		Enraizamiento en pitaya					Dafré Morales 01033																								
		A					B					C					D														
Fecha		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5					
14.07.05																															
18.07.05																															
21.08.05																															
26.08.05																															
05.08.05																															
10.08.05																															
16.08.05																															
19.08.05																															
26.08.05																															
30.08.05																															
TOT enraizados																															
X+1																															
TOT NO INF																															

Tratamiento	I	J
A	0.01	0
B	0.05	6
C	0.1	0
D	0.5	0

## Apéndice 8: Resultados obtenidos del ensayo de enraizamiento

Fecha	A					B					C					D				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
14.07.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18.07.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21.08.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26.08.05	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
05.08.05	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10.08.05	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16.08.05	0	0	0	0	0	2	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19.08.05	0	0	0	0	0	2	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
26.08.05	0	0	0	0	0	2	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30.08.05	0	0	0	0	0	2	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOT enraizados	0	0	0	0	0	2	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
x+1	1	1	1	1	1	3	2	1	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
TOTNO INF	0					6					0					0				

Universidad del Valle de Guatemala      Enraizamiento en pitaya      Dafné Morales 01033

Tratamiento	[ ]	
A	0.01	0
B	0.05	6
C	0.1	0
D	0.5	0

Apéndice 9: Datos transformados ( $x+1$ ) de meristemos enraizados según concentración de TDZ.

Thidiazurón	Frasco				
	1	2	3	4	5
0.01 $\mu\text{M}$	1	1	1	1	1
0.05 $\mu\text{M}$	3	2	1	3	2
0.1 $\mu\text{M}$	1	1	1	1	1
0.5 $\mu\text{M}$	1	1	1	1	1

Apéndice 10: Datos transformados del número de meristemos enraizados según la concentración de TDZ.

Thidiazurón	Frasco				
	1	2	3	4	5
0.01 $\mu\text{M}$	1	1	1	1	1
0.05 $\mu\text{M}$	1.7	1.4	1	1.7	1.4
0.1 $\mu\text{M}$	1	1	1	1	1
0.5 $\mu\text{M}$	1	1	1	1	1

Figura 6: Contaminación de meristemos en el frasco 2 del tratamiento de Virkon al 1%



Figura 7: Contaminación de meristemas en el frasco 2 del tratamiento de Cloro al 1%



Figura 8: Contaminación de meristemas en el frasco 4 del tratamiento de Virkon al 0.8%



Figura 9: Crecimiento apical de los meristemos en el frasco 2 del tratamiento de TDZ [0.05  $\mu\text{M}$ ]



Figura 10: Contaminación de meristemos en el frasco 3 del tratamiento de Hyperox al 5%

