



Establecimiento y germinación in vitro de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.)

Establishment and in vitro germination of Churuja orange pitahaya (*Hylocereus* sp.) seeds

✉ Saavedra-García, José Maximino¹

¹Universidad Nacional de San Martín. Facultad de Ciencias Agrarias. Tarapoto, Perú

Recibido: 10 Ago. 2024 | Aceptado: 12 Oct. 2024 | Publicado: 20 Ene. 2025

Autor de correspondencia*: jmsaavedrag@alumno.unsm.edu.pe

Cómo citar este artículo: Saavedra-García, J. M. (2025). Establecimiento y germinación in vitro de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.). *Revista Agrotecnológica Amazónica*, 5(1), e710. <https://doi.org/10.51252/raa.v5i1.710>

RESUMEN

La presente investigación planteó como objetivo establecer y germinar en condiciones in vitro semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.), permitiendo obtener material vegetal joven en condiciones asépticas. Se introdujeron las semillas de pitahaya en condiciones in vitro, mediante el uso de etanol al 70% en diferentes tiempos (segundos) y se continuó su desinfección en diferentes soluciones desinfectantes (concentraciones de hipoclorito de sodio) y en diferentes periodos de tiempo (minutos). Se empleó un diseño completamente al azar (DCA), estableciéndose cinco tratamientos con 10 unidades experimentales o repeticiones por tratamiento, la unidad experimental correspondió a una placa con 15 semillas. Como resultados se observó que el mejor tratamiento permitió obtener 0% de contaminación y 100% de germinación de las semillas. En conclusión, se estableció un protocolo para el establecimiento y germinación in vitro de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.). Mediante el uso de una solución de etanol 70% durante 1 minuto, solución de hipoclorito de sodio 2% durante 10 minutos y tres lavados en agua destilada estéril (Tratamiento T5), se logró obtener plántulas libres de contaminación (0%) y total germinación (100%) de las semillas de pitahaya naranja de Churuja.

Palabras clave: aséptica; contaminación; desinfección; protocolo; semilla

ABSTRACT

The objective of this research was to establish and germinate in vitro seeds of Churuja orange pitahaya (*Hylocereus* sp.), allowing young plant material to be obtained under aseptic conditions. Pitahaya seeds were introduced in in vitro conditions, using 70% ethanol at different times (seconds) and continued disinfection in different disinfectant solutions (sodium hypochlorite concentrations) and in different time periods (minutes). A completely randomized design (CRD) was used, establishing five treatments with 10 experimental units or replicates per treatment; the experimental unit corresponded to a plate with 15 seeds. As a result, it was observed that the best treatment allowed obtaining 0% contamination and 100% seed germination. In conclusion, a protocol for the establishment and in vitro germination of Churuja orange pitahaya (*Hylocereus* sp.) seeds were established. Through the use of a 70% ethanol solution for 1 minute, 2% sodium hypochlorite solution for 10 minutes and three washes in sterile distilled water (Treatment T5), obtaining contamination-free seedlings (0%) and total germination (100%) of Churuja orange pitahaya seeds.

Keywords: aseptic; contamination; disinfection; protocol; seed



1. INTRODUCCIÓN

La pitahaya (*Hylocereus* sp.), comúnmente conocida como fruta del dragón, es un cultivo exótico que ha ganado popularidad a nivel mundial debido a sus propiedades organolépticas, nutricionales, fisicoquímicas y bioactivas (Verona-Ruiz et al., 2020). Esta planta muestra una notable adaptabilidad a climas áridos, creciendo sobre piedras, muros, arena, troncos secos y árboles (Ruiz Obando, 2009). La producción de pitahaya se ha expandido significativamente, con Vietnam, Colombia, México, Costa Rica y Nicaragua siendo los principales productores. Estos países exportan variedades rojas, amarillas, rosadas, de pulpa blanca y de pulpa roja principalmente a la Unión Europea y Asia, con China como el mayor importador (Viñas et al., 2012).

En Perú, la producción de pitahaya está en auge gracias a las condiciones edafoclimáticas favorables y a las excelentes propiedades nutritivas de sus frutos. Esta fruta se cultiva principalmente en Amazonas, donde crece de forma natural, así como en San Martín, Ancash, Lambayeque, Lima y Piura (Vargas Gutiérrez & López Montañez, 2020). Aunque actualmente la producción está destinada principalmente al mercado interno, también se exporta a mercados en Europa, Asia y Estados Unidos (Vargas Ramírez, 2020). En la región de San Martín, el cultivo de pitahaya está siendo promovido por asociaciones, cooperativas y empresas privadas.

A pesar de su potencial, la propagación de la pitahaya enfrenta desafíos significativos. La propagación asexual mediante esquejes es el método más utilizado debido a su facilidad y eficiencia. Sin embargo, este método requiere grandes espacios y no es eficaz para producir plántulas a gran escala debido al tamaño de los tejidos utilizados (Estrada-Luna et al., 2008). Además, la pitahaya es susceptible a diversos problemas fitosanitarios causados por especies de los géneros *Pseudomonas*, *Fusarium*, *Erwinia* y *Colletotrichum*, lo que puede resultar en pérdidas de hasta el 80% y aumentar los costos de producción hasta en un 50% (Zambrano-Forero, 2016).

El método convencional de propagación de pitahaya mediante el enraizamiento de cladodios es práctico y de bajo costo, permitiendo a los agricultores mantener cultivos homogéneos. No obstante, este proceso es susceptible a infecciones patógenas debido a las heridas mecánicas que se producen (Lee & Chang, 2022). En este contexto, la micropropagación emerge como una alternativa viable, garantizando calidad y eficiencia en la propagación de la pitahaya (Mállap-Detquizán et al., 2021). Este método permite una producción máxima y uniforme de plántulas a partir de una pequeña cantidad de material vegetal en un espacio reducido, bajo condiciones asépticas, y produce plántulas sanas y libres de enfermedades en un periodo breve (Hua et al., 2015).

El desarrollo de tal método depende en gran medida de los protocolos eficientes de regeneración de plantas. Para lograr ello es importante la disponibilidad de explantes sanos derivados de plántulas in vitro. La germinación in vitro de semillas es fundamental para obtener plántulas sanas, uniformes y libres de plagas,

resultando eficiente para posteriores protocolos de propagación in vitro. Las plántulas obtenidas in vitro son de gran importancia ya que se utilizan directamente para otros experimentos de cultivo de tejidos sin ningún tipo de esterilización (Mohammed et al., 2022).

En comparación con la propagación convencional, la micropropagación puede ser más rentable económicamente debido a la posibilidad de obtener cientos de plantas a partir de uno o pocos explantes iniciales (Lee & Chang, 2022). El éxito en la micropropagación podría incrementar significativamente la productividad y facilitar estrategias comerciales que posicionen a la pitahaya como un producto agroexportador competitivo (Zagaceta Ochoa, 2022).

En consecuencia, esta investigación tiene como objetivo principal el establecimiento y germinación in vitro de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.), permitiendo obtener material vegetal joven en condiciones asépticas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se llevó a cabo en el área de crecimiento vegetal del Laboratorio de Biología y Genética Molecular (LBGM), perteneciente a la Escuela Profesional de Agronomía de la Facultad de Ciencias Agrarias en la Universidad Nacional de San Martín (UNSM), Tarapoto, Perú.

Se recolectaron frutos maduros de pitahaya naranja de Churuja con óptimas características del distrito de Churuja, provincia de Bongará, departamento de Amazonas. La pulpa de los frutos se extrajo para aislar las semillas, utilizando arena para remover el mucílago adherido a ellas. Posteriormente, las semillas se lavaron con jabón líquido y se enjuagaron con agua destilada para su preparación. Las semillas fueron transferidas a una cabina de flujo laminar para trabajar en condiciones asépticas, donde se sumergieron en soluciones de etanol al 70% e hipoclorito de sodio (NaClO), seguidas de lavados con agua destilada estéril. Los tiempos de inmersión en cada solución y la concentración de hipoclorito de sodio variaron según los tratamientos aplicados (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos para desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja

Tratamiento	Tiempo de inmersión en Etanol 70% (segundos)	NaClO (%)	Tiempo de inmersión en % NaClO (minutos)	Lavados con agua estéril	Referencia
T1	-	0,6	10	3	Montiel-Frausto et al. (2016)
T2	20	1,5	20	4	Bozkurt et al. (2020)
T3	60	1,0	10	3	Este estudio
T4	60	1,5	10	3	Este estudio
T5	60	2,0	10	3	Este estudio

Una vez desinfectadas, las semillas se colocaron sobre papel estéril para eliminar el exceso de humedad. Luego, se introdujeron en placas Petri que contenían un medio de cultivo compuesto por sales MS (Murashige & Skoog, 1962) a mitad de concentración (2.22 g/L), sacarosa (20 g/L) y agar (6.5 g/L), el pH se ajustó a 5.8 previo a la esterilización del medio de cultivo en una autoclave. En cada placa se colocaron 15 semillas. Las placas se sellaron con parafilm y se etiquetaron con la fecha y el tratamiento correspondiente. Todos los tratamientos se incubaron en un ambiente controlado a 25 °C, con un fotoperiodo de 16 horas de luz (2000 lux) durante 30 días. Al final del periodo de incubación, se evaluaron el porcentaje de contaminación y el porcentaje de germinación de las semillas.

Para el diseño estadístico y análisis de datos del establecimiento in vitro de las semillas de pitahaya naranja de Churuja, se diseñaron cinco tratamientos con 10 repeticiones cada uno, siendo la unidad experimental una placa con 15 semillas. Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) y se realizó una comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Los datos se analizaron utilizando los paquetes estadísticos agrícolas y car del programa R (versión 3.2.0).

3. RESULTADOS y DISCUSIÓN

La investigación se enfocó en la desinfección de semillas de pitahaya naranja de Churuja para su establecimiento en condiciones in vitro, utilizando cinco tratamientos distintos (Figura 1). El mayor porcentaje de contaminación se observó en el tratamiento T1 con un 5.33%, mientras que los tratamientos T2 y T5 no presentaron contaminación (Figura 2). Los resultados de germinación de las semillas mostraron

que los tratamientos T2 y T5 alcanzaron un 100% de germinación, seguidos del tratamiento T3 con un 99%, y finalmente, los tratamientos T1 y T4 con un 98% (Figura 3).



Figura 1. Semillas de pitahaya naranja de Churuja germinadas en condiciones in vitro

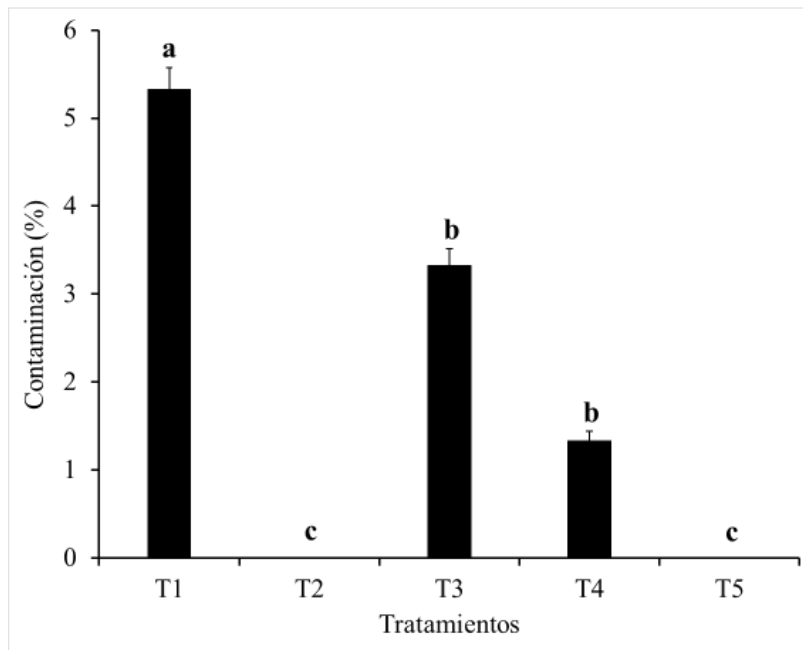


Figura 2. Porcentaje de contaminación de semillas de pitahaya naranja de Churuja a los 30 días en condiciones in vitro. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

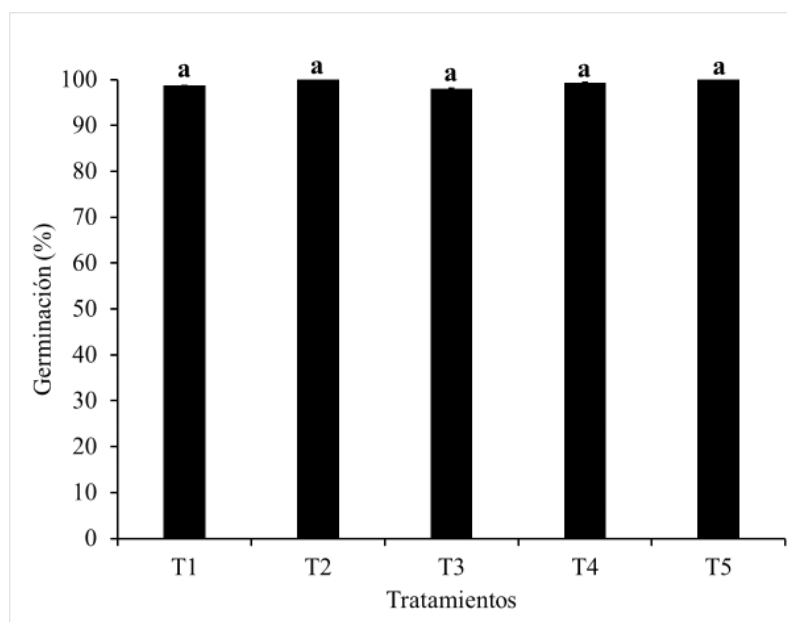


Figura 3. Porcentaje de germinación de semillas de pitahaya naranja de Churuja establecidas los 30 días en condiciones in vitro. Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

La desinfección de las semillas se realizó utilizando etanol al 70% e hipoclorito de sodio en concentraciones que oscilaron entre 0.6% y 2%, con tres enjuagues sucesivos en agua destilada estéril. Estos reactivos son esenciales para establecer un cultivo axénico y se incluyen en la categoría de desinfectantes químicos, como el cloruro de mercurio, nitrato de plata, nanopartículas de plata, hipoclorito de calcio y antibióticos, entre otros. No obstante, el hipoclorito de sodio es la opción más utilizada debido a su amplio espectro antimicrobiano, rápida acción bactericida, solubilidad en agua y relativa estabilidad (Fukusaki, 2006). Es crucial determinar las cantidades óptimas de estos reactivos, ya que concentraciones excesivas pueden alterar los procesos fisiológicos, afectando negativamente la germinación, el crecimiento de las plántulas y la regeneración de brotes (Gammoudi et al., 2022). No existe un protocolo estándar de descontaminación en el cultivo de tejidos, ya que cada genotipo y tipo de explante requiere un procedimiento específico. La eficiencia de la desinfección depende del tipo de contaminación (epífita o endofítica), el explante (tipo, edad, tamaño, estado fisiológico de la planta donante y condiciones de cultivo), así como del procedimiento de desinfección y la manipulación del investigador (Da Silva et al., 2015).

En este estudio, la desinfección con hipoclorito de sodio al 0,6% durante 10 minutos resultó en un 5.33% de contaminación, la más alta obtenida, posiblemente debido a la ausencia de etanol como desinfectante principal. Resultados similares fueron reportados por Montiel-Frausto et al. (2016), quienes obtuvieron hasta un 6% de contaminación en el establecimiento in vitro de *Hylocereus monacanthus*. En contraste, el uso de una solución de etanol al 70% durante 20 segundos seguido de hipoclorito de sodio al 1.5% durante 10 minutos resultó en 0% de contaminación, comparable a los resultados de Bozkurt et al. (2020) en el establecimiento in vitro de variedades de pitahaya (*Hylocereus* spp.).

Los tratamientos propuestos en esta investigación (T3, T4 y T5) emplearon etanol al 70% durante 1 minuto y soluciones de hipoclorito de sodio en diferentes concentraciones (1% para T3, 1,5% para T4 y 2% para T5). Los niveles de contaminación fueron 3,3%, 1,3% y 0%, respectivamente, demostrando la efectividad de estos tratamientos para el cultivo de tejidos vegetales. El tratamiento T5, que utilizó hipoclorito de sodio al 2% durante 10 minutos, mostró una óptima desinfección en un tiempo de inmersión reducido, similar a los resultados de (Bozkurt et al., 2020).

En cuanto a la germinación de las semillas de pitahaya naranja de Churuja, se logró un 100% de germinación con los tratamientos T2 y T5 a los 30 días post-establecimiento in vitro, sin diferencias

significativas entre todos los tratamientos. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Mállap-Detquizán et al. (2021), quienes lograron un 100% de germinación en pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*) utilizando etanol al 70% durante 30 segundos e hipoclorito de sodio al 2% con Tween 20 al 0,1% durante 10 minutos. Además, resultados similares fueron reportados por Montiel-Frausto et al. (2016), con tasas de germinación del 70% y 48% en *Hylocereus monacanthus* y *Hylocereus undatus*, respectivamente.

CONCLUSIONES

Se estableció un protocolo para el establecimiento y germinación in vitro de semillas de pitahaya naranja de Churuja (*Hylocereus* sp.). Mediante el uso de una solución de etanol 70% durante 1 minuto, solución de hipoclorito de sodio 2% durante 10 minutos y tres lavados en agua destilada estéril (T5), logrando 0% de contaminación y 100% de germinación. A partir de estos resultados se pueden continuar con las fases de multiplicación y posterior aclimatación de plántulas de pitahaya naranja de Churuja, permitiendo obtener gran número de plantas libres de enfermedades y genéticamente idénticas y estables.

FINANCIAMIENTO

El estudio-artículo recibió financiamiento del Instituto de Investigación de la Universidad Nacional de San Martín mediante Resolución N°623-2022-UNSM/CU-R.

CONFLICTO DE INTERESES

No existe ningún tipo de conflicto de interés relacionado con la materia del trabajo.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización; Curación de datos; Análisis formal; Adquisición de fondos; Investigación; Metodología; Visualización; Recursos; Redacción - borrador original; Redacción - revisión y edición: Saavedra-García, J. M.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bozkurt, T., İnan, S., & Dündar, İ. (2020). Micropropagation of different pitaya varieties. *International Journal of Agricultural and Natural Sciences*, 13(1), 39–46. <https://ijans.org/index.php/ijans/article/view/496>
- Da Silva, J. A. T., Winarto, B., Dobránszki, J., & Zeng, S. (2015). Disinfection procedures for in vitro propagation of Anthurium. *Folia Horticulturae*, 27(1), 3-14. <https://doi.org/10.1515/fhort-2015-0009>
- Estrada-Luna, A. A., Martínez-Hernández, J. de J., Torres-Torres, M. E., & Chablé-Moreno, F. (2008). In vitro micropropagation of the ornamental prickly pear cactus *Opuntia lanigera* Salm–Dyck and effects of sprayed GA3 after transplantation to ex vitro conditions. *Scientia Horticulturae*, 117(4), 378-385. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.05.042>
- Fukusaki, S. (2006). Mechanisms of Actions of Sodium Hypochlorite in Cleaning and Disinfection Processes. *Biocontrol Science*, 11(4), 147-157. <https://doi.org/10.4265/bio.11.147>
- Gammoudi, N., Nagaz, K., & Ferchichi, A. (2022). Establishment of optimized in vitro disinfection protocol of *Pistacia vera* L. explants mediated a computational approach: multilayer perceptron–multi–objective genetic algorithm. *BMC Plant Biology*, 22(1), 324. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03674-x>

- Hua, Q., Chen, P., Liu, W., Ma, Y., Liang, R., Wang, L., Wang, Z., Hu, G., & Qin, Y. (2015). A protocol for rapid in vitro propagation of genetically diverse pitaya. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 120(2), 741-745. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0643-9>
- Lee, Y.-C., & Chang, J.-C. (2022). Development of an Improved Micropropagation Protocol for Red-Fleshed Pitaya 'Da Hong' with and without Activated Charcoal and Plant Growth Regulator Combinations. *Horticulturae*, 8(2), 104. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8020104>
- Mállap-Detquizán, G., Vilca-Valqui, N. C., Meléndez-Mori, J. B., Huaman-Huaman, E., & Oliva, M. (2021). Multiplicación in vitro de pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*) a partir de plántulas obtenidas in vitro. *Agronomía Mesoamericana*, 45472. <https://doi.org/10.15517/am.v33i1.45472>
- Mohammed, M., Munir, M., & Ghazzawy, H. S. (2022). Design and Evaluation of a Smart Ex Vitro Acclimatization System for Tissue Culture Plantlets. *Agronomy*, 13(1), 78. <https://doi.org/10.3390/agronomy13010078>
- Montiel-Frausto, L. B., Enríquez, J. R., & Cisneros, A. (2016). Propagación in vitro de *Hylocereus monacanthus* (Lem.). *Bioteología Vegetal*, 16(2), 113-123. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/516/html>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Ruiz Obando, L. E. (2009). *Estudio de medios de cultivos, explantes, frascos y sustratos en cladodio de pitahaya (Hylocereus undatus Britton et Rose) cv. Chocoya de Nicaragua en fase de micropropagación*. Universidad Nacional Agraria.
- Vargas Gutiérrez, K. A., & López Montañez, R. N. (2020). *Cultivo de pitahaya (Hylocereus megalanthus) en la región Amazonas* (p. 38). Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA. <https://www.inia.gob.pe/wp-content/uploads/2020/01/Pitahaya.pdf>
- Vargas Ramírez, I. K. (2020). *Comparación de diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP) en la fase de multiplicación de pitahaya roja (hylocereus undatus), en el laboratorio de cultivo de tejidos In Vitro, FCA- UNASAM, distrito de Independencia, provincia de Huaraz, Ancash*. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo.
- Verona-Ruiz, A., Urcia-Cerna, J., & Paucar-Menacho, L. (2020). Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Culture, physicochemical characteristics, nutritional composition, and bioactive compounds. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 439-453. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.16>
- Viñas, M., Fernández-Brenes, M., Azofeifa, A., & Jiménez, V. M. (2012). In vitro propagation of purple pitahaya (*Hylocereus costaricensis* [F.A.C. Weber] Britton & Rose) cv. Cebra. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 48(5), 469-477. <https://doi.org/10.1007/s11627-012-9439-y>
- Zagaceta Ochoa, A. M. (2022). *Estrategias competitivas para la exportación de pitahaya en la Asociación La Flor de Pitahaya del distrito de Churuja – 2021* [Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo]. <http://hdl.handle.net/20.500.12423/4751>
- Zambrano-Forero, C. J. (2016). Evaluación de reguladores de crecimiento en la propagación in vitro de *Hylocereus megalanthus* (pitahaya amarilla). *Revista Tumbaga*, 1(10), 76-87. <https://revistas.ut.edu.co/index.php/tumbaga/article/view/994>