



Evaluación de tres métodos de desinfección para el establecimiento *in vitro* de pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) en la Estación Experimental Sapecho – Bolivia

Evaluation of three disinfection methods for *in vitro* pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) establishment *in vitro* at Sapecho Experimental Station – Bolivia

Marco Antonio Echenique Quezada, Daniela Mamani Paxi, Carol Bacinario Yanari

RESUMEN:

La Pitahaya (*Hylocereus megalanthus*), conocida comúnmente como “fruta del dragón”, es un fruto que se produce en regiones subtropicales y tropicales de América Latina, en estado silvestre se puede encontrar en ciertos países como México, Venezuela, Colombia, Brasil, Costa Rica y Ecuador. Se puede encontrar especies cultivadas de Pitahaya en Bolivia, Panamá, Curazao, Uruguay, Perú y Vietnam. El fruto puede ser de diferentes colores como amarillo, púrpura, rojo y blanco. De manera tradicional la pitahaya se puede propagar por semillas o estructuras vegetativas, sin embargo, una forma de obtener plantas es mediante el cultivo de tejidos *in vitro* que permite la producción de mayor cantidad plántulas, de alta calidad y libre de enfermedades. El trabajo fue realizado en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Estación Experimental Sapecho, municipio de Palos Blancos del departamento de La Paz, con el objetivo de establecer el mejor método de desinfección en la introducción *in vitro* de areolas de cladodios de pitahaya. El análisis de datos se realizó bajo un diseño completamente al azar (DCA), con un nivel de confianza al 5%, las variables evaluadas fueron, contaminación por hongos, contaminación por bacterias, porcentaje de oxidación y porcentaje de sobrevivencia. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede mencionar que el método de desinfección II (Suárez *et al.*, 2013) presenta un 85% de contaminación total por hongos, bacterias y oxidación, el método de desinfección que tuvo mayor porcentaje de sobrevivencia fue el método de desinfección I (Delgado *et al.*, 2021) que presenta mejor establecimiento y obtención de plántulas *in vitro* de pitahaya.

PALABRAS CLAVE:

pitahaya, desinfección, areolas, cladodios, *in vitro*.

ABSTRACT:

Pitahaya (*Hylocereus megalanthus*), commonly known as “dragon fruit”, is a fruit that is produced in subtropical and tropical regions of Latin America, in the wild it can be found in certain countries such as Mexico, Venezuela, Colombia, Brazil, Costa Rica and Ecuador. Cultivated species of Pitahaya can be found in Bolivia, Panama, Curacao, Uruguay, Peru and Vietnam. The fruit can be of different colors such as yellow, purple, red and white. Traditionally, pitahaya can be propagated by seeds or vegetative structures; however, one way to obtain plants is through *in vitro* tissue culture, which allows the production of a greater number of high quality, disease-free seedlings. The work was carried out in the Plant Biotechnology Laboratory of the Sapecho Experimental Station, municipality of Palos Blancos in the department of La Paz, with the objective of establishing the best method of disinfection in the *in vitro* introduction of pitahaya cladode areoles. Data analysis was carried out under a completely randomized design (CRD), with a confidence level of 5%, the variables evaluated were contamination by fungi, contamination by bacteria, percentage of oxidation and percentage of survival. According to the results obtained, it can be mentioned that disinfection method II (Suárez *et al.*, 2013) presents 85% of total contamination by fungi, bacteria and oxidation; the disinfection method that had the highest percentage of survival was disinfection method I (Delgado *et al.*, 2021), which presents better establishment and obtaining of pitahaya seedlings *in vitro*.

KEYWORDS:

pitahaya, disinfection, areoles, cladode, *in vitro*.

AUTORES:

Marco Antonio Echenique Quezada: Docente Investigador, Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. manmaeq@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0002-7574-2258>
Daniela Mamani Paxi: Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. Danny031088@gmail.com
Carol Bacinario Yanari: Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Andrés, Bolivia. bacinariocarol@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.53287/yokt6988sb80q>

Recibido: 01/11/2024. Aprobado: 19/12/2024.



INTRODUCCIÓN

La pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) es una fruta originaria de América perteneciente a la familia de las cactáceas, subfamilia *Cactoideae*, Tribu *Hylocereeae*; existen diferentes especies de pitahaya; sin embargo, la especie *Hylocereus undatus* es la más cultivada a nivel mundial con un área de cultivo del 71,5 % y la más apreciada comercialmente debido a que sus frutos son comercializados fácilmente en mercados nacionales e internacionales (Ochoa *et al.*, 2012).

La palabra pitahaya o fruta del dragón es de origen antillano y significa “fruta escamosa” su fruto es ovalado, redondeado y alargado, de pulpa roja, blanca o amarilla y de pequeñas semillas negras (Ortiz, 2022).

Los productores de pitahaya enfrentan dos problemas: el primero es la dificultad de encontrar material vegetativo de la especie con la calidad deseada (libre de plagas y enfermedades y con las características que requiere el productor); el segundo es reunir la cantidad de material vegetativo necesario para establecer la huerta, (Mercado y Granados, 2002). Estos problemas podrían solucionarse en parte con la multiplicación de pitahaya mediante el cultivo de tejidos *in vitro*, con la posibilidad de realizar la propagación masiva de esta especie con fines comerciales y así cubrir la demanda existente por parte de los productores, al ofrecer plantas, esquejes y material vegetativo de alta calidad y libre de plagas y enfermedades, (Martínez *et al.*, 2011). Por lo anteriormente mencionado el potencial de la biotecnología moderna aplicada al mejoramiento genético de plantas tiene un valor incalculable y claramente ya ha revolucionado la producción agrícola y animal, (Fernández, 2001).

Hidalgo (2014) mencionado por Echenique M. y Almanza, L. (2023), indica que el cultivo de tejidos *in vitro*, es un conjunto de técnicas que permiten el establecimiento, mantenimiento y manipulación de cualquier parte de una planta, desde una célula hasta un organismo completo, bajo condiciones artificiales, asépticas y controladas para obtener plantas libres de patógenos, además de los otros potenciales que esta técnica presenta para el mejoramiento genético, intercambio y conservación de material a fin de lograr regenerar clones que mantengan características genéticas.

Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, se buscan alternativas para la propagación de especies frutales, a través del cultivo de tejidos vegetales *in vitro*, donde se debe garantizar la eliminación de patógenos presentes en los tejidos vegetales mediante el uso de diferentes métodos y productos de desinfección, lo que

asegurará la sanidad y calidad del material de siembra (Corozo *et al.*, 2020).

Teniendo en cuenta los aspectos anteriormente descritos, el objetivo de este trabajo fue establecer el mejor método de desinfección en el establecimiento *in vitro* del cultivo de pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) var. Amarilla mediante areolas.

MATERIALES Y METODOS

Localización

El trabajo fue desarrollado en el laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Estación Experimental Sapecho, dependiente de la Facultad de Agronomía de la Universidad Mayor de San Andrés, ubicado a 2 km de la localidad de Sapecho a 270 km de la ciudad de La Paz, Provincia Sud Yungas, municipio de Palos Blancos, cuarta sección de la Provincia Sud Yungas, geográficamente se localiza entre los paralelos 15°33' y 15°46' Latitud sur y 66°57' y 67°20' Longitud Oeste, altitud de 450 m.s.n.m., con temperatura media anual de 28°C y precipitación anual promedio de 1800 mm. (Maldonado, 2017).

Metodología

En el presente trabajo de investigación se evaluaron tres métodos de desinfección en la fase de establecimiento *in vitro* de pitahaya, mediante las areolas de los cladodios de la planta.

Medio de Cultivo

El medio de cultivo que se utilizó fue el planteado por Murashige y Skoog (1962) + 2 mg L-1 BAP (Bencil Amino Purina) + 30 g L-1 de sacarosa y 7 g L-1 de agar. El pH del medio se ajustó a 5.7, estos medios de cultivo se dispensaron en recipientes de vidrio) tubos de ensayo en una cantidad de 7 ml de medio de cultivo, antes de esterilizarlo en autoclave a 121°C y 1.1 kg cm² durante 20 min.

Material vegetal

Los explantes utilizados para la investigación fueron las areolas de los cladodios de plantas seleccionadas de pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) variedad amarilla, los mismos se colocaron en envases de vidrio con agua fría, para luego trasladarlos de manera inmediata al laboratorio para su posterior desinfección utilizando diferentes métodos de desinfección.



Figura 1. A) Planta de Pitahaya E.E. Sapecho; B) Cladodios con explantes de areolas.

Desinfección del material vegetal

Para la desinfección de los explantes, se emplearon tres métodos de desinfección, los cuales fueron modificados, utilizando concentraciones y tiempos de inmersión de los explantes en diferentes desinfectantes utilizados para cada método de desinfección utilizado en el trabajo.

Los explantes (areolas) de los cladodios de pitahaya seleccionadas se sometieron a los tratamientos propuestos para la desinfección (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción de los métodos de desinfección

Métodos de desinfección	Descripción	Tiempo
Método I (Delgado <i>et al.</i> , 2021)	Alcohol 70%	2 minutos
	Hipoclorito de sodio al 2,5%	3 minutos
	Fungicida Benlate	30 minutos
Método II (Suárez <i>et al.</i> , 2013)	Alcohol 70%	10 minutos
	Hipoclorito de sodio de 6%	10 minutos
	Fungicida Benlate	10 minutos
Método III (Rodríguez <i>et al.</i> , 2013)	Alcohol 70%	15 minutos
	Hipoclorito de sodio al 2%	15 minutos
	Fungicida Benlate	10 minutos

En la cámara de flujo laminar, se realizó tres enjuagues con agua destilada estéril, para luego realizar los cortes respectivos en los cladodios, seguidamente se sumergieron en soluciones de bactericida y antioxidante durante 1 minuto antes de la siembra de los explantes.

Siembra de explantes y condiciones de incubación

Los explantes de areolas de los cladodios de las plantas de pitahaya, se cortaron en una longitud de aproximadamente 1,5 cm seccionados con la ayuda de pinzas y bisturí estériles, tomando en cuenta que se tengan en cada explante dos areolas, los cuales se colocaron en los recipientes con 7 ml del medio de cultivo. En cada recipiente se colocó 1 explante con las areolas hacia arriba, asegurando un buen contacto de los explantes con el medio de cultivo.

Realizada la siembra, se procedió al sellado con plastilm y marcado de las muestras, para luego llevarlos a la sala de crecimiento, que tiene las siguientes condiciones: fotoperiodo 16:8 (luz, sombra), temperatura 20 - 25°C, humedad del ambiente de 70 – 75%.

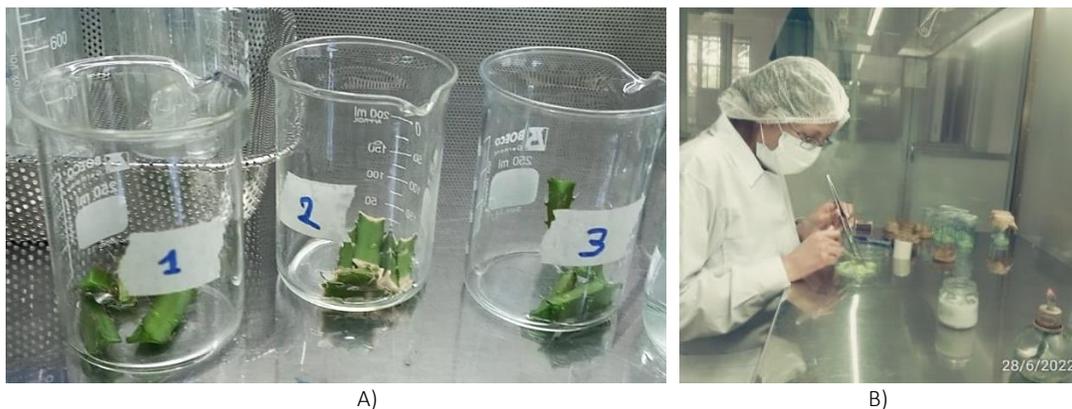


Figura 2. A) Desinfección de explantes de Pitahaya; B) Siembra de explantes de areolas.

Diseño Experimental

Se utilizaron areolas de cladodios de plantas de pitahaya, distribuidos en un diseño estadístico completamente al azar (DCA), con tres tratamientos, cada tratamiento compuesto por 10 repeticiones (Vicente, 2001). Esto para identificar cuál de los métodos de desinfección es el apropiado en el establecimiento *in vitro* de Pitahaya. Las variables en estudio fueron; Porcentaje de contaminación por hongo; porcentaje de contaminación por bacteria, porcentaje de contaminación por oxidación y porcentaje de sobrevivencia, se efectuó la comparación de medias mediante la prueba LSD Fisher, utilizando un nivel de significancia de 0,05.

Los diferentes porcentajes (contaminación por hongos, contaminación por bacteria, oxidación fenólica y sobrevivencia se determinó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% C = \frac{CEx * 100}{TE}$$

Donde: % C = Porcentaje de Contaminación, CEx = Contaminación de Explante, TE = Total de Explantes

Los hongos se detectaron por la presencia de micelio, las bacterias se detectaron por la presencia exudados presentes en la base del explante, la oxidación fenólica se observa cuando se presenta un color parduzco en la base del explante, el explante vivo es aquel que no presentó ninguna presencia de estos tipos de contaminantes.

RESULTADOS y DISCUSION

A los 15 días de haber iniciado el establecimiento *in vitro* de pitahaya, se observó los primeros explantes contaminados y oxidados, tomando en cuenta los diferentes indicios de contaminación microbiana y por oxidación fenólica.

Tabla 2. Análisis de Varianza (ANVA) Contaminación por hongo; Contaminación por bacteria, Oxidación fenolica y Sobrevivencia en el establecimiento de Pitahaya (*Hylocereus megalanthus*) var. Amarilla utilizando tres métodos de desinfección

Método de desinfección	Contaminación por Hongos (%)	Contaminación por Bacterias (%)	Oxidación Fenólica (%)	Sobrevivencia (%)
Método 1	1,62 a	1,67 a	2,01 a	1,72 a
Método 2	1,73 ab	1,68 a	2,04 a	1,85 a
Método 3	1,78 b	1,73 a	2,13 a	1,92 a
E.E.	0,03	0,08	0,05	0,06
C.V.	4 %	8 %	5 %	6 %

Porcentaje de contaminación por Hongos (%)

Los resultados del porcentaje de contaminación por Hongo, mostraron que se presentó un alto porcentaje de contaminación en los métodos de desinfección II y III, hallándose menor contaminación en el método de desinfección I.

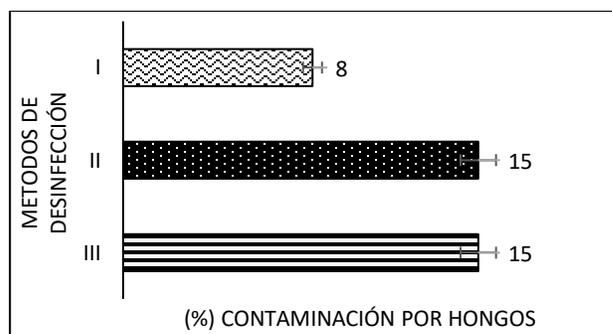


Figura 3. Porcentaje de contaminación por Hongos de explante de Pitahaya bajo la aplicación de tres métodos de desinfección.

Analizando los resultados de la figura 3, se puede indicar que el método I donde se utiliza hipoclorito de sodio al 2,5% en un tiempo de 3 minutos y fungicida durante 30 minutos (Delgado *et al.*, 2021), es el mas apropiado para eliminar hongos en los explantes de areolas de cladodios de las plantas de pitahaya.

Niubó *et al.*, (2004), mencionan que con el cultivo *in vitro* se obtienen cultivos asépticos que favorecen su propagación. Pero si se tiene en cuenta que los tejidos de los cuales se parte para iniciar el cultivo provienen del campo entonces, la probabilidad de la contaminación por levaduras y hongos filamentosos, es elevada.

Vásquez *et al.*, (2012), mencionan que para obtener un promedio de contaminación bajo se debe aumentar el porcentaje de NaClO para obtener una mejor asepsia.

La desinfección por inmersión en agentes tensoactivos (tween 20) y desinfectantes (etanol al 70% y con concentraciones de hipoclorito de sodio iguales o inferiores al 3%), reducen la contaminación de explantes (hojas cotiledonares y segmentos de cladodio) para cultivo *in vitro*. (Stella,2011)

Porcentaje de contaminación por Bacterias (%)

Los resultados del porcentaje de contaminación por bacteria, mostraron que se tuvo un mismo comportamiento en los tres métodos de desinfección, hallándose menor contaminación en el método de desinfección II.

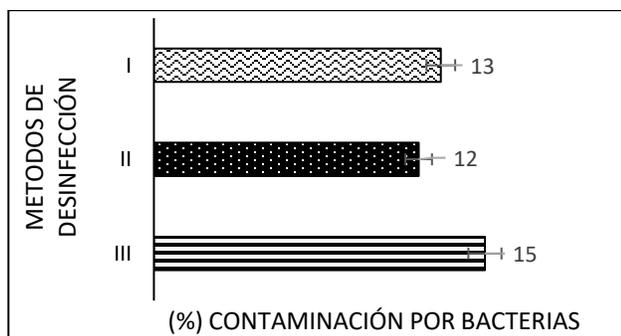


Figura 4. Porcentaje de contaminación por Bacterias de explante de Pitahaya bajo la aplicación de tres métodos de desinfección.

Analizando los resultados de la figura 4, se puede indicar que el método II donde se utiliza hipoclorito de sodio al 6% en un tiempo de 10 minutos (Suárez *et al.*, 2013), es el más apropiado para eliminar la contaminación por bacteria.

Las irregularidades presentes en la superficie de los explantes pueden servir de depósito de material contaminante como el polvo, bacterias, esporas de hongos y otros, los cuales afectarían el éxito de la desinfección superficial si los productos no logran llegar y desinfectar esas áreas, (Borges *et al.*, 1997)

Las bacterias son los contaminantes *in vitro* más comunes y que ocasionan serios problemas, porque pueden ser sistémicas, así como difíciles de detectar y eliminar (George, E., 1993; Leifert, C., 1994; Perez, J., 1998). Estos microorganismos escapan a los efectos de los esterilizantes superficiales y pueden ser inter o intracelulares.

Entre las principales fuentes de contaminación bacteriana se citan los explantes, el ambiente de los locales de trabajo, los operadores y las técnicas deficientes de esterilización, (George, E., 1993; Roca, W. y Mrogrinski, L. 1993; Pype *et al.*, 1996).

Porcentaje de Oxidación (%)

Los resultados de Oxidación fenólica, mostraron un alto porcentaje oxidación en todos los métodos de desinfección, hallándose menor oxidación en el método de desinfección III.

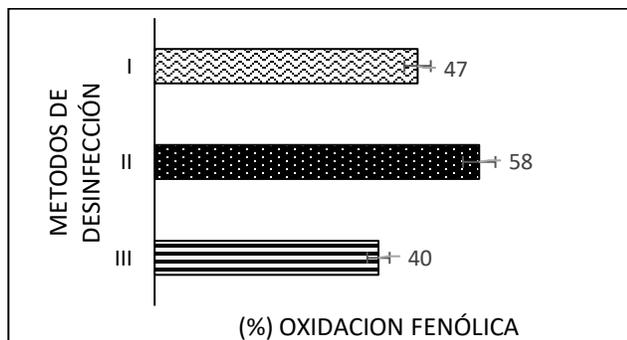


Figura 5. Porcentaje de contaminación por Oxidación de explante de Pitahaya bajo la aplicación de tres métodos de desinfección.

Analizando los resultados de la figura 5, se puede indicar que el método III, donde se utiliza hipoclorito de sodio al 2% en un tiempo de 15 minutos (Rodríguez *et al.*, 2013), es el más apropiado para evitar la oxidación fenólica en los explantes de pitahaya. También se puede advertir que el método de desinfección II (hipoclorito de sodio al 6% en un tiempo de 10 minutos) es el que presenta mayor oxidación que puede ser provocado por la alta concentración de hipoclorito de sodio, provocando la quemadura y oxidación en los explantes.

Frecuentemente, el establecimiento del cultivo *in vitro* de tejidos procedentes de plantas leñosas, como el caso de la mayoría de las especies frutales, se ve impedido por la aparición de oscurecimiento y necrosis de los tejidos, (Dalal, M., 1992; Marks, T. y Simpson, B., 1990; Yu, D. y Meredith, C., 1986).

La exposición de los explantes a concentraciones de hipoclorito de sodio superiores al 3%, y de etanol por encima del 70%, por periodos de inmersión de 10 minutos evita la contaminación, pero indujo la acumulación de clorofila en el medio de cultivo y un retraso en el crecimiento de los explantes, (Stella, R., 2011).

En el cultivo *in vitro* de frutales, la aplicación de antioxidantes tiene un efecto marcado en la supervivencia de explantes, (George, F. y Sherrington, P., 1984).

Porcentaje de Supervivencia (%)

Los resultados del porcentaje de supervivencia mostraron que el método de desinfección I presenta mayor porcentaje de supervivencia con un 32% de explantes sin contaminantes, seguido del método III, obteniendo una baja supervivencia el método de desinfección II.

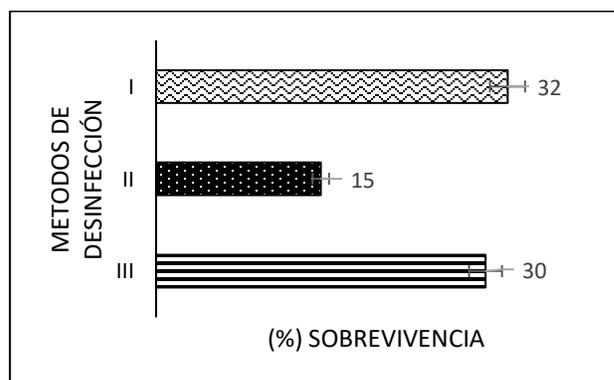


Figura 6. Porcentaje de supervivencia de explantes de Pitahaya bajo la aplicación de tres métodos de desinfección.

Analizando los resultados de la figura 6, se puede indicar que el método I donde se utiliza hipoclorito de sodio al 2,5% en un tiempo de 10 minutos y fungicida durante 30 minutos (Delgado *et al.*, 2021), es el más apropiado para obtener mayor cantidad de plantulas *in vitro*.

in vitro libres de contaminantes, mediante las aereolas de los cladodios de pitahaya.

Generalmente se considera que los tejidos de las plantas intactas y sanas son asépticos internamente y que la principal tarea de limpieza de material para explantes está limitada a la esterilización superficial (Roca y Mroginski, 1991; Montoya, 1994; Alvarado, 1998; Marulanda *et al.*, 2010),

Los organismos contaminantes pueden estar en la superficie también en el interior o en ambas partes de

la planta. Los internos son más difíciles de eliminar que los externos, requiriéndose la adición de productos fúngicos o antibióticos en el medio y utilizando otras técnicas que permitan disminuir su presencia, (Roca, W. y Mroginski, A. 1991).

Al agregar fungicidas y antibióticos en el medio de cultivo, lograron retardar la presencia de contaminantes durante el establecimiento in vitro, (Borges *et al.*, 1997).



Figura 7. Cladodios provenientes de areolas de Pitahaya en desarrollo

CONCLUSIONES

La contaminación microbiana y oxidación fenólica constituyen uno de los problemas más graves en la micropropagación de especies frutales.

El mayor porcentaje de contaminación provocado por hongos se presentaron en el método II que utilizo (hipoclorito de sodio al 6% y un tiempo de 10 minutos) con el 85% de contaminación.

El porcentaje más alto de contaminación provocado por bacterias se presentó en el método III que utilizo (hipoclorito de sodio al 2% y un tiempo de 15 minutos) con el 15% de contaminación.

El mayor problema para la introducción de explantes de pitahaya es la presencia de oxidación fenólica, seguidos de la presencia de bacterias en los explantes de pitahaya.

La utilización de 2,5% de hipoclorito de sodio durante 10 minutos para la desinfección de explantes de Pitahaya, permite obtener mayor y mejor establecimiento y sobrevivencia de explantes de pitahaya variedad amarilla.

De esta forma se establece que el mejor método de desinfección fue con el método I (Delgado *et al.*, 2021) que presenta mayor sobrevivencia de explantes, para la obtención de plántulas de pitahaya libres de enfermedades.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilera-Arango, G. A., Puentes-Díaz, C. L., & Rodríguez-Henao, E. (2021). Métodos de desinfección para el

establecimiento in vitro de dos variedades de yuca para uso agroindustrial: Germán Andrés Aguilera-Arango, Carol Liliana Puentes-Díaz, Eberto Rodríguez-Henao. *Revista De Investigación E Innovación Agropecuaria Y De Recursos Naturales*, 8(3), 21–30. <https://doi.org/10.53287/kdux7546xv19l>

Alvarado, Y. (1998). Contaminación Microbiana en el cultivo in vitro. En: Perez, J.N. Ed. *Propagación y mejora Genética de Plantas por Biotecnología*. Cuba. p. 80-104. ISBN: 959-7122-02-2

Borges, G., Estrada, A., Pérez, I., Meneses, R. (2009). Uso de distintos tratamientos de desinfección en el cultivo *in vitro* de *Dioscorea alata* L. clon caraqueño. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol.XI. No 2. 127-135.

Borges, L., H. Morales, Z. Valero, S. León de S., R. Santos, C. Castro de R. y A. Del Villar. (1997). Comparación de métodos de esterilización superficial de yemas apicales de mango (*Mangifera indica* L.) variedad Haden. *Resúmenes: VII Jornadas Científico Técnicas*. Facultad de Agronomía. La Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. p. 102

Corozo, L; Héctor, E; Macías, F; Vásquez, B; Pinargote, B; Cobeña, G; Mendoza, A; Arteaga, F. 2020. Micropropagación de dos variedades ecuatorianas de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) (en línea). *Chilean Journal of Agricultural y Animal Sciences* 36(3): 224-232. Consultado 5 dic. 2024. Disponible en <https://revistas.udec.cl/index.php/chjaas/article/view/2985/3069>

Dalal, M. A.; Sharma, B. B. y Srinivasa, M. (1990). Studies on stock plant treatment and initiation culture mode in control of oxidative browning in in vitro cultures of grapevine. *Scientia Hort*, vol. 51, p. 35-41.

Delgado, G., Vasquez, C., Esquerre, B., Bazan, P., Rojas, C. (2021). Cultivo de tejidos *in vitro* de plantas. *Propagación y*

- Conservación de germoplasma de especies económicamente importantes en Perú. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Lambayeque, Perú.
- Echenique Quezada, M. A., & Condori Almanza, L. L. (2023). Efecto de diferentes concentraciones y tiempos de inmersión de hipoclorito de sodio en el establecimiento *in vitro* de Asaí (*Euterpe precatoria* Mart). *Apthapi*, 9(3), 2572–2582. <https://doi.org/10.53287/hayv6872nv19u>
- Fernández, P. J. A. (2001). Un gran peligro para la vida sobre el planeta: Los OGM-Organismos Genéticamente Modificados. La Ingeniería Biogenética.
- George, E. (1993). Plant propagation by tissue culture. Chapter 5, Part 1. 2nd. Ed., Exegetics Ltd, 130-143 p.
- George, F. y Sherrington, P. (1984). Plant Propagation by Tissue Culture. Handbook and Directory of Commercial Laboratories, Basingtokes, England, 109p.
- Hernández, Y., Gonzales, M. (2010). Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento *in vitro* de frutales perennes. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA). San José de las Lajas. La Habana. Cuba. p.p. 19
- Hidalgo, C. (2014). Estudio preliminar para la obtención de explantes de cacao (*Theobroma cacao* L.) a través de embriogénesis somática. Tesis Lic. Daule, Ecuador. Universidad de Guayaquil. 90 p.
- Leifert, C.; Morris, C. y Waites, W. (1994). Ecology of microbial saprophytes and pathogens in tissue culture and field grown plants: reason for contamination problems in vitro. *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol. 13, p. 139-183.
- Maldonado, C. (2017). Comparación del rendimiento de diez cultivares de café (*Coffea arabica* L.) en tres años de producción en la Estación Experimental de Sapecho, provincia Sud Yungas, departamento La Paz. Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales, La Paz, vol.4, nº2, pág. 30-36, diciembre 2017. ISSN: 2518-6868
- Marks, T. y Simpson, S. (1990). Reduced phenolic oxidation at culture initiation *in vitro* following the exposure of field-grown stock plants to darkness or low levels of irradiance. *J. Hort. Sci.*, vol. 65, no. 2, p. 103-111.
- Marulanda M., López, A., Uribe, M., Gutiérrez, L. (2010). Biodiversidad y Biotecnología de la *Guadua angustifolia* Kunth. Risaralda: Universidad Tecnológica Pereira. 106 p.
- Mercado, A., Granados, D. (2002). La pitaya, biología, ecología, fisiología, sistemática y etnobotánica. Universidad Autónoma Chapingo. México. 194 p.
- Mroginski, L; Roca, W. (1991). Establecimiento de un laboratorio para el cultivo de tejidos vegetales. En: p. 1-17. W. M. Roca y L. A. Mroginski (Eds). Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. Publicación N° 151.
- Martínez, Y., Andrade, M., Villegas, A., Alía, I., Villegas, O., López V. (2011). Cultivo *in vitro* de Pitayo. Revista Chapingo Serie Horticultura 17(3): 95-105, 2011. Consultado 14 nov. 2024. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v17n3/v17n3a2.pdf>
- Montoya, H. L. (1994). Fisiología de la reproducción vegetal. Universidad Nacional de Colombia, sede Medellín.
- Niubó E, Díaz P, Oliva O, Portieles R, Díaz A, Ancheta O, Rodríguez S, Soto A, Sánchez C. (2004). Metodología para la obtención *in vitro* de plantas y tejidos de la caña de azúcar libres de contaminantes exófitos y endófitos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* 35 (3): 55-161
- Ochoa, E., García, V., Luna, J., Luna, L., Hernández, P., Guerrero, A. (2012). Características antioxidantes, fisicoquímicas y microbiológicas de jugo fermentado y sin fermentar de tres variedades de pitahaya (*Hylocereus spp*). *Scientia Agropecuaria*, 3, 279–289.
- Ortiz, H. (2022). Evaluación de dos enraizantes y tres tiempos de desaviado en dos tamaños de cladodios en la propagación de pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Consultado 22 de oct. 2024 Disponible en: <http://dspace.esepoch.edu.ec/handle/123456789/17813>
- Pérez, J. (1998). Propagación y Mejora Genética de Plantas por Biotecnología Ed. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Cuba. 390 p.
- Pype, J.; Everaert, K.; Debergh, P. (1996). Contamination by micro-artropods in tissue cultures. En: Casell, A. C. y Hayes, B. (Eds.). Abstracts of the Second International Symposium on Bacteria and Bacteria Contaminants of Plants Tissue Cultures, University College, Cork, 21p.
- Ramírez, M., Santos, R., Isea, F. (2000). Hongos contaminantes en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Psidium guajava* L. Universidad del Zulia, Facultad de Agronomía, Instituto de Investigaciones Agronómicas, Unidad Técnica Fitosanitaria. Apto. 15205. Maracaibo. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 2000, 17: 217-225
- Roca, W. y Mroginski. A. (1991). Establecimiento de un laboratorio para el cultivo de tejidos vegetales. p. 2-17. En: Cultivo de tejidos en la Agricultura. Fundamentos y aplicaciones. W. M. Roca y L. A. Mroginski (eds.). Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). Cali. Colombia. Publicación N° 151
- Rodríguez, L., Daquinta, M., Hernández, E., Cantillo, R., Vásquez, J. (2013). Propagación *in vitro* de *Escobaria cubensis* (Britton & Rose) Hunts. 345–375.
- Stella, R. (2011). Evaluación de métodos de propagación en pitahaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (Haw.) Britt & Rose y pitahaya roja *Hylocereus polyrhizus* (Haw.) Britt & Rose. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Palmira. Colombia.
- Suárez, R., María, C., Ramírez, H., Morales, J. (2013). Multiplicación de *Selenicereus megalanthus* (pitahaya amarilla) e *Hylocereus polyrhizus* (pitahaya roja) vía organogénesis somática.
- Vázquez, R., Ojeda, C., Santos, J., Moreno, G., Aguirre, V., y Lopez, P. (2012). Micropropagación de pitahaya, *Hylocereus undatus* (HAWORTH). Revista Salud Pública y Nutrición. Obtenido de Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Vicente, J. (2001). Guía Metodológica de Diseños Experimentales. Universidad Mayor de San Andrés, Facultad de Agronomía. La Paz, Bolivia. 559 p.
- Yu, D. y Meredith, C. (1986). The influence of explant origin on tissue browning and shoot production in shoot tip cultures of grapevine. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, vol. 11, no. 6, p. 972-975.