

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO SEDE ORELLANA FACULTAD DE RECURSOS NATURALES CARRERA AGRONOMÍA

EFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO EN LA CALIDAD DEL POLEN DE PITAHAYA ROJA (Hylocereus sp), CANTÓN LA JOYA DE LOS SACHAS, PROVINCIA DE ORELLANA

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Proyecto Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGRÓNOMA

AUTORA: DAYSI MARIBEL LAPO MONTALVÁN **DIRECTOR:** Ing. RODRIGO ERNESTO SALAZAR LÓPEZ, MSc.

El Coca – Ecuador

©2022, Lapo Montalván Daysi Maribel

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, LAPO MONTALVÁN DAYSI MARIBEL, declaro que el presente Trabajo de Integración

Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento

que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de

Integración Curricular; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de

Chimborazo.

El Coca, 30 de noviembre del 2022

Daysi Maribel Lapo Montalván

220053335-0

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE RECURSOS NATURALES CARRERA AGRONOMÍA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular, Tipo: Proyecto Experimental, EFECTO DE LA TEMPERATURA Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO EN LA CALIDAD DEL POLEN DE PITAHAYA ROJA (Hylocereus sp), CANTÓN LA JOYA DE LOS SACHAS, PROVINCIA DE ORELLANA, realizado por la señorita: DAYSI MARIBEL LAPO MONTALVÁN, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
Ing. Juan Gabriel Chipantiza Masabanda MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-11-30
Ing. Rodrigo Ernesto Salazar López MSc. DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICHI A R.	2	2022-11-30
DE INTEGRACIÓN CURRICULAR Ing. Amanda Elizabeth Bonilla Bonilla MSc. ASESOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	Quanto Buillo	2022-11-30

DEDICATORIA

Esta tesis le dedico primeramente a Dios por ser mi guía y darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados, a mis padres José Ismael Lapo Lapo y María Dorila Montalván Calva por tanto amor, apoyo, consejos, su inalcanzable labor al educarme me han permitido cumplir un sueño más y porque nunca han perdido su fe en mí y en que podría lograrlo. A mis hermanos Johnny y Katty por su cariño y nunca dejarme sola durante todo este proceso. A toda mi familia entera y amigos por sus oraciones, consejos, palabras de aliento y por siempre impulsarme a ser mejor persona y lograr con éxito mis objetivos. Finalmente dedico mi tesis a los docentes de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por impartir sus conocimientos que hoy poseo y guiarme para ser una mejor profesional.

Daysi

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por la vida, salud y por darme la fuerza y sabiduría para cumplir mis metas y sueños anhelados.

A mis queridos padres José Lapo y Dorila Montalván que han sido el motor de mi vida, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio. Siempre han sido mis mejores guías de vida. A mis hermanos Johnny y Katty gracias por su amor y apoyo incondicional, por preocuparse por mí, por compartir sus vidas, pero sobre todo gracias por estar en otro momento tan importante de mi vida.

De igual manera a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, a mis queridos docentes gracias por su paciencia, dedicación y amistad, de manera especial al Ing. Rodrigo Salazar e Ing. Amanda Bonilla, director y miembro de mi Trabajo de Integración Curricular, quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pudiera crecer día a día como profesional. A la Estación Experimental Central Amazónica (EECA) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, por abrirme las puertas de tan prestigiosa institución y permitirme realizar las prácticas pre profesionales y a la vez el Trabajo de Integración Curricular, a través de estas líneas quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Ing. Yadira Vargas del Programa de Fruticultura por compartir sus conocimientos, paciencia y confianza en mí depositada, también quiero agradecer a todo el equipo de trabajo del Programa de Fruticultura y Departamento de Protección Vegetal.

Agradezco al Sr. Ciro Castro por permitirme desarrollar este tema de investigación con los ecotipos de pitahaya roja que se encuentra cultivando en su finca.

A mis queridos compañeros hoy nos toca cerrar un capítulo maravilloso en esta historia de vida y no puedo dejar de agradecerles por su apoyo y constancia, al estar en las horas más difíciles y por compartir horas de estudio.

Por último, pero no menos importante, agradezco a toda mi familia y amigos que de una u otra manera estuvieron a mi lado apoyándome. Gracias a todos.

Daysi

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE	E DE TABLAS	ix
ÍNDICE	E DE ILUSTRACIONES	X
ÍNDICE	E DE ANEXOS	x i
RESUM	IEN	xi i
ABSTR	ACT	xiii
INTRO	DUCCIÓN	1
CAPÍTI	ULO I	
1.	DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA	
1.1.	Antecedentes	
1.2.	Identificación del problema	3
1.3.	Justificación	3
1.4.	Objetivos	4
1.4.1.	Objetivo General	4
1.4.2.	Objetivos Específicos	4
~ . ~		
CAPÍTI	ULO II	
2.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL	5
2.1.	Antecedentes de la investigación	5
2.2.	Marco Conceptual	6
2.2.1.	Producción de Pitahaya en Ecuador	6
2.2.2.	Pitahaya	7
2.2.2.1.	Origen y distribución	7
2.2.2.2.	Taxonomía	8
2.2.2.3.	Morfología	9
2.2.2.4.	Composición nutricional	10
2.2.2.5.	Fenología	10
2.2.2.6.	Polinizadores de la pitahaya	11
2.2.3.	Beneficios de la pitahaya	11
2.2.4.	El polen	12
2.2.4.1.	Estructura del grano de polen	12
2242	Corminación del grano de nolen	13

2.2.4.3.	Métodos de germinación de polen	13
2.2.4.4.	Temperatura y tiempo de almacenamiento del polen	15
CAPÍTU	ULO III	
3.	MARCO METODOLÓGICO	16
3.1.	Materiales y métodos	16
3.1.1.	Área de estudio	16
3.1.2.	Materiales	16
3.1.3.	Metodología	17
3.1.3.1.	Factores en estudio	17
3.1.4.	Unidad experimental	18
3.1.5.	Tratamientos	18
3.1.6.	Análisis estadístico	19
3.1.7.	Análisis funcional	19
3.1.8.	Métodos de evaluación	19
3.1.8.1.	Germinación	19
3.1.9.	Manejo específico del experimento	20
3.1.9.1.	Fase de campo	20
3.1.9.2.	Fase de laboratorio	20
CAPÍTU	ULO IV	
4.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	22
4.1.	Análisis de resultados	22
4.1.1.	Ecotipos	22
4.1.2.	Temperatura de almacenamiento	23
4.1.3.	Tiempo de almacenamiento	24
4.2.	Granos de polen germinados de ecotipos de pitahaya roja	26
4.2.1.	Ecotipo 1	26
4.2.2.	Ecotipo 2	26
4.2.3.	Ecotipo 3	27
4.2.4.	Ecotipo 4	28

CONCLUSIONES	29
RECOMENDACIONES	30
BIBLIOGRAFÍA	
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-2:	Clasificación taxonómica de la pitahaya8
Tabla 2-2:	Morfología de la Pitahaya9
Tabla 3-2:	Composición nutricional de la pitahaya10
Tabla 4-2:	Fases de la producción de polen
Tabla 5-2:	Factores influyentes en el proceso de producción de polen
Tabla 6-2:	Métodos de germinación de polen
Tabla 1-3:	Materiales y equipos que se utilizaron en este proyecto experimental16
Tabla 2-3:	Características del experimento para el estudio de viabilidad y germinación del polen
	de pitahaya roja
Tabla 3-3:	Tratamientos para el estudio de la viabilidad y germinación del polen de pitahaya
	roja
Tabla 4-3:	Análisis de Varianza para DCA en arreglo factorial 4 x 2 x 3 con 10 repeticiones 19
Tabla 1-4:	Efectos principales y de interacción para la germinación de granos de polen
	determinado para cada factor
Tabla 2-4:	Valores medios de N° granos de polen germinado y total determinados para el factor:
	Ecotipos
Tabla 3-4:	Valores medios de N° granos de polen germinado y total determinados para el factor:
	Temperatura de almacenamiento
Tabla 4-4:	Valores medios de N° granos de polen germinado y total determinados para la
	interacción del factor: Temperatura de almacenamiento y Ecotipos23
Tabla 5-4:	Valores medios de N° granos de polen y total determinados para el factor: Tiempo
	de almacenamiento
Tabla 6-4:	Valores medios de N° granos para la interacción del factor: Horas de
	almacenamiento y Ecotipos

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1-2:	Morfología de la flor de pitahaya	9
Ilustración 1-4:	Granos de polen germinado a 25°C	26
Ilustración 2-4:	Granos de polen germinado a 4°C	26
Ilustración 3-4:	Granos de polen germinado a 25°C	26
Ilustración 4-4:	Granos de polen germinado a 4°C	27
Ilustración 5-4:	Granos de polen germinado a 25°C	27
Ilustración 6-4:	Granos de polen germinado a 4°C	27
Ilustración 7-4:	Granos de polen germinado a 25°C	28
Ilustración 8-4:	Granos de polen germinado a 4°C	28

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: EVALUACIÓN DE FLORES DE LOS ECOTIPOS DE PITAHAYA ROJA

ANEXO B: RECOLECCIÓN DEL POLEN

ANEXO C: COLOCACIÓN DEL POLEN EN EL MEDIO DE GERMINACIÓN

ANEXO D: GERMINACIÓN DEL POLEN

ANEXO E: LECTURA DE LA GERMINACIÓN DEL POLEN EN UN MICROSCOPIO

ÓPTICO

ANEXO F: GRANOS DE POLEN GERMINADOS

ANEXO G: MEZCLA DE LOS REACTIVOS PARA EL MEDIO DE CULTIVO

ANEXO H: ESTERILIACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

ANEXO I: COLOCACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO EN LAS CAJAS PETRI

RESUMEN

La investigación consistió en determinar el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la calidad del polen de Hylocereus sp (pitahaya roja), cantón La Joya De los Sachas. Se usaron tres factores diferentes para el estudio, los cuales fueron: el ecotipo, tres de pitahaya roja pulpa roja y uno de pitahaya roja pulpa blanca, las temperaturas de almacenamiento, siendo de 4 y 25 °C, tiempo de almacenamiento, de 0, 24, 48 y 72 horas. El polen se recolectó en tubos de eppendorf a las 10 de la noche, luego se los colocó en un medio de cultivo sólido para germinarlo, también se determinó el porcentaje de germinación. El polen que se almacenó a 4 °C, se colocó en un tubo eppenorf cerrado, se introdujo en un frasco, se etiquetó y se colocó en el refrigerador y se almacenó, el que se almacenó a 25 °C, fue colocado en un tubo eppenorf abierto, se introdujo en un frasco que contiene 3g de sílica gel, se cerró y se etiquetó y almacenó. Los datos que se obtuvieron fueron sometidos a análisis de varianza utilizando modelos lineales generales y mixtos y la diferencia entre medias de los tratamientos se estimó usando la diferencia mínima significativa con nivel de significancia del 5%. El ecotipo 1 presentó mayor porcentaje de germinación con un 20%, mientras que los otros presentaron valores debajo del 18%, la temperatura de 4 °C de almacenamiento presentó 19 % de germinación frente al 11 % de 25 °C, el tiempo de almacenamiento de cero horas presentó 40 % de germinación, los otros tuvieron valores por debajo de 9 %. Se concluyó que la viabilidad del polen disminuye con el paso del tiempo, se recomienda el uso del polen inmediatamente después de su recolección.

Palabras clave: <ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)>, <ECOTIPO>, <GERMINACIÓN>, <LA JOYA DE LOS SACHAS (CANTÓN)>, <PITAHAYA ROJA (*Hylocereus* sp.)>, <POLEN>.

Sorte Herens.

2423-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The research consisted in determining the effect of temperature and storage time on quality of

Hylocereus sp (red pitahaya) pollen, in Joya of Sachas canton. Three different factors were used

for the study, the ecotype, three of red pitahaya with red pulp and one red pitahaya with white

pulp, storage temperatures, being 4 and 25 °C, storage time, 0, 24, 48 and 72 hours. The pollen

was collected in eppendorf tubes at 10 o'clock at night, then placed in a solid culture medium to

germinate, and the germination percentage was also determined. Pollen was stored at 4 °C, was

placed in a closed eppenorf tube, placed in a jar, labeled and placed in the refrigerator and stored,

that stored at 25 °C, was placed in an open eppenorf tube, placed in a jar containing 3g of silica

gel, closed and labeled and stored. The data obtained were submitted to analysis of variance using

general linear and mixed models and the difference between measurements of the treatments was

estimated using the minimum significant difference with a significance level of 5%. The ecotype

 $1\ presented$ the highest germination percentage with 20% , while the others presented values below

18%, the storage temperature of 4 $^{\circ}\text{C}$ presented 19% germination compared to 11% at 25 $^{\circ}\text{C}$, the

storage time of zero hours presented 40% germination, the others had values below 9%. It was

concluded the viability of pollen decreases with the time, the use of pollen immediately after

collection is recommended.

Key words: <ANALYSIS OF VARIANCE (ANOVA)>, <ECOTYPE>, <GERMINATION>,

<LA JOYA DE LOS SACHAS (CANTON)>, <RED PITAHAYA (Hylocereus sp.)>,

<POLLEN>.

Translated by:

Nancy de las Mercedes Barreno Silva

DOCENTE INGLES ESPOCH

xiii

INTRODUCCIÓN

La pitahaya, también conocida como fruta del dragón, pertenece al género *Hylocereus* que incluye alrededor de 17 especies (Ramírez et al., 2020, p. 5), la pitahaya es endémica de México, Martinica y Colombia y se cultiva en Nicaragua, Guatemala, Costa Rica, Perú, Venezuela, China, Bahamas, Bermudas, Australia, Estados Unidos, India, Tailandia, Taiwán, Malasia, Filipinas, Japón, Nueva Zelanda, Vietnam, España, Camboya, Isla Reunión, Indonesia e Israel (Maratos y Pessoa, 2019, p. 130; Ramírez et al., 2020, p. 2).

Se ha descrito una amplia gama de efectos beneficiosos para la salud de la pitahaya desde el período maya prehispánico, ya que los mayas usaban la fruta como hipoglucemiante, diurético, para proteger contra enfermedades del corazón, como desinfectante de heridas, para la disolución de tumores con savia del tallo y como cura para la disentería (Jiang et al., 2021, p. 204; Maratos y Pessoa 2019, p. 136).

En Ecuador la agricultura representa un ingreso importante dentro de la economía del país, siendo el cultivo de pitahaya una de las frutas no tradicionales cultivadas para consumo nacional y exportación, y ubicando al país de Hong Kong como uno de sus mejores consumidores (Valladares y Potes, 2019, p. 1). Por ende, el ingreso del cultivo de esta especie ha causado un efecto positivo en la economía del país, puesto que aporta como fuente de trabajo para muchos ecuatorianos y permite el ingreso de divisas, mejorando la vida de muchos pobladores.

Sin embargo, al ser una especie que solo abre sus flores en la noche el proceso de polinización se ve afectado, puesto que supone realizar la polinización de forma manual para así poder garantizar la productividad de la siembra (Magraner, 2021, p. 21). Por ello es importante comprender que el polen contiene células reproductoras masculinas que al momento de ser desprendido de la flor empiezan a perder viabilidad, por ende, para una adecuada polinización se debe considerar factores como la humedad del polen y la temperatura de almacenamiento de este. En base a lo expuesto y en concordancia con Verona et al. (2020, p. 443) la demanda de pitahaya en los países productores obliga a investigar programas mejorados que permitan extender sus áreas de cultivo y por ende su producción.

Una de las premisas básicas para el éxito en los programas de mejoramiento genético de cualquier tipo, es el conocimiento previo sobre la viabilidad del polen, cuyos objetivos en el caso de la pitahaya es la búsqueda de cultivares más atractivos estéticamente y ricos en nutrientes, aunque existen muchos métodos destinados a identificar la viabilidad del polen, la germinación in vitro se considera una forma práctica y precisa. En este sentido, es necesario preparar un medio de cultivo que contenga elementos orgánicos e inorgánicos que reproduzcan de forma similar las condiciones que ofrece la estructura floral femenina al recibir el grano de polen, que es diferente para cada especie (Fagundes et al., 2021, pp. 556-557).

La germinación del polen está influenciada por varios factores, como la especie, estación del año, composición y concentración del medio, temperatura y tiempo de incubación, estado de desarrollo de la flor en el momento de la recolección, método de recogida, y condiciones de almacenamiento (Fagundes et al., 2021, pp. 556-557).

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1. Antecedentes

El cultivo de pitahaya ha recibido una importante atención durante las últimas décadas, lo cual ha incrementado la demanda del fruto. Sin embargo, muchas de las variedades de esta especie son consideradas auto incompatibles transformando así a los polinizadores como entes insuficientes en el proceso de polinización, por lo tanto, es necesario emplear la polinización manual, lo cual requiere un amplio conocimiento sobre el polen y la polinización (Li et al., 2020, pp. 2-3).

Además, se deben contemplar factores como las altas temperaturas dentro de los procesos de floración de la planta, puesto que temperaturas que excedan las condiciones óptimas pueden generar una fructificación deficiente, disminución del peso, semilla y retraso en el desarrollo de la fruta (Chu y Chang, 2022, pp. 1-2).

1.2. Identificación del problema

Por otro lado, al ser la pitahaya una especie que florece en la noche el proceso de polinización puede tener ciertas limitantes relacionadas a la viabilidad del polen, puesto que esta dependerá del tiempo transcurrido hasta que se desarrolle el proceso de polinización por completo. Algunos estudios como los de Li et al. (2020, pp. 2-3) mencionan que a temperaturas de 4 °C el polen aún puede usarse en el proceso de polinización del día siguiente o incluso el día siguiente en producción, sin embargo, esto no garantiza el cuajado y tamaño del fruto.

En base a lo expuesto anteriormente la pitahaya es una fruta de gran demanda y ampliamente producida en el Ecuador, aunque es un cultivo nuevo en la Joya de los Sachas tiene importantes beneficios económicos, sociales y medicinales, por ende, es importante garantizar altos niveles de producción y estándares de calidad respecto al fruto.

1.3. Justificación

En el proceso de polinización de la pitahaya se pueden presentar limitantes en varias especies del género *Hylocereus*, puesto que es posible que la variedad polinizadora y principal, no representen una sincronía en su floración o algunos materiales demuestren incompatibilidad e inter compatibilidad, por lo que evaluar la viabilidad de los granos de polen para iniciar procesos de mejoramiento genético es importante identificar si los materiales pueden ser utilizados como progenitores masculinos, femeninos o masculino/femenino. Además, conocer el % de

germinación después de varios periodos de almacenamiento del polen fresco es de vital importancia para la viabilidad del mismo, ya que habitualmente se conserva más a temperatura de 4 y -18°C debido a que la actividad del polen solo es capaz de mantenerse viable alrededor de un día.

Por lo antes mencionado surge la necesidad de almacenar el polen de ecotipos de pitahaya roja, con el fin de que este no pierda su vigor y sea un elemento eficiente para el proceso de polinización manual de varios ecotipos de pitahaya roja. Por lo tanto, debido a que en campo se ha encontrado ecotipos de pitahaya que son compatibles e incompatibles, en esta investigación se pretende determinar el porcentaje de germinación de granos de polen en diferentes tiempos y períodos de almacenamiento para comprobar su viabilidad.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Determinar el efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento en la calidad de los granos de polen de pitahaya roja (*Hylocereus sp.*) para determinar el porcentaje de viabilidad, en el cantón La Joya de los Sachas, provincia de Orellana.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Evaluar la calidad de polen de cuatro ecotipos de pitahaya roja, en base a la germinación de granos de polen para determinar el ecotipo que puede ser utilizado como progenitor masculino.
- Comparar la calidad de los granos de polen almacenados a temperatura ambiente y en refrigeración y el tiempo de almacenamiento para determinar cuál ecotipo puede ser almacenado para futuras polinizaciones dirigidas.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

2.1. Antecedentes de la investigación

La pitahaya roja pulpa roja (*Hylocereus sp.*) es una fruta exótica que en la actualidad se ha hecho popular a nivel internacional debido a su delicioso sabor, propiedades curativas y altos niveles de nutrientes (Verona et al., 2020, p. 439), es una planta que se cultiva principalmente en países asiáticos (Fagundes et al., 2021, pp. 556). Esta fruta presenta alto contenido de nutrientes, ácido ascórbico y betalaína, que son pigmentos utilizados como colorantes, incrementando el interés de su producción y comercialización, especialmente por la parte agroindustrial (Verona et al., 2020, pp. 440-441).

En Ecuador 60% de la producción de fruta de pitahaya se cosecha entre los meses de febrero y marzo y el 40% restante durante los meses junio a diciembre. Las provincias con mayores niveles de producción a nivel nacional son Morona Santiago, Guayaquil, Santo Domingo, Manabí, el Oro y Pichincha. En la Región Amazónica se cultiva pitahaya roja de carne blanca (*Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose) y una diversidad de pitahaya roja pulpa roja (*Hylocereus sp.*) con escasos estudios de comportamiento agronómico y mejoramiento genético (Pereira et al., 2021, p. 1). En la provincia de Orellana especialmente en el cantón La joya de los Sachas la producción de pitahaya está incrementando, así como su exportación. Sin embargo, se ha detectado autoincompatibilidad e intercompatibilidad entre materiales de pulpa roja; además, se ha detectado que algunos ecotipos florecen unas horas antes, lo que ha provocado el abortó de flores. Para tratar de minimizar está problemática es importante conocer la germinación de los granos de polen a diferentes temperaturas y tiempos de almacenamiento con la finalidad de poder utilizar el polen de ciertos ecotipos en los materiales que se retrasan en el momento de la floración (García 2021, p. 1; Muñoz, 2022, p. 8). Especialmente porque el éxito de los programas de mejoramiento genético depende del porcentaje de viabilidad de los granos de polen (Li et al., 2020, pp. 2-3).

Hay varios estudios que mencionan además que hay varios factores abióticos que afectan la germinación de los granos de polen, uno de ellos es la temperatura, cuando está supera los 35°C la viabilidad de polen es del 10% y cuando la temperatura es de 25°C la viabilidad y germinación de los granos de polen es mayor al 61% (Chu y Chang, 2022, pp. 1-2). Cuando se realizan evaluaciones a nivel in vitro se ha determinado que la viabilidad de polen es del 63% cuando se conserva a una temperatura de 4°C y con humedad relativa del 70%; sin embargo, la viabilidad va disminuyendo al pasar las horas (Ramos, 2018, p. 1).

A nivel in vitro para evaluar la viabilidad de granos de polen se utiliza la técnica de tinción, que reacciona con los componentes celulares de los granos de polen provocando que los granos de polen viables adquieran un color rojo intenso y cuando el polen no es viable la coloración es menos intensa (tenue) (De Jesus et al., 2018, p. 78; Nunes et al., 2012, p. 185).

En cambio, para la germinación de los granos de polen se preparará un medio de cultivo con elementos orgánicos e inorgánicos que ofrecen a los granos de polen condiciones similares al de una estructura floral femenina (Pereira et al., 2021, p. 556). Sin embargo, la germinación de los granos de polen está influenciada por la estación del año, composición y concentración del medio, temperatura, tiempo de incubación, estado de desarrollo de la flor, método de recolección y condiciones de almacenamiento (Fagundes et al., 2021, pp. 556-557).

Ramos (2018, p. 3) menciona que se puede utilizar solo agar, sacarosa y agua destilada lográndose germinaciones del 63,03%.

2.2. Marco Conceptual

2.2.1. Producción de Pitahaya en Ecuador

En Ecuador, según Poveda (2018, p. 9) el cultivo tiene un gran potencial agroecológico para la producción de pitahaya, especialmente en la Amazonía y zonas subtropicales. En 2003 se origina la primera asociación de productores de pitahaya; denominada Asopitahaya con aproximadamente 70 socios, con una producción de aproximadamente de 300 toneladas. Los principales destinos de exportación de pitahaya en el año 2015 fueron los países como Hong Kong, Singapur e Indonesia, los cuales tenían una participación del 53%, 20% y 7% respectivamente. Otros mercados importadores de frutas de Europa son Holanda y Francia, con una participación del 5% y 3% respectivamente.

En Ecuador, el 99% de la producción de pitahaya se cosecha con fines de comercialización en mercado nacional e internacional, mientras que el 1% son productos destinados al autoconsumo, en distintas regiones del lugar donde se encuentran los cultivos, o porque el producto no está en buenas condiciones para la comercialización externa (Moreira y Murillo, 2022, pp. 21-22).

García (2021, p. 7) menciona que en Ecuador se cultiva de forma comercial la pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) y la pitahaya amarilla (*Selenicereus. megalanthus*), esta última se encuentra especialmente en las provincias de Loja, noroeste de Pichincha, Imbabura, Morona Santiago y Chimborazo, extendiéndose a la Amazonía ecuatoriana en las provincias Orellana y Sucumbíos; mientras que la pitahaya roja se cultiva a lo largo de la costa del Ecuador, se diferencia por contar con la presencia de brácteas en lugar de espinas y su pulpa puede ser blanca o roja clara a nivel del uso de suelo el cultivo de pitahaya está por encima de las 2000 hectáreas, siendo la pitahaya amarilla (*S. megalanthus*) la que abarca la mayoría de esta superficie. En Ecuador el 60% de la

producción se obtiene a inicios de año, el 5% se cosecha en el mes de junio, el 15% desde septiembre hasta la primera semana de octubre, finalmente un 20% entre mediados de noviembre y primera semana de diciembre.

En la actualidad la pitahaya se considera un producto de exportación rentable debido a sus características morfológicas y nutricionales, por ello se da a conocer el producto al mundo a través de las ferias internacionales en diferentes países (García, 2021, pp. 7-8).

2.2.2. Pitahaya

Según Marcelo (2020, pp. 7-8) el término genérico "pitahaya" incluye varias especies diferentes, lo que a menudo puede ser fuente de confusión. En la actualidad, sólo se encuentran en el mercado unas pocas especies de pitahaya: la pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*), una fruta con piel amarilla y pulpa blanca, y la pitahaya roja (*Hylocereus spp.*), una fruta con piel roja y pulpa blanca o roja. Estas especies son nativas de América tropical y subtropical.

Por otro lado, Mangaña (2020, p. 53) menciona que los factores que pueden afectar la composición de las frutas incluyen la madurez en la cosecha, diferencias genéticas, condiciones ambientales previas a la cosecha, condiciones de almacenamiento y el procesamiento posterior a la cosecha. De la misma forma que otras frutas la pitahaya generalmente se conservan a temperaturas bajas en la etapa posterior a la cosecha y durante el almacenamiento por parte de los consumidores. Las condiciones de almacenamiento postcosecha son críticas porque la pitahaya roja tiene un alto contenido de humedad que resulta en una vida útil corta cuando se almacena a temperatura ambiente (Ramos, 2018, p. 2).

2.2.2.1. Origen y distribución

La mayoría de las especies de *Hylocereus* son originarias principalmente de América Latina (probablemente de México y Colombia), y otras posiblemente de Las Islas del Caribe. En estas regiones, la pitahaya se cultiva desde hace muchos años. Los estudios etnobotánicos (región mesoamericana) indican que las especies de *Hylocereus* fueron domesticadas por las culturas precolombinas y han sido una fuente de alimento para los habitantes.

Las especies de *Hylocereus* son semiepífitas y, por lo tanto, suelen preferir crecer en condiciones de media sombra (condiciones proporcionadas en la naturaleza por los árboles). Algunas especies toleran sitios totalmente expuestos a la radiación solar (*H. undatus*, *H. costaricensis* y *H. purpusii*, sin embargo, el intercambio de gases y el crecimiento o la floración suelen verse inhibidos por el exceso de calor y radiación y la insuficiencia de agua pueden provocar la quema de los tallos (Paredes, 2021, pp. 12-13; Pilar, 2021, p. 21).

2.2.2.2. Taxonomía

Ruiz (2020, p. 441) menciona que la pitahaya roja es un fruto con flores de 25 a 30 cm de largo, con segmentos perianto rojizos externos, especialmente en las puntas y amarillentos lóbulos de estigma. Su fruto se caracteriza por tener cáscara roja con bractéolas y pulpa roja brillante, con pequeñas semillas negras. Su fruto es elipsoidal (referencial a una baya) mide de 10–12 cm de diámetro. En la siguiente tabla 1-2 se presenta la taxonomía de la pitahaya.

Tabla 1-2: Clasificación taxonómica de la pitahaya

Nombre Científico	Hylocereus spp.
Reino	Plantae
División	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Orden	Magnoliopsida
Familia	Cactaceae - cactáce
Tribu	Hylocereeae
Género	Hylocereus
Especie	H. extensus (Salm-Dyck ex De Candolle)
	H. setaceus (Salm-Dyck ex De Candolle)
	H. tricae (Hunt)
	H. minutiflorus Br. and R.
	H. megalanthus (2m. ex Vaupel)
	H. stenopterus (Weber) Br. and R.
	H. calcaratus (Weber) Br. and R.
	H. undatus (Haw.) Br. and R.
	H. escuintlensis (Kimn.)
	H. ocamponis (Salm-Dyck) Br. and R.
	H. guatemalensis (Eich.) Br. and R.
	H. purpusii
	Hylocereus polyrhizus
	H. costaricensis (Weber) Br. and R.
	H. trigonus (Haw.) Safford
	H. triangularis (L.) Br. and R
	H. monacanthus

Fuente: Verona, 2020, p. 441. Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

2.2.2.3. Morfología

La pitahaya son plantas epifitas, pertenecientes a las cactácea que generalmente han sido modificadas para adaptarse a diferentes condiciones como la escasez de agua (Cerén, 2019, p. 5). Por ello en la tabla 2-2 se describen las principales características de esta especie.

Tabla 2-2: Morfología de la Pitahaya

Morfología	Detalle		
	Las plantas de pitahaya pueden tener dos tipos de raíz.		
	Raíces terrestres: Son de forma fibrosa y forman red de raíces pequeñas que		
Doiz	normalmente se extienden al nivel del suelo y alcanzan una profundidad de hasta		
Raíz	30 cm, con un radio de 30 cm.		
	Raíces aéreas: Crecen fuera del suelo y se adhieren a otras plantas o superficies		
	con el fin de obtener nutrientes, humedad y soporte.		
	Al igual que la raíz la pitahaya puede presentar dos tipos de tallo:		
Tallo	o Tallo principal: forma cilindroide (tallos maduros)		
	Tallo secundario: trialado, con constricciones teretes.		
	Comprende las flores más grandes de la familia cactácea, son solitarias,		
Flores	esféricas, suelen abrirse por la noche, tienen numerosos estambres, son de color		
	crema a blanco amarillento.		
Emito	Pulpa jugosa que puede ser blanca, rosada o roja con puntuaciones pequeñas		
Fruto	negras o brillantes, no tuberculoso, carnoso y de forma ovalada.		

Fuente: Cerén, 2019, p. 5. Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

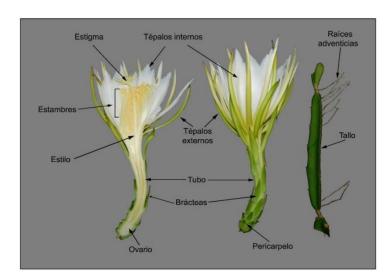


Ilustración 1-2: Morfología de la flor de pitahaya

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

2.2.2.4. Composición nutricional

Según Verona (2020, p. 441) la Pitahaya es un fruto que contiene bajas colorías, esto se debe a su contenido de hidratos de carbono (9.20 g por cada 100 g de pulpa comestible). Además, estudios mencionan que el color rojo de la pulpa se debe principalmente a la presencia de pigmentos hidrosolubles que contienen nitrógeno, denominados betaninas, como la isobetanina, la filocactina, filocactina y hilocerenina, que son antioxidantes con capacidad de eliminación de radicales. Esta fruta tiene numerosos fitoquímicos saludables, como polifenoles, flavonoides y vitamina C, que le confieren un gran potencial antioxidantes. En la siguiente tabla 3-2 se describe la composición nutricional para una muestra de 100 gramos de pulpa roja.

Tabla 3-2: Composición nutricional de la pitahaya

Componente	Hylocereus		
	(ICBF, 2018, p. 60)	(Mercado, 2018)	(Morocho, 2021)
Agua (%)	87,3	89	89,4
Proteína (g)	0,5	0,5	0,5
Grasas (g)	0,1	0,1	0,1
Carbohidratos (g)	11,6	-	9,2
Fibra dietética (g)	3,3	0,3	0,3
Vitamina C (mg)	25,0	25	-
Calcio (mg)	26,0	6	6
Hierro (mg)	0,2	0,4	0.4
Fosforo (mg)	26,0	19	19
Tiamina (mg)	0,01	0,01	0,01
Riboflavina (mg)	0,03	0,03	0,03
Niacina (mg)	0,2	0,2	0,2
Ceniza (mg)	0,5	0,5	0,5

Fuente: ICBF, 2018, p. 33; Mercado, 2018, p. 8; Morocho, 2021, p. 9.

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

2.2.2.5. Fenología

La flor de pitahaya normalmente tiene una época de floración diferente en el año, determinada directamente por el fotoperíodo (día largo), mientras que sus botones florales se desarrollan en grandes racimos en forma de campana que se abren por la noche. Cada flor se desarrolla a partir de un ovario rodeado por su bulbo, formando una vaina, rodeada por una serie de brácteas.

Internamente, la flor tiene una gran cantidad de estambres dispuestos en hileras, con un solo pistilo con un estigma muy ancho y ramificado (Ramos, 2018, pp. 2-3).

Las flores comienzan su apertura durante la tarde, permaneciendo abiertas por la noche y presentando su cierre de pétalos cerca del mediodía. Por su parte, la polinización es llevada a cabo naturalmente por vectores nocturnos, tales como murciélagos y esfíngidos. *H. undatus* es parcialmente auto compatible, y su autopolinización genera un reducido número de semillas y un menor porcentaje de cuajado de frutos (50-80%), mientras que, a partir de polinización cruzada con clones compatibles de distinto material genético, es posible obtener un cuajado del 100% de las flores (Ramos, 2018, pp. 2-3).

2.2.2.6. Polinizadores de la pitahaya

Según Cerén (2019, p. 8) los polinizadores incluyen a las mariposas nocturnas, murciélagos y abejas, sin embargo, son las mariposas nocturnas (*Manduca sexta y Agrius cingulatus*) las que realizan la actividad de polinización con más frecuencia, así como los himenópteros.

2.2.3. Beneficios de la pitahaya

Verona (2020, p. 446) menciona que la pitahaya roja o fruta del dragón, es una fruta comestible rica en betacianinas, dicha sustancia muestra efectos inhibidores contra las células de leucemia y las células de melanoma. Las betacianinas presentes en la fruta del dragón de pulpa roja demostraron que el consumo por parte de los diabéticos de tipo 2 redujo sustancialmente los niveles de colesterol total, triglicéridos y colesterol LDL, mientras que aumentó los niveles de colesterol HDL.

Díaz (2020, p. 13) también señala que la fruta es rica en antioxidantes como flavonoides, ácido fenólico y betacianina. Estas sustancias naturales protegen las células de los efectos provocados por los radicales libres, moléculas que pueden inducir enfermedades como el cáncer y el envejecimiento prematuro. También, puede ayudar a bajar el nivel de azúcar en la sangre.

Verona (2020, p. 447) comenta que la especie contiene prebióticos, que son alimentos que alimentan las bacterias saludables llamadas del intestino, lo cual puede mejorar el equilibrio de bacterias buenas y malas en el intestino. Específicamente, la fruta del dragón estimula el crecimiento de los probióticos lactobacilos y bifidobacterias y puede fortalecer su sistema inmunológico.

De la misma forma Morales (2022, pp. 6-7) menciona que dicha fruta tiene un alto contenido de vitamina C y otros antioxidantes, óptimos para el sistema inmunológico. Asimismo, puede aumentar sus niveles de hierro y vitamina C. Debido a que el hierro es importante para mover el oxígeno a través de su cuerpo y darle energía y la vitamina C ayuda al cuerpo a absorber el hierro, por ello es importante el consumo de esta fruta.

2.2.4. El polen

2.2.4.1. Estructura del grano de polen

El polen es el gameto masculino de las plantas gimnospermas y angiospermas. Su tamaño oscila entre 15 y 200 μm; su forma, cuando está seco, es generalmente ovalado o esférico (Boujenna et al., 2022, p. 216). La polinización es el transporte de polen desde su lugar de producción hasta el lugar de aterrizaje de las hembras; si tiene éxito, le sigue la fertilización y el desarrollo de semillas (Stewart y Robinson, 2022, p. 58; Talukdar, 2019, p. 295). Este paso reproductivo, independientemente del grupo sistemático, se subdivide en siete fases, las mismas que son descritas en la siguiente tabla 4-2.

Tabla 4-2: Fases de la producción de polen

Numero de fase	Descripción
Fase I	El desarrollo del polen está completo y almacenan reservas para los
	primeros pasos de la germinación.
Fase II	El fluido locular que media en la nutrición del polen y producido por la
	planta madre desaparece por evaporación y/o reabsorción.
Fase III	El contenido de agua del polen disminuye durante las últimas fases de
	maduración o en la apertura de la antera, como consecuencia, el
	metabolismo del polen se debilita.
Fase IV	Ya sea que la flor y la antera estén abiertas, el polen puede ser: 1. Liberado
	inmediatamente porque no está cubierto por el polenkitt; 2. Lanzado con
	diferentes mecanismos; 3. Persisten en la antera porque el pollenkitt y la
	carga involuntaria de los visitantes de las flores.
Fase V	El polen, independientemente del vector, se transporta durante un tiempo
	muy variable según el tamaño y el número de individuos en una unidad
	cuadrada.
Fase VI	El polen cubre con o sin pollenkitt tierras (anemofilia) o toca (entomofilia)
	la parte femenina debido al movimiento del animal en la flor.
Fase VII	Adhesión de polen e hidratación inmediata, si se reconoce como
	congruente, con agua suministrada por la parte femenina, eventual emisión
	del tubo polínico.

Fuente: Talukdar, 2019; Stewart y Robinson, 2022.

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

Por otro lado, la producción de polen en una planta es influenciado por algunos factores, los cuales se describen en la tabla 5-2.

Tabla 5-2: Factores influyentes en el proceso de producción de polen

Factor	Influencia
Temperatura	La alta temperatura daña las flores y el polen durante la presentación o la
	dispersión, mientras que la moderada facilita la apertura de flores y anteras.
	Las temperaturas bajas retrasan la maduración del polen y la apertura de las
	flores y reduce la actividad de los polinizadores.
Lluvia y niebla	Elimina el polen del aire, especialmente a baja temperaturas.
	Apertura lenta de las flores y deshidratación del polen de las anteras.
	Puede rehidratar y reactivar el polen de manera inapropiada.
	Obstaculizar los movimientos de animales pequeños.
Brillo del cielo	El brillo facilita el vuelo diurno de los polinizadores la falta de brillo
	dificulta el vuelo diurno de los polinizadores.
Corrientes de	Facilitar la eliminación y dispersión del polen en especies anemófilas.
aire	Facilitar la apertura floral y la deshidratación de las anteras.
	Las altas velocidades del viento dificultan el vuelo de los polinizadores.
Variaciones de	Las corrientes de aire ascendentes facilitan la dispersión del polen a larga
presión	distancia.
	Las corrientes de aire descendentes facilitan la lluvia de polen.

Fuente: Talukdar, 2019; Stewart y Robinson, 2022.

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

2.2.4.2. Germinación del grano de polen

La germinación de polen in vitro es un método confiable para probar la viabilidad del polen. También resuelve muchos problemas fundamentales en la reproducción sexual y es particularmente útil durante la hibridación extensa. Varios medios de germinación de polen, desde azúcares simples hasta azúcares complejos que contienen vitaminas, reguladores de crecimiento y más. Además, se han estandarizado varios minerales para la germinación artificial de polen (Sühsner et al., 2020, p. 19).

2.2.4.3. Métodos de germinación de polen

Según Jayaprakash (2018, pp. 21-25) existen métodos de germinación de polen, se describen en el Tabla 6-2.

Tabla 6-2: Métodos de germinación de polen

Método	Descripción
	Se utiliza para medio de germinación de polen líquido (PGM).
	Se coloca una gota de medio en la cavidad, se espolvorea polen
	y se cubre con un cubreobjetos libre de polvo con su periferia
Técnica de deslizamiento	sellada con vaselina. Crea una humedad relativa necesaria en el
de cavidades	interior. El portaobjetos se coloca inversamente sobre un par de
	varillas de vidrio en una cámara húmeda. Se utiliza una placa de
	Petri como cámara húmeda donde se coloca un papel de filtro
	húmedo dentro de la tapa.
	El polen se extrajo de yemas frescas (con brotación) y se
	esparció uniformemente sobre una gota de medio en una placa
Medio agarificado en	de Petri y se cubrió con una placa de Petri forrada con papel de
placas Petri	filtro húmedo. Las placas se incubaron en una incubadora BOD
	con una temperatura de 18°C/20,5°C dependiendo de la muestra
	de polen.
	En una placa de Petri se colocó una gota de medio de
	germinación de polen utilizando una varilla de vidrio. Por lo
Técnica de gotas PGM	tanto, se pueden colocar gotas de diferentes medios a una
	distancia de unos pocos centímetros entre ellas. Por ejemplo, se
	pueden colocar nueve medios en forma de 3×3 .
	Se preparó una almohadilla de agarosa rectangular sobre un
El	portaobjetos de microscopio con PGM que contenía 0,5% de
El aparato de cultivo de	agarosa. Se cortó una membrana de celulosa del tamaño
membrana de	apropiado y se colocó en capas sobre una almohadilla de
celulosa/agarosa	agarosa. El polen se coloca sobre la membrana y se cultiva en
	una cámara
Medio de cultivo que	El polen se extrajo de las flores y se colocó una muestra
contiene agar, sacarosa y	esparciendo uniformemente sobre la superficie del medio de
agua destilada	germinación que contenía agar, sacarosa y agua destilada.

Fuente: Jayaprakash, 2018. Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

2.2.4.4. Temperatura y tiempo de almacenamiento del polen

La viabilidad del polen es importante en la biología de la reproducción y en el fitomejoramiento, y es la base para determinar la dirección de los cruces externos y para que los cruces controlados tengan éxito, a fin de garantizar que los segregantes resultantes identifiquen individuos con características superiores a las de sus progenitores. La capacidad de germinación del polen entre las especies vegetales, depende de factores genéticos y ambientales; no todos los granos de polen germinan, lo que está relacionado con el tiempo y la temperatura de almacenamiento de las muestras de polen recogidas (Chico, 2016, p. 2).

Un aumento de la temperatura produce un crecimiento más rápido de tubo polínico, la mayoría de estas especies de la familia cactácea alcanzan el porcentaje máximo de germinación de polen o la longitud máxima del tubo polínico a temperaturas bajas (Dai et al., 2022, p. 2). En muchos casos, la germinación de polen no se puede realizar con polen fresco. Por lo tanto, deben realizarse con polen congelado almacenado, ya que la viabilidad del polen se pierde en condiciones demasiado secas o húmedas. Por lo tanto, el almacenamiento del polen a temperaturas bajo 0°C no provoca la pérdida de su capacidad de germinación (Beltrán et al., 2019, pp. 3-4). Asimismo, con el aumento del tiempo de almacenamiento, el número de tubos polínicos disminuye, por lo que la tasa de germinación disminuye significativamente (Dai et al., 2022, p. 4).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Materiales y métodos

3.1.1. Área de estudio

El experimento se llevó a cabo en la Estación Experimental Central de la Amazonía (INIAP), en el laboratorio de Protección Vegetal, ubicada en la parroquia San Carlos, Cantón Joya de los Sachas, Provincia de Orellana, a 282 m.s.n.m., 0291649 de latitud y 09962311 longitud, con precipitación promedio de 3217 mm/año, temperatura promedio anual 24°C y humedad relativa del 91.5%.

Las muestras de flores de los cuatro materiales se recolectaron de la Finca Pita Castro, ubicado en el recinto El Oro, cantón La Joya de los Sachas, Provincia de Orellana, a 250 m.s.n.m., 20°27" N latitud y 87°40" E longitud.

3.1.2. Materiales

Los materiales que se utilizaron para el estudio están distribuidos por equipos, reactivos, materiales de laboratorio, campo y oficina.

Tabla 1-3: Materiales y equipos que se utilizaron en este proyecto experimental

	Rubro	Unidad	Cantidad
Equipos de laboratorio	Microscopio	Unidad	1
	Refrigeradora	Unidad	1
	Autoclave	Unidad	1
	Balanza analítica	Unidad	1
	Imán agitador magnético	Unidad	1
Materiales de laboratorio	Funda de Tubos eppendorf de 1,5 ml	Unidad	1
	Cajas Petri	Unidad	200
	Envases cilíndricos	Unidad	16
	Matraces de 500 ml	Unidad	8
	Caja de Guantes de nitrilo	Unidad	1
	Caja de Mascarillas	Unidad	1
Reactivos	Agar de 500 g	g	1

	Silica gel de 500 g	g	1
	Sacarosa de 500 g	g	3
Materiales de campo	Fundas de plástico	Unidad	1
	Fundas de papel	Unidad	1
	Etiquetas	Unidad	4
	Pinzas	Unidad	4
	Paquete de Servilletas	Unidad	2
	Brochas	Unidad	4
Materiales de oficina	Lápices	Unidad	2
	Borradores	Unidad	1
	Esferos	Unidad	2
	Cuaderno	Unidad	1
	Marcador permanente	Unidad	2
	Sacapuntas	Unidad	1
Equipos de oficina	Computador portátil	Unidad	1

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

3.1.3. Metodología

3.1.3.1. Factores en estudio

Los factores de estudio se detallan a continuación: tres ecotipos de pitahaya roja pulpa roja (T1, T2, T3) y uno de pitahaya roja pulpa blanca (T4), además de dos temperaturas de almacenamiento (4°C y 25°C), tres tiempos de almacenamiento (24, 48 y 72 h).

Factor 1. Materiales

Los cuatro materiales estudiados de pitahaya roja (tres de pitahaya roja pulpa roja y uno de pitahaya roja pulpa blanca), fueron seleccionados por estar presente en finca de productor y por disponibilidad de flores que presentaban las plantas al momento de iniciar con el estudio.

Factor 2. Temperatura de almacenamiento del polen

Para el almacenamiento de los granos de polen previo a las pruebas de germinación se tomaron en cuenta dos temperaturas 4°C y 25°C.

Factor 3. Tiempo de almacenamiento del polen

Los períodos de almacenamiento de los granos de polen previo a la evaluación de germinación fueron a las 24, 48 y 72 horas y una lectura inicial en el momento que se colectó los granos de polen.

3.1.4. Unidad experimental

Tabla 2-3: Características del experimento para el estudio de viabilidad y germinación del polen de pitahaya roja

Número de tratamientos	24
Número de observaciones 10 cajas (3	30
lecturas)	
Número de unidades experimentales	

Realizado por: Lapo Daysi, 2022

3.1.5. Tratamientos

Los tratamientos a estudiar son 24 y provienen de la multiplicación de los niveles de cada factor: material, temperatura y tiempo de almacenamiento (M x T x T).

Tabla 3-3: Tratamientos para el estudio de la viabilidad y germinación del polen de pitahaya roja

	Ecotipo 1 (Pitahaya roja pulpa blanca)	
Ecotipos	Ecotipo 2 (Pitahaya roja lisa)	
	Ecotipo 3 (Pitahaya roja pulpa roja)	
	Ecotipo 4 (Pitahaya roja churona)	
Temperaturas	4°C	
	25°C	
Periodo de tiempo	0:00 horas	
	24:00 horas	
	48:00 horas	
	72:00 horas	

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

3.1.6. Análisis estadístico

El diseño experimental que se utilizó para evaluar la calidad del polen en base a la flor fue completamente a azar con cuatro materiales y se utilizó el esquema de Análisis de Varianza ANOVA, el cual se detalla a continuación:

Tabla 4-3: Análisis de Varianza para DCA en arreglo factorial 4 x 2 x 3 con 10 repeticiones

Fuentes de variación	GI
Total	239
Material	3
Temperatura	1
Tiempo de Almacenaje	2
Material x Temperatura	3
Material x Tiempo de almacenaje	6
Error	224

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

3.1.7. Análisis funcional

Los datos que se obtuvieron fueron sometidos a análisis de varianza utilizando modelos lineales generales y mixtos y la diferencia entre medias de los tratamientos se estimó usando la diferencia mínima significativa Least Significance Differences (LSD) con nivel de significancia al 5%. Se realizaron los análisis estadísticos utilizando el paquete estadístico INFOSTAT (Di Rienzo et al., 2012, p. 1).

3.1.8. Métodos de evaluación

3.1.8.1. Germinación

El polen se recolectó a las 10 de la noche, tiempo en que el polen está más viable, mediante un medio de cultivo sólido se colocó el polen para germinarlo (Ramírez y Romero, 1992, p. 4), se lo realizó en tres tiempos de almacenaje (24, 48 y 72 h) a dos temperaturas (4°C y 25°C) (Li et al., 2020, p. 5), con un microscopio óptico se realizó el conteo de los granos de polen germinados según la metodología de García et al. (2015, p. 490) donde se considera a un grano de polen germinado cuando el tubo polínico es dos veces más grande que su diámetro.

Para determinar el porcentaje de germinación se utilizó la ecuación 1, que se indica a continuación (Pereira et al., 2021, p. 559):

Germinación (%) =
$$\frac{granos\ germinados}{granos\ totales} * 100$$

3.1.9. Manejo específico del experimento

3.1.9.1. Fase de campo

Se seleccionó como material vegetal la flor de pitahaya roja pulpa roja, roja lisa, roja churona y roja pulpa blanca y de acuerdo con la metodología propuesta por los autores Chu y Chang (2022, p. 14) se realizó la evaluación de las flores por la tarde y se seleccionó cinco flores que estén en buen estado, al anochecer se recolectó las flores seleccionadas.

Se extrajo el polen dando pequeños golpes a la flor para que caiga el polen de estas. Una vez extraído el polen con la ayuda del pincel se colocó el polen en tubos eppendorf.

Una vez recolectado el polen de los cuatro materiales de pitahaya se colocó en tubos eppendorf con una etiqueta que identifique: nombre, tratamiento, fecha, hora que se recolectaron, 2 temperaturas (4 y 25°C) y diferentes periodos de tiempo que se almacenó (24, 48 y 72 horas) (Li et al., 2020, p. 13).

El polen que se almacenó a 4°C, se colocó en un tubo eppenorf cerrado, se introdujo en un frasco, se etiquetó y se colocó en el refrigerador hasta ser utilizado para la evaluación. El que se almacenó a 25°C, fue colocado en un tubo eppenorf abierto, se introdujo en un frasco que contiene 3 g de síica gel, este se cerró y se etiquetó hasta ser utilizado para la evaluación.

3.1.9.2. Fase de laboratorio

• Preparación para el medio de germinación

Se sustentó con el método de Ramírez y Romero (1992, p. 4), que consiste en un medio de cultivo que contiene 10 gr de sacarosa en 100 ml de agua destilada, luego se añadió 1.5 gr de agar, el medio se calentó hasta alcanzar la temperatura de ebullición. Luego se esterilizó a 121 °C y 1.2 kg/cm² durante 15 min. Finalmente, se colocó sobre la base de las cajas Petri, se dejó enfriar y se solidificó hasta ser utilizado.

• Cultivo y observación del polen

Para la germinación del polen con la ayuda de un cepillo o brocha se tomó una muestra del polen y se esparció por el medio de germinación. Se dejó germinar por 5 h y se tomó la lectura de la germinación del polen con un microscopio óptico 10x. Según el autor Chu y Chang (2022, p. 14) se examinaron los granos de polen en cada tratamiento y los tubos polínicos de más del doble de la longitud del polen se consideraron como polen germinado.

CAPÍTULO IV

4. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Análisis de resultados

Se realizó un análisis univariado para la variable germinación de granos de polen. La Tabla 11-4 muestra significación para efectos principales y su interacción. El análisis mostró que existió un efecto altamente significativo entre ecotipos (p < 0.0001), horas de almacenamiento (p < 0.0001) y la interacción ecotipos x horas de almacenamiento (p < 0.0001). Y no se encontraron diferencias significativas entre temperaturas de almacenamiento (p = 0.1175) y la interacción entre ecotipos x temperaturas de almacenamiento (p = 0.6438).

Tabla 1-4: Efectos principales y de interacción para la germinación de granos de polen determinado para cada factor

Tratamientos	Germinación de granos de polen
Ecotipos	**
Temperatura de almacenamiento	NS
Tiempo de almacenamiento	**
Ecotipos x Tiempo de almacenamiento	**
Ecotipos x Temperatura de almacenamiento	NS

NS not significant; ** significant at $p \le 0.01$

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

4.1.1. Ecotipos

El efecto principal para los ecotipos mostró que el mayor porcentaje de germinación se obtuvo con el ecotipo 1 (20%), los ecotipos 2 y 3 presentaron un % de germinación similar, con 18 y 15%, respectivamente; y, el ecotipo 4 fue el que presentó en más bajo % de germinación (6%) (Tabla 12-4). Estos resultados son similares con un estudio de *Hylocereus undatus* realizado por Li et al. (2020, p. 9) quienes tuvieron un % de germinación de granos de polen de 27.2%, mientras que Pereira et al. (2021, pp. 4-8) trabajaron con especies de *Hylocereus undatus* y *Polyrhizus* quienes obtuvieron resultados divergentes al presente estudio presentando un % de germinación de granos de polen de 65.9 y 52% respectivamente.

Tabla 2-4: Valores medios de N° granos de polen germinado y total determinados para el factor: Ecotipos

Descripción	% granos polen germinado	N° granos polen total	_
Ecotipo 1	20 a		174
Ecotipo 2	18 b		164
Ecotipo 3	15 b		170
Ecotipo 4	6 c		169

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

4.1.2. Temperatura de almacenamiento

El efecto principal para la temperatura de almacenamiento mostró que el mayor porcentaje de germinación se logró con temperatura de 4°C (19%), con respecto a temperatura de 25°C que presentó el porcentaje más bajo (11%) (Tabla 3-4).

Tabla 3-4: Valores medios de N° granos de polen germinado y total determinados para el factor: Temperatura de almacenamiento

Temperatura de almacenamiento	% granos polen germinado	N° granos polen total
4°C	19 a	176
25°C	11 b	163

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

El efecto principal para la interacción entre temperatura de almacenamiento y ecotipos mostró que el mayor porcentaje de germinación de los granos de polen se obtuvo con los ecotipos 1, 2 y 3 cuando se almacenó el polen a 4°C. El ecotipo 4 (churona) en las dos temperaturas de almacenamiento obtuvo los más bajos % de germinación de los granos de polen (Tabla 4-4).

Tabla 4-4: Valores medios de N° granos de polen germinado y total determinados para la interacción del factor: Temperatura de almacenamiento y Ecotipos

Ecotipos	Temperatura	de % granos	polen N° granos polen total
	almacenamien	to germinado	ry granos poien tota
Ecotipo 1	4°C	28 a	167
Ecotipo 2	4°C	24 b	157
Ecotipo 3	4°C	21 b	161
Ecotipo 1	25°C	13 c	181
Ecotipo 2	25°C	12 cd	170

Ecotipo 3	25°C	10 de	180
Ecotipo 4	4°C	8 e	166
Ecotipo 4	25°C	4 f	173

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

Los resultados obtenidos para el polen almacenado a 4 °C la situación fue mejor la tasa de germinación a las 24 horas de almacenamiento en especial de los ecotipos 1 y 2 fue del 15 y 26%, respectivamente. Este hallazgo es similar a lo reportado por Ramos (2018, p. 10) quien obtuvo un % de germinación de granos de polen del 17.1 %, mientras que Li et al. (2020, p. 5) señalan que el polen almacenado a 4 °C, presenta una tasa de germinación del 29.5 % a las 24 h y a las 48 h. Y el polen almacenado en sílica gel en condiciones de temperatura ambiente no tuvo resultados positivos en ninguno de los ecotipos estudiados obteniendo un 0% de germinación pasadas las 24 h, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en un estudio de *Solanum betaceum* realizado por Alminate (2017, pp. 35-36) quién menciona que el polen almacenado a temperatura ambiente no germina y pierde su viabilidad. Por otro lado, Li et al. (2020, p. 5) señala que los granos de polen de *Hylocereus undatus*, almacenados por 18 horas a temperatura ambiente no germinó.

4.1.3. Tiempo de almacenamiento

El efecto principal para las horas de almacenamiento mostró que a las 00h00 el porcentaje de germinación fue (40%), al cabo de 24h00 y 48h00 disminuyó exponencialmente el % de germinación logrando 9 y 5% respectivamente; y a las 72h00 presentó el % más bajo de germinación (2%) (Tabla 5-4).

Tabla 5-4: Valores medios de N° granos de polen y total determinados para el factor: Tiempo de almacenamiento

Tiempo de almacenamiento	% granos polen germinado	N° granos polen total
00h00	40 a	189
24h00	9 b	156
48h00	5 c	162
72h00	2 d	171

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

El efecto para la interacción entre horas de almacenamiento y ecotipos mostró que a las 0h00 los cuatro ecotipos presentaron el mayor porcentaje de germinación de los granos de polen. Además, se determinó que la germinación de los granos de polen de los ecotipos evaluados disminuye a

medida que pasan las horas de evaluación, parámetro que nos indica que debemos ajustar los tiempos de recolección de los granos de polen o los medios de cultivo (Tabla 6-4).

Tabla 6-4: Valores medios de N° granos para la interacción del factor: Horas de almacenamiento y Ecotipos

Factings	Horas de	% granos polen	N° granos
Ecotipos	almacenamiento	germinado	polen total
Ecotipo 1	00h00	55 a	191
Ecotipo 2	00h00	47 b	191
Ecotipo 3	00h00	42 c	188
Ecotipo 4	00h00	17 d	185
Ecotipo 1	24h00	12 e	162
Ecotipo 2	24h00	12 ef	144
Ecotipo 3	24h00	7 fg	160
Ecotipo 1	48h00	6 gh	168
Ecotipo 3	48h00	6 ghi	162
Ecotipo 1	72h00	4 ghi	177
Ecotipo 2	48h00	4 ghi	157
Ecotipo 4	24h00	4 ghi	159
Ecotipo 2	72h00	3 hij	163
Ecotipo 4	48h00	2 ij	161
Ecotipo 3	72h00	1 j	172
Ecotipo 4	72h00	1 ј	173

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

Los resultados obtenidos en el tiempo de almacenamiento para la germinación de los granos de polen de cuatro ecotipos de pitahaya roja se determinaron que a medida que aumentan las horas de almacenamiento disminuye el porcentaje de germinación. Estos resultados coinciden con un estudio realizado en *Hylocereus undatus y Hylocereus purpusii* por Ramos (2018, p. 10), donde al cabo de 1 hora de almacenamiento obtuvo mayor porcentaje de germinación (49%) mientras que pasadas las 7 h el porcentaje de germinación fue del 38% a temperatura ambiente.

4.2. Granos de polen germinados de ecotipos de pitahaya roja

4.2.1. Ecotipo 1



Ilustración 1-4: Granos de polen germinado a 25°C

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

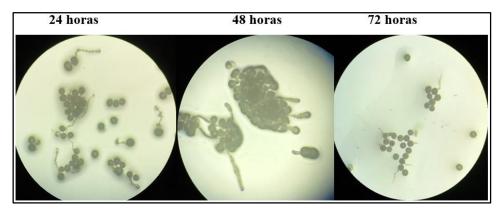


Ilustración 2-4: Granos de polen germinado a 4°C

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

4.2.2. Ecotipo 2



Ilustración 3-4: Granos de polen germinado a 25°C

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

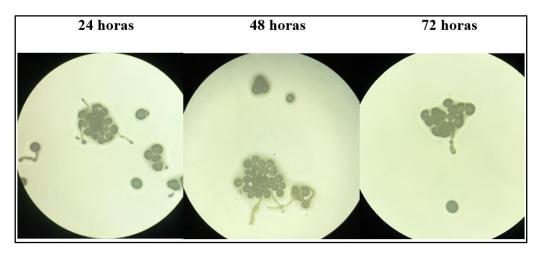


Ilustración 4-4: Granos de polen germinado a 4°C

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

4.2.3. Ecotipo 3



Ilustración 5-4: Granos de polen germinado a 25°C

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

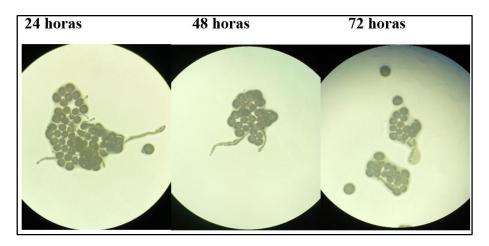


Ilustración 6-4: Granos de polen germinado a 4°C

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

4.2.4. Ecotipo 4

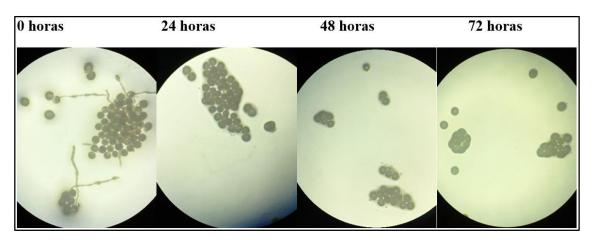


Ilustración 7-4: Granos de polen germinado a 25°C

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

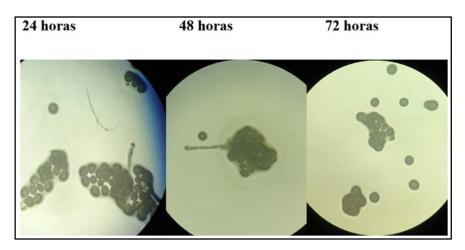


Ilustración 8-4: Granos de polen germinado a 4°C

Realizado por: Lapo, Daysi, 2022.

CONCLUSIONES

- De acuerdo con los resultados obtenidos en la evaluación de la calidad de los granos de polen, se observó que el ecotipo 1 presentó el mayor porcentaje de germinación en comparación al resto de ecotipos. Por tal motivo es la mejor opción para ser utilizado como progenitor masculino en el programa de mejoramiento de pitahaya roja.
- El porcentaje de germinación de los granos de polen muestran que a temperatura ambiente este pierde su viabilidad, obteniendo una germinación nula, mientras que cuando la temperatura es de 4°C el porcentaje de germinación incrementa; sin embargo, a medida que transcurren las horas, el polen va perdiendo viabilidad por lo que se recomienda utilizar el polen inmediatamente luego de obtenerlo de las flores ya que en ese momento tiene mayor porcentaje de germinación.

RECOMENDACIONES

- Para futuros estudios se recomienda hacer este tipo de investigación en el medio de germinación a base de sacarosa, nitrato de calcio, ácido bórico y agar, ya que en estudios realizados anteriormente obtuvieron excelentes resultados de germinación de los granos de polen.
- Realizar este estudio en diferentes épocas de floración de los ecotipos de pitahaya roja ya que la viabilidad del polen varía de acuerdo a las condiciones climáticas y genética de los ecotipos.
- Profundizar estudios donde se evalúe la calidad del polen de los ecotipos de pitahaya roja en función de la apertura floral para determinar la hora exacta que es más viable el polen.

BIBLIOGRAFÍA

AGUILA, E. Exportación de pitahaya roja hacia el mercado canadiense (Trabajo de titulación) (Pregrado) [En línea]. Universidad Laica Vicente Rocafuerte de Guayaquil, Facultad de Administración, Escuela de Comercio Exterior. Guayaquil-Ecuador. 2021. pp 1-127. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: http://200.24.193.135/bitstream/44000/4736/1/T-ULVR-3821.pdf.

BELTRÁN, R.; et al. "Effect of temperature on pollen germination for several Rosaceae species: influence of freezing conservation time on germination patterns". PeerJ [en línea], 2019, (España) 7(1), pp. 1-18. [Consulta: 25 julio 2022]. ISSN: 2689-7733. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6911343/pdf/peerj-07-8195.pdf.

BOUJENNA, A.; et al. "Estudiando el desarrollo del grano de polen y la formación del tubo polínico in vitro en anteras de tabaco (*Nicotiana tabacum*) para la enseñanza práctica de la Biotecnología Vegetal". Reidocrea [en línea], 2022, (Marruecos) 11(18), pp. 116-220. [Consulta: 02 junio 2022]. ISSN: 2254-5883. Disponible en: https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/73801/11 18.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

CERÉN, J. Distribución, etnobotánica y cultivo de pitahaya (*Selenicereus*, Hylocereeae, Cactaceae) en El Salvador (Trabajo de titulación) (Maestría) [en línea]. Colegio de Postgraduados. Montecillo-México. 2020. pp. 1-109. [Consulta: 02 junio 2022]. Disponible en: http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/10521/4330/1/Ceren_Lopez_JG_MC_Botan ica_2020.pdf.

CHICO, C. Determinación in vitro de la funcionalidad del polen de cinco materiales seleccionados de naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.) y tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav.) (Trabajo de titulación) (Pregrado) [en línea]. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas, Carrera de Ingeniería Agronómica. Quito-Ecuador. 2016. p. 2. [Consulta: 16 marzo 2022]. Disponible en: http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/8056.

CHU, Y.; & CHANG, J. "Heat Stress Leads to Poor Fruiting Mainly Due to Inferior Pollen Viability and Reduces Shoot Photosystem II Efficiency in "Da Hong"; Pitaya". Agronomy [en linea], 2022, (Taiwan) 12(1), pp. 1-14. [Consulta: 14 junio 2022]. ISSN: 2073-4395. Disponible en: https://www.mdpi.com/2073-4395/12/1/225.

DAI, H.; et al. "Metabolomics and Transcriptomics Analysis of Pollen Germination Response to Low-Temperature in Pitaya (*Hylocereus polyrhizus*)". Frontiers in Plant Science [en línea], 2022,

(China) 13(1), pp. 1-15. [Consulta: 25 julio 2022]. ISSN: 1664-462X. Disponible en: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2022.866588.

DI RIENZO, J.; et al. *Modelos Lineales Mixtos: aplicaciones en InfoStat* [en línea]. 2012. [Consulta: 15 junio 2022]. ISBN: 9789872704506. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/FernandoCasanoves/publication/283491350_Modelos_line ales_mixtos_aplicaciones_en_InfoStat/links/5 63b5e9808aeed0531de814e/Modelos-lineales-mixtos-aplicaciones-en-InfoStat.pdf.

DE JESÚS, L.; et al. "Efficiency Of Colorimetric Tests to Determine Pollen Viability in Peppers". Revista Brasileira de Agropecuaria Sustentable [en línea], 2018, (Brasil) 8(2), pp. 77-82. [Consulta: 13 agosto 2022]. ISSN: 1980-9735. Disponible en: https://periodicos.ufv.br/rbas/article/view/3030/pdf.

DIAZ, E. Influencia de la pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) liofilizada y lactosuero en las propiedades fisicoquímicas, antioxidantes y sensoriales de una bebida fermentada (Trabajo de titulación) (Pregrado) [En línea]. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Manabí-Ecuador. 2020. pp. 1-81. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1354/1/TTAI12D.pdf.

FAGUNDES, M.; et al. "In Vitro Germination of Pollen Grains in Pitahaya Species". International Journal of Fruit Science [en linea], 2021, (Brasil) 21(1), pp. 556-564. [Consulta: 14 junio 2022]. ISSN: 1553-8362. Disponible en: https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/15538362.2021.1913469?needAccess=true.

GARCÍA, J. Aspectos de producción, comercialización y desarrollo del cultivo de pitahaya (*Hylocereus* spp.) en el litoral ecuatoriano (Trabajo de titulación) (pregrado) [En línea]. Universidad Técnica de Babahoyo, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Ingeniería Agronómica. Babahoyo-Ecuador. 2021. pp. 1-32. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/handle/49000/9343/E-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000312.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

GARCÍA, L.; et al. "Descripción morfológica y viabilidad del polen de Nothofagus nervosa (Nothofagaceae)". Bosque [en línea], 2018, (España) 36(3), pp. 487-496. [Consulta: 23 julio 2022]. ISSN: 0717-9200. Disponible en: https://www.scielo.cl/pdf/bosque/v36n3/art15.pdf.

ICBF. *Tabla de composición de los alimentos* [En línea] Bogotá-Colombia: Proceditor LTDA, 2018. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: https://www.icbf.gov.co/sites/default/files/tcac_web.pdf.

JAYAPRAKASH, P. *Germinación de polen in vitro* [blog]. 2018. [Consulta: 02 junio 2022]. Disponible en: <u>undefined/state.item.id.</u>

JIANG, H.; et al. "Nutrition, phytochemical profile, bioactivities and applications in food industry of pitaya (*Hylocereus* spp.) peels: A comprehensive review". Trends in Food Science & Technology [en línea], 2021, (China) 116(1), pp. 199-217. [Consulta: 14 junio 2022]. ISSN: 0924-2244.

Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224421004143.

LI, J.; et al. "Pollen germination and hand pollination in pitaya (*Hylocereus undatus*)". Research Square [en linea], 2021, (China) 1(1), pp. 1-15. [Consulta: 14 junio 2022]. Disponible en: https://assets.researchsquare.com/files/rs-12782/v1/678129dd-a03e-45ce-85bb-345180cf26e5.pdf?c=1637242421.

MAGAÑA, W.; et al. "Principales características de calidad de las pitahayas (*Hylocereus undatus* haworth), frigoconservadas en atmósferas controladas". Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias [en línea], 2020, (Cuba) 15(2), pp. 52-57. [Consulta: 16 abril 2022]. ISSN: 1010-2760. Disponible en: https://www.redalyc.org/pdf/932/93215211.pdf.

MAGRANER, S. Estudio del comportamiento agronómico del cultivo de la pitaya (*Hylocereus hybridum*, *Hylocereus undatus*) en condiciones de clima mediterráneo (Trabajo de titulación) (pregrado) [en linea]. Universidad Politecnica de Valencia. Valencia-España. 2020. p. 21. [Consulta: 14 junio 2022]. Disponible en: https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/158201/Magraner.

MARATOS, F.; & PESSOA, L. Chapter 6 - What drives prioritized visual processing? A motivational relevance account [en linea]. Elsevier, 2019, pp. 130-136. [Consulta: 14 junio 2022]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612319300585.

MARCELO, E. Formulación y nivel de aceptabilidad de una bebida elaborada a partir de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) (Trabajo de titulación) (pregrado) [en línea]. Universidad Señor de Sipán, Facultad de Ingeniería Arquitectura y Urbanismo, Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial y Comercio Exterior. Pimentel-Perú. 2020. pp. 1-72.

[Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: https://repositorio.uss.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12802/6952/Marcelo%20Bances%20El%c3%adas%20Igor.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

MERCADO, E. *Pitaya Hylocereus undatus (Haw)* [en línea]. Academic Press, 2018. [Consulta: 02 junio 2022]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128031384000459.

MORALES, M. Bebida energética a base de *H. polyrhizus* britton & rose (pitahaya roja variedad lisa) y *Camellia sinensis* (té negro) en Laboratorios de Química (Trabajo de titulación) (Pregrado) [En línea]. Universidad Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias e Ingeniería, Escuela de Química Industrial. Managua-Nicaragua. 2022. pp. 1-116 [Consulta: 16 mayo 2022]. Disponible en: https://repositorio.unan.edu.ni/17158/1/17158.pdf.

MOREIRA, A.; & MURILLO, D. Análisis del sistema de producción de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) en la provincia de Manabí (Trabajo de titulación) (Pregrado) [en línea]. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Bolívar- Ecuador. 2022, pp. 1-76 [Consulta: 17 abril 2022]. Disponible en: https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1708/1/TIC_A02D.pdf.

MOROCHO, F. Caracterización nutricional y de tratamientos post-cosecha del tipo de pitahaya (*Hylocereus undatus*) (Trabajo de titulación) (Pregrado) [en línea]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Carrera de Ingeniería en Industrias Pecuarias. Riobamba-Ecuador. 2021. pp. 1-82. [Consulta: 07 mayo 2022]. Disponible en http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/15519.

MUÑOZ, Á. Evaluación socioeconómica del sistema de producción de pitahaya (*Hylocereus undatus y Selenicereus megalanthus*) en el cantón Guayaquil, Ecuador (Trabajo de titulación) (pregrado) [en linea]. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Agrorias, Carrera de Ingeniería Agronómica. Guayaquil-Ecuador. 2022. pp. 1-69. [Consulta: 14 junio 2022]. Disponible en: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/59547/1/TESIS%20ANGEL%20PARA%20CD.pdf.

NUNES, R.; et al. "Morphology and pollen viability of *Lolium multiflorum* Lam". *Ciência e Agrotecnologia*, 2012, vol. 36, pp. 180-188.

PAREDES, S. Fenología reproductiva de dos especies de pitahaya: roja (hylocereus undatus britt et rose) y amarilla (*Hylocereus megalanthus*), en el cantón Rocafuerte (Trabajo de titulación) (Pregrado) [En línea]. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. Manabí-Ecuador. 2021. pp. 1-74. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1549/1/TTA33D.pdf.

PILAR, S. Análisis bibliográfico del uso de colorantes de cáscara de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) frente a colorantes sintéticos (Trabajo de titulación) (Pregrado) [En línea]. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Química y Farmacia. Guayaquil-Ecuador. 2021. pp. 1-79. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/58872/1/BCIEQ-T.

POVEDA, G. "Demand of the Ecuadorian Pitahaya towards the Dutch Market Period 2014-2015". Biodiversity International Journal [En línea], 2018, (Ecuador) 2(1), pp. 8-11. [Consulta: 16 abril 2022]. Disponible en: https://medcraveonline.com/BIJ/demand-of-the-ecuadorian-pitahaya-towards-the-dutch-market-period-2014-2015.html.

RAMÍREZ, Y.; et al. "Ethnobotanical, nutritional and medicinal properties of Mexican drylands Cactaceae Fruits: Recent findings and research opportunities". Food Chemistry [en línea], 2021, (México) 312(1), pp. 1-13. [Consulta: 14 junio 2022]. ISSN: 0308-8146.Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814619322228.

RAMÍREZ, A.; & ROMERO, A. Polinización asistida en el cultivo de palma africana [Boletín Divulgativo No. 217, INIAP, Estación Experimental "Santo Domingo"] [en línea]. 1992. [Consulta: 15 julio 2022]. Disponible en: https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/3552/9/iniapeesdbd217.pdf.

RAMOS, J. Polinización natural y artificial en el cultivo de pitaya (Trabajo de titulación) (Maestria) [en línea]. Universidad de Almería. Almería- España. 2018. pp. 1-17. [Consulta: 7 junio 2022]. Disponible en: http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/8162/TFM_RAMOS%20ESTAY,%20JORGE %20GABRIEL.pdf?sequence=1.

STEWART, G.; & ROBINSON, C. *Indoor and Outdoor Allergens and Pollutants* [en línea]. Philadelphia: Elsevier, 2022. [Consulta: 07 junio 2022]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323809122000044.

SÜHSNER, C.; et al. "Germinación *in vitro* del grano de polen de las especies de *Solanum* L. del campus universitario de la UNA, San Lorenzo-Departamento Central, Paraguay". Investigaciones y Estudios-UNA [en línea], 2020, (Paraguay) 11(1), pp. 18-25. [Consulta: 15 de junio 2022]. ISSN: 2709-0817. Disponible en: https://revistascientificas.una.py/index.php/rdgic/article/view/796/802.

TALUKDAR, D. Chapter 15 - Bulk to Individuality: Specifying Plants' Cellular Functions Through Single-Cell Omics [en línea]. Academic Press, 2019. [Consulta: 07 junio 2022]. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128175323000189.

VALLADARES, I.; & POTES, A. Análisis de la producción de pitahaya en la región amazónica y los factores que inciden en el desarrollo de las exportaciones de Ecuador (Trabajo de titulación) (pregrado) [en linea]. Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Economicas, Carrera de Economía. Guayaquil-Ecuador. 2019. p. 1. [Consulta: 14 junio 2022]. Disponible en: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/46350/1/T-

VALLADARES%20MONSERRATE%20IRALDA%20%26%20POTES%20RAMIREZ%20A NGGIE.pdf.

VARGAS, Y.; et al. Manual del Cultivo de Pitahaya para la Amazonía Ecuatoriana [en línea]. Joya de los Sachas-Ecuador: INIAP, 2020. [Consulta: 14 junio 2022]. Disponible en: https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5551/1/INIAPMANUAL117-2020.pdf.

VERONA, A.; et al. "Pitahaya (*Hylocereus* spp.): Cultivo, características fisicoquímicas, composición nutricional y compuestos bioactivos". Scientia Agropecuaria [en linea], 2020, (Perú) 11(3), pp. 439-453. [Consulta: 14 junio 2022] ISSN: 2077-9917. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2077-99172020000300439.

ANEXOS

ANEXO A: EVALUACIÓN DE FLORES DE LOS ECOTIPOS DE PITAHAYA ROJA



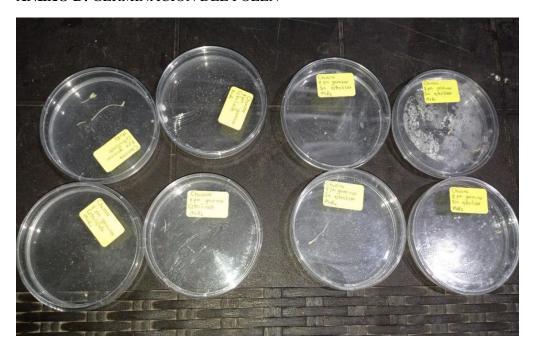
ANEXO B: RECOLECCIÓN DEL POLEN



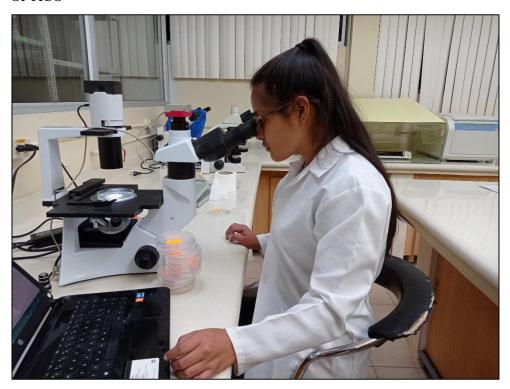
ANEXO C: COLOCACIÓN DEL POLEN EN EL MEDIO DE GERMINACIÓN



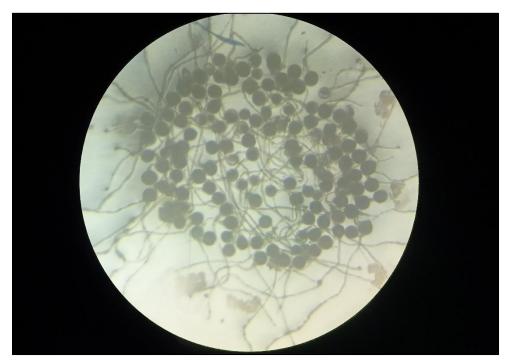
ANEXO D: GERMINACIÓN DEL POLEN



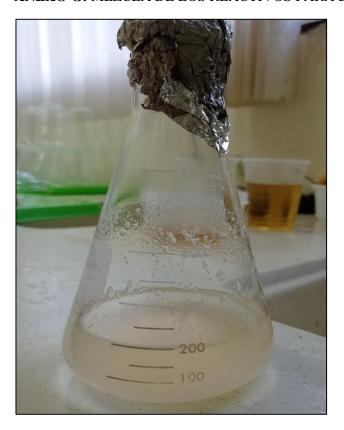
 \mathbf{ANEXO} E: LECTURA DE LA GERMINACIÓN DEL POLEN EN UN MICROSCOPIO ÓPTICO



ANEXO F: GRANOS DE POLEN GERMINADOS



ANEXO G: MEZCLA DE LOS REACTIVOS PARA EL MEDIO DE CULTIVO



ANEXO H: ESTERILIACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO





ANEXO I: COLOCACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO EN LAS CAJAS PETRI



