

ENFOQUE MULTIDISCIPLINARIO PARA SOLUCIÓN EN EL AGRO COLOMBIANO: EL CASO PITAHAYA AMARILLA *Selenicereus megalanthus*

MULTIDISCIPLINARY APPROACH FOR COLOMBIAN AGRICULTURE SOLUTION: THE YELLOW PITAHAYA CASE *Selenicereus megalanthus*

Maria Caetano Creuci^{1*}, Felipe Otálvaro Tamayo², Jaime Eduardo Muñoz³,
Juan Gonzalo Morales⁴, Rocío Stella Suárez⁵, Claudia Lorena Sandoval⁶,
Monica Andrea Martínez⁶, Dubert Yamil Cañar⁶, Richard Danilo Peña⁶,
Édicson Parra Sánchez⁶, Efrén Muñoz Galíndez⁶, Ruben Darío Rojas⁶,
José René Jiménez⁶, Adriana Elizabeth Benavides⁶ y Leonardo Fabio Pérez⁷

¹ Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Valle, Colombia. cmcaetano@unal.edu.co

² Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. pipelion@udea.edu.co

³ Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Valle, Colombia. jemunozf@unal.edu.co

⁴ Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín, Colombia. jgmorealeso@unal.edu.co

⁵ Universidad del Quindío, Armenia, Colombia. rociosuarezr@gmail.com

⁶ Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira, Valle, Colombia. loresaldoval82@hotmail.com, martinem@unal.edu.co, dycanars@unal.edu.co, rdpnac@unal.edu.co, eaparras@unal.edu.co, emunozg@unal.edu.co, rdrojas@unal.edu.co, jrjimenezc@unal.edu.co, adriana8855@gmail.com.

⁷ Asoppitaya, Valle, Colombia. capablanca70@hotmail.com

Recibido: Agosto 23 de 2010

Aceptado: Marzo 14 de 2011

*Correspondencia del autor. Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Carrera 32, 12- 00, Chapinero
via Candelaria, Palmira, Valle del Cauca, (57) 2 271 7055.
cmcaetano@unal.edu.co

RESUMEN

Este trabajo muestra la importancia de la aplicación de un enfoque multidisciplinario en la investigación, para encontrar soluciones a las necesidades reales de los productores. Con la finalidad de incrementar el cultivo de la pitahaya amarilla en Colombia, por la oferta de genotipos seleccionados, se realizaron caracterizaciones morfológica, citogenética, físico-química, nutricional, molecular y fitoquímica. Se elaboró la lista de descriptores morfológicos para la especie y sus parientes. Se confirmó su número cromosómico $2n=4x=44$. Materiales cultivados provenientes de los Departamentos productores y silvestres constituyeron un Banco de Germoplasma de Pitahaya. Sistemas de propagación *in vitro* mostraron resultados positivos; también se validaron métodos de propagación por estacas, en dos pisos térmicos diferentes. Con los datos morfológicos, físico-químicos y nutricionales se seleccionaron (pre-mejoramiento) 10 genotipos con caracteres agronómicos sobresalientes. Estos datos más los moleculares y fitoquímicos (los cuales evidenciaron un solo quimiotipo para pitahaya amarilla en Colombia) muestran muy baja variabilidad genética en pitahaya amarilla, lo que tiene implicaciones en cuanto a la sanidad del cultivo y selección de material de siembra. Pruebas de patogenicidad comprobaron, en condiciones *in vitro*, el ataque de *Fusarium oxysporium* también en el tallo. Bioensayos evidenciaron un complejo biótico para las principales enfermedades del cultivo. Toda esta información contribuye al establecimiento de un plan de manejo para la pitahaya amarilla.

Palabras-clave: *Selenicereus megalanthus*, pre-mejoramiento, banco de germoplasma, materiales élite, número cromosómico, quimiotipo.

ABSTRACT

This study shows the importance of a multidisciplinary approach implementation to find solutions to farmers' real needs. In order to elevate yellow pitahaya cultivation in Colombia by offering selected genotypes, characterizations at morphological, cytogenetic, physical-chemical, nutritional, molecular and phytochemical level were made. The morphological descriptors list for the species and relatives was elaborated. Chromosome number $2n=4x=44$ of yellow pitahaya was corroborated. Cultivated materials from the wild and productive department were established in a Pitahaya Germ Plasm Bank. *In vitro* propagation was highly efficient; conventional methods of propagation by cutting, in two different locations, were also corroborated. By using morphological, physical-chemical and nutritional data, ten genotypes with interesting traits were selected (pre-breeding). Molecular and phytochemical data (those which showed only one Colombian yellow pitahayachemotype) showed little genetic variability in yellow pitahaya, which has important implications in terms of pest control and seed materials selection. Pathogenicity essays confirmed, in *in vitro* conditions, that *Fusariumoxysporium* also affects pitahayacladodia. Bio essays exhibited a biotic complex determining common diseases in yellow pitahaya. All this information contributes to establish a management design of yellow pitahaya.

Key words: *Selenicereus megalanthus*, pre-breeding, germ plasm bank, top materials, chromosome number, chemotype.

INTRODUCCIÓN

La pitahaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran se comenzó a cultivar comercialmente en Colombia a inicios de la década de los 80, principalmente con fines de exportación, promovida como cultivo de diversificación de zonas cafeteras por el Programa de Desarrollo y Diversificación de la Federación Nacional de Cafeteros. El éxito inicial logrado por la pitahaya en los mercados de Japón y Europa, gracias al fomento que hicieron la Federación Nacional de Cafeteros y PROEXPO, indujo un incremento significativo del área sembrada que llegó a 1.016 hectáreas en 1990. Este proceso se frenó por el cierre del mercado japonés a partir de 1989, por la detección de larvas de mosca de la fruta en algunos embarques de pitahaya colombiana, a la inexistencia de un mercado nacional que pudiera absorber la producción, y al desarrollo de problemas de carácter fitosanitario que redujeron la productividad y calidad del cultivo y disminuyeron su rentabilidad.

Aun así Colombia ha exportado pitahaya a los mercados europeos en forma continua y fue el único proveedor, hasta finales de 1998, cuando Israel comenzó a enviar cantidades pequeñas al mercado⁽¹⁾. Al 2009 Asoppitaya, una de las más importantes asociaciones de productores de pitahaya, con sede en Roldanillo, Valle del Cauca, alcanzó una producción de 120 ton/año/50 ha, siendo

11 toneladas exportadas. Ahora en 2010 el país vuelve a exportar la pitahaya amarilla hacia el Japón. Los principales productores son los departamentos del Valle del Cauca, Boyacá, Santander, Huila y en destaque Bolívar. En Santa Rosa del Sur la siembra de pitahaya cumple con un importante papel social, en la sustitución de cultivos ilícitos.

De acuerdo a los productores y sus representantes, además de que al 2006 no contaban con genotipos elite ni prácticas establecidas para el cultivo, existe una problemática común que se refleja por la falta de trazabilidad, de registros de las actividades agronómicas y económicas en las fincas, de las BPA y de poscosecha. Se manejan altas devoluciones en las ventas a exportadores. Siendo estacionaria, esto conlleva a que en dos épocas del año se den picos altos de producción, sin que existiera un sistema de comercialización que de manera organizada y ágil permitiera colocar este volumen de fruta en el mercado nacional e internacional. Lo anterior resultaba en dificultades al productor, pues los precios colocados por los intermediarios son tan bajos que no permitían recuperar los costos de producción.

Por lo tanto, el presente estudio realizado de 2007-2010 tuvo como objetivo general 'profundizar en el conocimiento genético y fitoquímico de la pitahaya en Colombia para fomentar su cultivo, con miras a generar valor agregado e incrementar el mercado externo e interno,

aprovechando la diversidad y variabilidad genéticas existentes y el potencial metabólico de dicho recurso natural'. Uno de los mecanismos más efectivos para ello está centrado en la oferta de genotipos seleccionados por sus características agronómicas, y que atiendan a las necesidades de los productores para responder las imposiciones del mercado(2).

De este modo, se propusieron los siguientes objetivos específicos: establecer un banco de germoplasma (colección *ex situ*) de pitahaya en el departamento del Valle del Cauca; identificar y caracterizar el germoplasma (colección *ex situ*, e *in situ* – silvestres y en fincas de productores) en lo morfoagronómico, citogenético, molecular, físico-químico y organoléptico; establecer perfiles químicos representativos del metabolismo secundario en rangos de polaridad media/alta en distintos órganos de las plantas de pitahaya; identificar diferencias en los patrones químicos de acumulación de metabolitos secundarios entre las posibles variedades de pitahaya en Colombia con miras a establecer un nuevo criterio de identificación quimiotaxonómica; identificar compuestos naturales involucrados en los mecanismos de defensa de la pitahaya hacia el ataque fúngico; establecer metodologías de aislamiento y evaluar el potencial antioxidante de los metabolitos secundarios representativos de la especie; seleccionar entre el germoplasma disponible y debidamente caracterizado, materiales promisorios de pitahaya (pre-mejoramiento), para uso directo o que sustenten el desarrollo de un programa de mejoramiento genético; diseñar sistemas de propagación para difusión de materiales élites.

MATERIAL Y MÉTODOS

Lugares de ejecución: laboratorios y lote de cultivos de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira; 30 fincas productoras de pitahaya amarilla ubicadas en Boyacá, Cundinamarca, Huila, Risaralda, Santander y Valle del Cauca; ensayos en Quindío y Valle; colectas de materiales silvestres en Cauca, Cesar, Huila, Tolima y Valle. Extraordinariamente, otras fincas de Santa Rosa del Sur, Bolívar.

Materiales botánicos: consistieron de tres accesiones cultivadas de pitahaya amarilla por finca, con tres repeticiones por planta. Estas junto a las accesiones silvestres y parientes, pasaron a conformar el Banco de Germoplasma de Pitahaya, debidamente documentado. De los mismos materiales se tomaron muestras para los análisis fitoquímicos, moleculares, citogenéticos, fisi-

co-químicos y nutricionales. Y además, para los ensayos de propagación y patogenicidad. Análisis morfológicos de cada material se realizaron en campo, durante la colecta.

Metodología empleada: identificación y colecta de materiales botánicos (filocladodios, frutos maduros para semillas sexuales) para introducción en el banco; adecuación del lote de cultivos e infraestructura de tutorado y semillero. Toma de datos de pasaporte para cada material y establecimiento de la base de datos del BG; para la caracterización morfoagronómica, se elaboró una lista de descriptores morfológicos. Para caracterizar y cuantificar los componentes físico-químicos y nutricionales de los frutos, se tomaron medidas físicas, químicas y bromatológicas. Para la caracterización palinológica se utilizaron descriptores palinológicos y se observaron los granos de polen mediante microscopía óptica con el método de Erdtman (1952)(3), microscopía electrónica de transmisión (MET) y Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Los estudios citogenéticos se realizaron por conteo cromosómico mitótico de meristemos radiculares de plántulas teñidas con aceto-orceína. Se determinó el índice meiótico IM y la viabilidad polínica. Los estudios de diversidad genética se hicieron a través de protocolos de extracción del ADN (4) y el método de extracción universal con Salt-Extraction(5) debidamente estandarizados para estas especies. Se trabajó con tejidos de raíz y meristemos de accesiones de pitahaya amarilla, roja y tres morfoespecies pertenecientes a la familia Cactaceae (una de Colombia y dos de Brasil); se evaluaron los metabolitos presentes en el epicarpio y la semilla de la pitahaya amarilla mediante la técnica de cromatografía de capa fina (TLC) y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); (Objetivo 4) se cuantificaron los componentes que se encuentran en cada fraccionamiento de las muestras del epicarpio por su color y su R_f (índice de retención), se purificaron a través del HPLC y se sometieron a resonancia magnética; se hicieron pruebas de acuerdo a los postulados de Koch, para conocer la susceptibilidad de accesiones seleccionadas de pitahaya amarilla frente a cepas aisladas a partir de la pudrición basal del fruto, en frutos maduros y pudrición de filocladodio, en condiciones *in vitro*, en laboratorio y bajo invernadero. Además se realizaron las pruebas correspondientes para la presencia de metabolitos secundarios de actividad fungistática y/o fungicida; se tomaron los fraccionamientos obtenidos en fases anteriores y se los sometieron a análisis de resonancia, con el fin de detectar metabolitos con potencial antioxidante; se seleccionaron algunas variables

que son importantes a la hora de indicar genotipos élitos de acuerdo a los caracteres morfológicos cuantitativos y análisis físico químicos del fruto de la pitahaya amarilla. Así mismo se hizo un estudio preliminar de viabilidad y factibilidad (según una matriz DOFA) de los materiales-élite frente a lo existente (no seleccionado); se evaluó en condiciones de campo la propagación por estacas de pitahaya amarilla con base en longitud de la estaca (50 y 100cm), haces vasculares expuestos y sin exponer a nivel basal, y presencia/ausencia del ápice. Como variables de respuesta, se consideraron el número de brotes y la longitud promedio de los mismos. Para evaluar la germinación sexual por métodos convencionales se tuvo en cuenta dos condiciones: que la semilla estuviera recién extraídas del fruto y con seis meses de almacenamiento (solamente para la pitahaya amarilla). Para la propagación de cultivo *in vitro* se evaluó la germinación de semilla sexual en condiciones *in vitro* empleando medio MS con y sin suplemento hormonal.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Descripción general de *Selenicereus megalanthus*: la pitahaya amarilla presenta cladodios conformados por tres costillas que forman un triángulo en corte transversal, aunque en algunas accesiones se observó que la base de los cladodios tenía entre cuatro a siete costillas y terminaba con tres. El margen de los cladodios varía desde cóncavo, levemente cóncavo a liso. El número de aristas está entre 13 a 47 aristas, entre más aristas más largo es el cladodio. Cada arista presenta entre dos a tres acúleos, de 3 a 5mm aproximadamente, sobre las

areolas y dos muy delgados. La distancia entre las aristas varía (3,78 a 6,70 cm) así como la altura de las concavidades entre areolas (0,24 a 0,41cm). De las aristas surgen las nuevas yemas vegetativas. La flor es de gran tamaño (25cm de largo aproximadamente), hermafrodita, completa, simétrica, de ovario ínfero, con numerosos estambres y pétalos de color blanco. Presenta brácteas y acúleos en la parte basal. La planta produce muchas flores que nacen en cada arista. Cada flor se abre al inicio de la noche y tiene corta duración, cerrándose al amanecer. Los frutos son de tipo baya, color amarillo intenso, pulpa blanca, succulentos y dulces, de forma ovalada a alargada, desde 6 a 12cm de longitud. Presentan entre 30 a 50 brácteas, cada una con 9 a 20 acúleos y el tamaño va desde 0,8 a 1,12cm. El peso del fruto está entre 50 a 400g, con numerosas semillas (41 a 800), pequeñas (0.32 a 0.47cm x 0.22 a 0,29 cm) de color oscuro, brillantes, oblongas y lisas(2) (Figura 1).

El cultivo de pitahaya amarilla en Colombia: se puede encontrar desde los 1180 a 1932msnm, con una temperatura media anual que fluctúa entre 18 a 24oC. Caracterizase como un cultivo de laderas, por la pendiente. La edad de los cultivos varía desde muy jóvenes (aproximadamente 1 año de siembra) hasta muy viejos (de 22 a 55 años), pero la mayoría tienen entre 4 a 8 años. Pueden ser encontrados como monocultivos o en asocio, en especial con plátano, banano y café, los cuales les confieren sombrío. Para cultivar la pitahaya, cada planta necesita un área de 4,59+ 5,60m². El promedio de distancia de siembra entre surcos es de 3m, entre plantas de 1,5m y entre postes de 4,5m. El tipo de tutor



Figura 1. La pitahaya amarilla, floración y frutificación.

varía de la finca y del departamento, puede ser en concreto, guadua y madera (forma de siembra en T, con tres alambres y una guaya), sobre roca o tutor vivo como árboles de nacedero (*Trichanthera gigantea* (Bonpl.) Nees), urapán (*Fraxinus chinensis* Roxb.) y mata-ratón (*Chloridiasp.*) (Figura 2). Los manejos agronómicos que el agricultor le da al cultivo de pitahaya están desde el uso de agroquímicos – plaguicidas, fungicidas, bactericidas y herbicidas, compuestos orgánicos y en algunos casos no fumigan. El uso de los agroquímicos depende de las decisiones y posibilidades económicas del agricultor y las condiciones climáticas. Se trata de controlar las enfermedades más comunes en el cultivo de pitahaya que son la bacteriosis (pudrición del tallo y la raíz), pudrición basal del fruto, hongos no identificados, antracnosis, peca, pudrición basal de la flor y pudrición de la raíz. Para la utilización de los productos para abono, el agricultor emplea el que más se adecue al cultivo y al tipo de suelo (sin realizar análisis de suelo, en la mayoría de los casos). Hay que resaltar que el manejo es independiente para cada productor pues, salvo excepciones, muchos no reciben ningún tipo de

asesoría técnica.

Lista de descriptores morfológicos para *Selenicereus megalanthus* y especies cercanas: se seleccionaron 44 caracteres morfológicos, siendo 34 cuantitativos y 10 cualitativos de la parte vegetativa 13, flor 16, fruto y semillas 15, los cuales se mostraron más discriminantes y son para la parte vegetativa el número inicial y final de costillas por planta, presencia, número y tamaño de los acúleos, ancho de la base de los acúleos, ángulos que forma el cladodio en corte transversal, altura de las concavidades entre areolas, número de aristas por nudo y distancia entre ellas y borde del ala (liso, levemente cóncavo y cóncavo). Para la flor, presencia, número y tamaño de los acúleos por bráctea, número de brácteas por flor, longitud de la flor, longitud de los sépalos, pétalos, estambres y ovario, color dominante de los pétalos, sépalos y brácteas, número de estambres por flor y número de filamentos en el ápice del estigma. Y fruto y semillas se tuvo en cuenta el número de brácteas por fruto, acúleos en el fruto, número de acúleos por bráctea y tamaño de los acúleos, forma del fruto (alargado,



Figura 2. Diferentes tipos de tutor empleados en fincas cultivadoras de pitahaya amarilla en Colombia. a. Tutor en concreto. b. Tutor en madera. c. Cultivo sobre rocas. d. Cultivo en invernadero. e. Cultivo asociado al árbol del nacedero y, f. Cultivo asociado al cafetal.

ovoide, redondo), forma del corte transversal del fruto, longitud y diámetro del fruto, peso del epicarpio, peso del jugo y la pulpa, número de semillas por fruto, longitud y ancho de las semillas y peso de 50 semillas por fruto.

El banco de germoplasma de pitahaya amarilla y sus parientes silvestres: se encuentra ubicado en las instalaciones de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. Cuenta con 300 introducciones tanto cultivadas como silvestres de pitahaya amarilla (*S. megalanthus* -238 accesiones-) y pitahaya roja (*H. undatus*, *H. costaricensis*, *Hylocereussp.* -36 accesiones-). Todas estas debidamente codificadas. La estructura del BG es en guadua, tipo tijera con espaldera. Distancia entre surcos y postes de 3m y entre planta 1m. Se realizan actividades como el control de malezas, plagas y abonos. Se tiene un sistema de riego por goteo y sombrío natural, así como un semillero para la multiplicación de genotipos seleccionados y enraizamiento del material proveniente de las colectas. El BG es el primer y único en todo el país y es la base fundamental para futuros programas de investigación. La propuesta de la coordinación del proyecto es que el BG tenga una forma de sostenimiento, para garantizar su continuidad. Así, se está incentivando y apoyando iniciativas de algunos estudiantes de Ingeniería Agronómica de la universidad

para desarrollar proyectos de investigación. La información de campo del BG se encuentra disponible en la página web www.bgpitahaya.netai.net.

Caracterización morfológica: dentro de las accesiones evaluadas, los caracteres morfológicos muestran una composición en su estructura bastante homogénea. Sin embargo se registran tres caracteres con una mayor variabilidad que son: la longitud del fruto, el peso del jugo y la pulpa y el número de semillas (Figura 3). En la arquitectura de la planta las variables que presentan una correlación alta son: los ángulos que forman las costillas al hacer un corte transversal en el cladodio y el tamaño de los acúleos con el ancho de la base de los acúleos. Y en el fruto y semilla las variables con correlación alta son: el peso del fruto con el diámetro y éstos a su vez con el peso del jugo y la pulpa, el peso del epicarpio y el número de semillas. También hay correlación entre el peso de la semilla con el ancho de la semilla y la longitud, así como el tamaño de los acúleos del fruto con el peso del fruto y el diámetro. Las variables que contribuyen más a la separación intraespecífica de la pitahaya amarilla y que explican el 74,62% de la variabilidad total de las accesiones estudiadas en los componentes principales CP son: el peso del fruto, el diámetro del fruto, el peso del epicarpio y el peso del jugo y la pulpa. El número de semillas y el tamaño de



Figura 3. Frutos de pitahaya en diferentes estadios de maduración. Nótese restos de la flor en el fruto (arriba derecha) y numerosas semillas dentro del fruto.

los acúleos tienen un peso significativo. El análisis de agrupamiento permitió distinguir cuatro grupos y son: primer grupo fincas de Boyacá, Huila y Valle del Cauca; en el segundo grupo fincas de Boyacá y Valle del Cauca; en el tercer grupo las fincas de Boyacá y Santander; y en el último grupo una finca del Valle del Cauca. Estos grupos muestran una baja variabilidad genética entre las accesiones estudiadas de pitahaya, y no es posible separarlas en grupos geográficos ya que todas mantienen una misma diversidad genética.

Caracterización físico-química y nutricional: los resultados tanto físicos como bromatológicos indican que los frutos de pitahaya amarilla son comercialmente viables por su relación cáscara-pulpa (37,42%/61,35%). Respecto a sus contenidos nutricionales se muestra un elevado contenido de humedad (80-86%), un bajo aporte en el porcentaje extracto etéreo (0,17-0,83), porcentaje de proteína (0,25-0,98), porcentaje de minerales (0,12-0,48) y un porcentaje fibras total (0,39-1,14). El % de materia seca total oscila entre (11,05 a 19,03) y se observa un alto porcentaje de carbohidratos (10-16%) por lo que se correlaciona con su alto contenido energético de (2499,94-4371,92 cal/gr). En sus análisis químicos sus sólidos solubles del material oscilan (11,9 a 17,18°Brix), su acidez titulable se mantiene (0,74 a 1,38 g ácido cítrico/100 g de peso fresco); se mantiene

también un pH reducido que permite clasificarlo como un alimento medianamente ácido (4,23-5,0) y el índice de madurez va desde 9,97 a 18,9.

Caracterización polínica: el polen es un micro-marca-dor morfológico seguro para la identificación de una especie, por ser genéticamente determinado y no sufrir influencias ambientales. Además, el origen del polen puede influir en algunas características morfológicas, fenológicas y químicas de las semillas y los frutos. Las muestras polínicas de pitahaya amarilla se caracterizan por ser trizonocolpadas, reticuladas, con espínulas (< 5µm), contorno circular en vista polar y romboidal en vista ecuatorial; tamaño polínico grande de 89 µm (93µm) 96 µm; asociación: mónada, isopolar y radiosimétrico. En cuanto a la forma de los granos, es oblado esferoidal; el tectum midió 200 nanómetros de grosor determinado mediante MET, y se observó discontinuo, subtectado; el infratectum es granular columnelar de 0.8 a 1µm, en MEB se midieron microespínulas de 1,71µm (Figura 4).

Estudios citogenéticos: el análisis citogenético de la pitahaya roja y de la amarilla confirmó sus números cromosómicos $2n=22$ y $2n=44$ respectivamente. Considerando un $x=11$, la pitahaya amarilla es un tetraploide. Aunque se trate de un aloploiploide (por tanto con

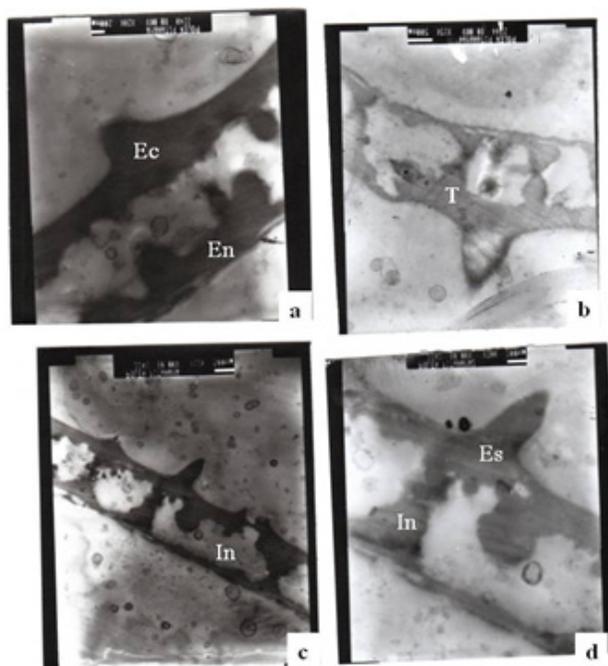


Figura 4. Corte de la exina con MET, infratectum granular columnelar (In), espínulas (Es), ectexina (Ec), endexina (En), tectum (T). (Escala 200nm).

subgenomas distintos), el elevado índice meiótico (superior al 95%), indica la formación de bivalentes posiblemente por homeología cromosómica, lo que sugiere alopoliploidias segmental. Conocer el nivel de ploidía es esencial para el avance en la formación de híbridos, los cuales podrán ser portadores de caracteres agronómicos deseables, como la resistencia a enfermedades o a nemátodos.

Caracterización molecular: la técnica RAMS permitió discriminar los materiales según el género que pertenecen *Selenicereus* (*S. megalanthus* de Colombia y *Selenicereus* sp. de Brasil) e *Hylocereus*. Además permitió detectar posibles accesiones duplicadas procedentes de los departamentos de Boyacá, Valle del Cauca y Risaralda (Figura 5). En el análisis de agrupamiento se observa que *S. megalanthus* muestra un menor coeficiente de variación, mientras que con *Hylocereus* spp. pasó al contrario. La heterocigosidad promediada para la población total fue de 0.1366, revelando poco polimorfismo genético en los grupos analizados, lo que sugiere una baja variabilidad entre las accesiones de pitahaya amarilla, predominando los haplotipos. Estos resultados pueden estar asociados a la naturaleza autógama de la planta y al tipo de reproducción asexual preferencial en la multiplicación de materiales. El porcentaje de *loci* polimórficos fue de 53.13%.

Perfiles químicos: se evidenció la ausencia de perfiles químicos para la técnica TLC y HPLC puesto que se encontró la misma cantidad de compuestos en las 30 accesiones testeadas, de las cuales se logró cuantificar 12 de ellos en epicarpio (distancia del centro de la mancha entre 0.5 a 5,6 y distancia al límite del sol-

perfiles químicos: se evidenció la ausencia de perfiles químicos para la técnica TLC y HPLC puesto que se encontró la misma cantidad de compuestos en las 30 accesiones testeadas, de las cuales se logró cuantificar 12 de ellos en epicarpio (distancia del centro de la mancha entre 0.5 a 5,6 y distancia al límite del sol-

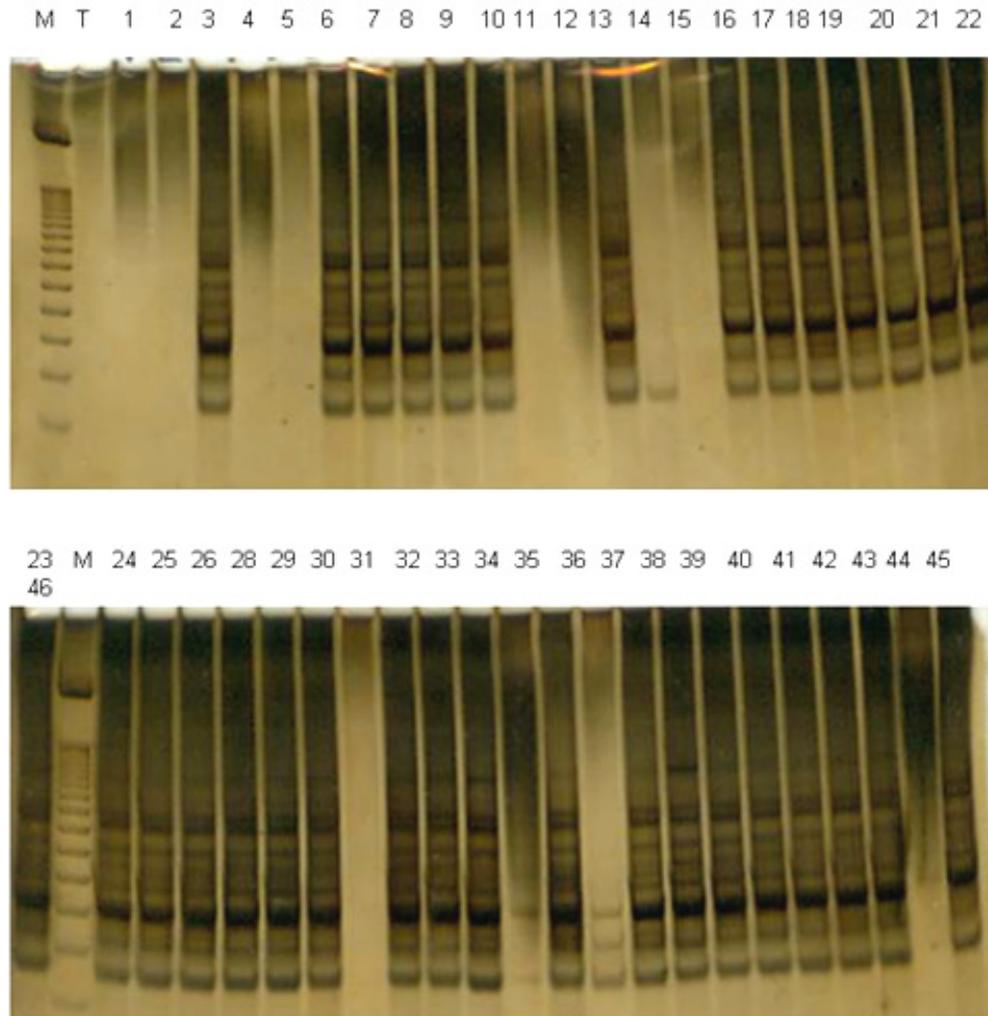


Figura 5. Resultado de la secuencia de ADN de las 44 accesiones estudiadas. Los números de 1-35, 38, 40, 41 y 46 pertenecen a *S. megalanthus*; 36 y 37, a la morfoespecie del Brasil; 39, morfoespecie de Colombia; 43-45, pertenece a *Hylocereus* sp.

vente de 5,6) y ocho en semillas, mediante TLC y revelador anisaldehído, los cuales presentan gran variedad de R_f (factor de retención entre 11.2 y 1). Esto se debió a la composición estructural de los compuestos, que en gran medida determinan la naturaleza polar de los mismos. Además el solvente de extracción y de saturación de la placa de sílica gel 60 es diclorometano, con lo cual se permite arrastrar con mayor eficiencia los componentes del extracto(6). En las corridas de los diferentes fraccionamientos, se determinó que los compuestos son los mismos en todas las muestras, sin embargo varía la concentración de sus componentes debido a las condiciones ambientales en que se encontraban las muestras (clima, piso térmico, condición de suelo, entre otras). Se presentaron picos en los momentos 2,60 min y 3,00 en las todas las muestras formándose una campana de Gauss, lo cual significa que en estas condiciones los perfiles fitoquímicos de las accesiones se comportan de manera similar (Figura 6).

Patrones químicos de acumulación de metabolitos secundarios: los resultados en TLC y HPLC muestran la ausencia de quimiotipos en pitahaya amarilla, debido a que no existe variedad en el número de compuestos, en el tiempo de retención en el HPLC y la distancia recorrida sobre la placa de sílica gel en la primera técnica. Estos resultados están de acuerdo con las caracterizaciones morfológica, morfoagronómica y molecular, que mostraron una baja variabilidad genética en esta especie. Dependiendo de las condiciones ambientales de los cultivos, lo que varían son las concentraciones de los componentes de las muestras. Por tanto, no es posible establecer un criterio de identificación quimiotaxonómica para la pitahaya amarilla en Colombia.

Pruebas fitopatológicas: los materiales empleados en la prueba de filocladodios manifestaron susceptibilidad al ataque de una cepa de *Fusarium* sp. Los síntomas evidenciados fueron una pudrición seca en el sitio de

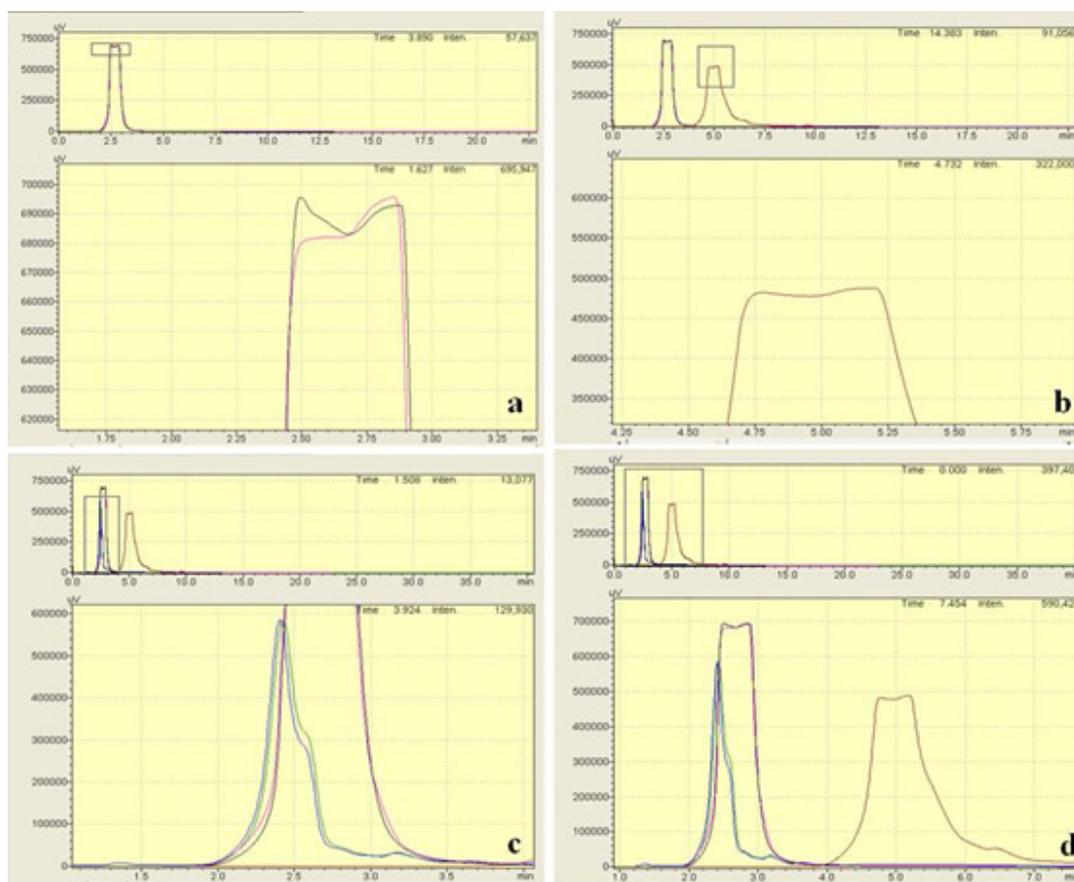


Figura 6. Perfiles químicos del epicarpio de pitahaya amarilla. Cromatograma obtenido a través de extracción con metanol. ay b. Corrida con la fase acuosa. a. Corrida realizada con acetonitrilo, metanol (dmc)= compuesto de polaridad media. b. Corrida realizada con acetonitrilo2, methanol1, agua1. Compuesto de polaridad alta. c y d. Corrida realizada con la fase clorofórmica.

inserción del micelio caracterizado por una coloración rojiza, que se presentó al cuarto día de inoculación. Posteriormente el día octavo se observó que esta pudrición avanzaba por los haces vasculares. Entonces se aisló y el desarrollo micelial en PDA aéreo fue blanco y el medio se tornó color púrpura salmón, correspondiendo a especies de la sección *Liseola*, *Elegans* y *Martiella*, encontrándose especies como *F. moniliforme*, *F. oxysporum* y *F. solani* según la descripción de Nelson *et al.* (7) (Figura 7). La prueba de susceptibilidad en frutos fue positiva para una cepa del género *Fusarium* sp. La cepa manifestó pudrición seca en la base del fruto al cabo del octavo día, con la aparición de un amarillamiento alrededor del sitio de punción; posteriormente se expandió hasta 4-8 cm al duodécimo día. La prueba en invernadero sobre filocladodios arrojó positivo en una cepa de un microorganismo hasta ahora desconocido.

Presencia de metabolitos secundarios de actividad fungistática y/o fungicida *in vitro*: los extractos de pitahaya amarilla en cáscara y semilla no mostraron efecto fungicida ni fungistático frente al testigo, mientras el tratamiento con *Swinglea glutinosa* mostró control total de las cepas inoculadas. Los extractos obtenidos a partir de DCM se tienen constantes dieléctricas iguales o inferiores a 9 (6) significando que estos compuestos tienen así un componente de tipo polar, por tanto los componentes menos polares, serán retenidos por la fase estacionaria. Esto indica que el compuesto posee una polaridad medianamente alta (8), lo que muestra que los metabolitos extraídos de polaridad media de la pitahaya amarilla no inhiben a una concentración de 50.000 ppm, los hongos

caracterizados como probables agentes causales de la pudrición basal del fruto, al menos en las condiciones expuestas.

Potencial antioxidante de los metabolitos secundarios representativos: el jugo (pulpa) de pitahaya amarilla mostró amino compuestos libres totales. La prolina fue el aminoácido predominante (1837.2 mg/kg de jugo), siguiéndole la glutamina (542.5 mg/kg) y el ácido glutámico (105.2 mg/kg). En el jugo de pitahaya amarilla no están presentes las betalainas(9). El contenido de polifenoles totales (en $\mu\text{mol}/100\text{g}$) en la porción comestible de pitahaya amarilla fue de 456, y no se encontraron flavonoides específicos ni polifenoles simples. Estos valores están por debajo de los encontrados en muchas frutas, entre ellas el coco con 9.245 (10). Los polifenoles constituyen un grande y versátil grupo fitoquímico de antioxidantes naturales muy benéficos en la prevención de muchas enfermedades. Por tanto, tratándose de propiedad antioxidante, la cáscara de la pitahaya amarilla es una materia prima potencial para explotación de antioxidantes, pues ahí se concentran pigmentos como betasantinas. Sin embargo, las pitahayas rojas presentan mejor potencial antioxidante (presencia en al menos una del flavonoide rutina en la pulpa de *Hylocereus costaricensis*, en otras betacianinas) tanto en la pulpa como en la cáscara. Estos pigmentos podrán ser utilizados en la industria alimenticia, una vez mejor evaluados, pues en presencia de los componentes lácteos, de ambos los grupos de pitahayas (amarilla y roja) mostraron cierta labilidad.

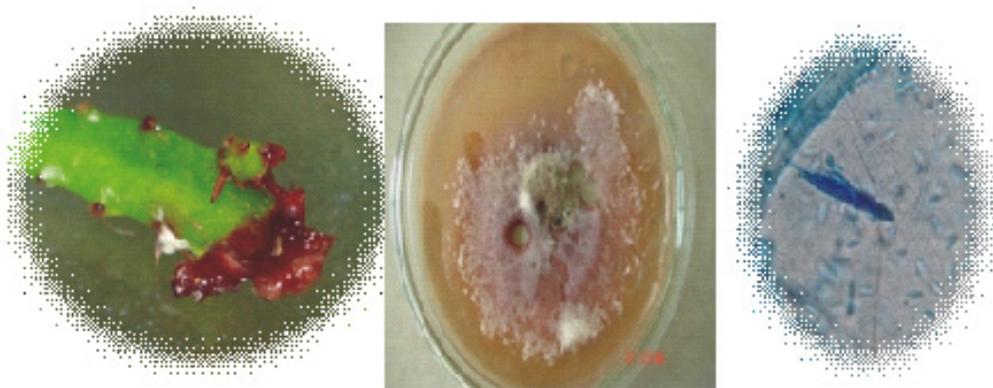


Figura 7. Fases de la prueba fitopatológica evidenciando presencia de *Fusarium* (A. Filocladodio infectado. B. Cultivo monospórico. C. Macroconidias)

Materiales promisorios de pitahaya amarilla: de acuerdo con los caracteres morfológicos cuantitativos de la pitahaya amarilla, se seleccionaron genotipos colectados en Boyacá y Valle del Cauca, que presentaron los mejores valores para las variables número de acúleos por arista (entre 14,2 a 31,6), altura de las ondulaciones entre areolas (2,4 a 3,4cm), como peso del fruto (256 a 498g), diámetro del fruto (4,1 a 8,54cm), peso del endocarpio (28,7 a 158,8g), y peso del jugo y la pulpa (173 a 239g), estos últimos de acuerdo a las características agronómicas favorables nombradas en la NTC 3554 (11). Se observó que un mayor diámetro de fruto se relaciona con formas más redondas y alto contenido de pulpa, preferidas en ciertos mercados externos. Según las características físico-químicas y nutricionales, ocho variables presentaron resultados más discriminantes que son sólidos solubles (11,9 a 17,18), peso del fruto (calibre 9 según la NTC 3534, entre 140,65 a 348,9g), materia seca (11,5 a 19,03), extracto etéreo (EE 0,17 a 0,84), proteína (0,25 a 0,98), fibra (0,39 a 1,14), energía calórica bruta (2499,94 a 4371,92) y carbohidratos (CBH 10,74 a 20,11). Al correlacionar los datos morfológicos y los físico-químicos y nutricionales, finalmente se han seleccionado 10 genotipos, así nombrados: de *S. megalanthus*, UNAPAL MEGA 1 hasta UNAPAL

MEGA 10. Estos se encuentran depositados en el BG de pitahaya en Palmira.

Sistema de propagación vegetativa de pitahaya amarilla: Estadísticamente se encontraron diferencias a nivel del tamaño de la estaca, presentando mayor número de brotes (entre 3 y 7) aquellas con longitud mayor o igual a 100 cms; la exposición de los haces vasculares en la parte basal y la eliminación del ápice interactuaron con la longitud del brote. Para el Municipio de Roldanillo se reporta el mayor número de brotes promedio. 3. y mayor longitud de los mismos con una media de 57.8 cms. En condiciones de invernadero se obtuvo un brote promedio por estaca con un diámetro de 4-5 cm. Se reporta germinación de semilla sexual entre 3 y 7 días en condiciones de luz. Se logró el establecimiento y la micropropagación a partir de hojas cotiledonares y segmentos de filocladodios en los medios de cultivo 1 (MS + BAP 3 mg/L + ANA 0.1 mg/L) y 3 (MS + Kinetica 2 mg/L + BAP 2 mg/L), con 12 y 8 brotes en promedio respectivamente, con una longitud hasta de 11.5 cm (media=5.5). (Figura 8). Las altas concentraciones de ANA en el medio de cultivo indujeron la proliferación de callos (Figura 9). Los explantes apical 12 e intermedio 8 a partir de filocladodios permitieron obtener



Figura 8. Vitroplantas de pitahaya amarilla exhibiendo varios filocladodios



Figura 9. Proliferación de callos en vitroplantas de pitahaya amarilla cultivadas en un medio de cultivo enriquecido con ANA (AcidoNaftalenacético)

el mayor número promedio de brotes (Figura 10). La aclimatación se logró en sustrato suelo:arena:turba en proporción 1:1:1, con un 100% de efectividad (Figura 11). Actualmente se tienen plántulas germinadas *in*



Figura 10. Tipos de explante empleados en la fase de micropropagación de pitahaya amarilla (apical, intermedio y basal)

vitro con más de un año de vida, registrando un crecimiento lento; no obstante, esta metodología es útil para la conservación de germoplasma.



Figura 11. Vitroplantulas de pitahaya amarilla en fase de aclimatación.

CONCLUSIONES

1. Se ha elaborado la lista de descriptores morfológicos para la especie y sus parientes, la cual será la base para futuros estudios de caracterización morfoagronómica.
2. De la encuesta con los agricultores resultó un plan simplificado y práctico para el cultivo en términos de implantación (distancia de siembra, tipos de tutores, pisos térmicos apropiados, estructura de propagación) y manejo (podas, abonos, control de plagas y enfermedades, entre otros).
3. El banco de germoplasma reúne en un solo sitio material de las diferentes regiones del país. Es el primero y único, debidamente documentado, siendo la base fundamental a nuevos programas de investigación.
4. Los resultados de los análisis físico-químicos y nutricionales entregan una orientación sobre las estrategias de la transformación de pitahaya amarilla para obtener productos con una vida útil que permita darle mayor valor agregado para incrementar su comercialización. Además de por sí puede generar valor agregado porque pueden ser la base para una denominación de origen geográfico regional o departamental ya que se nota una correlación entre piso térmico, condiciones agroecológicas y características físico-químicas y nutricionales.
5. Igualmente la cáscara de la pitahaya amarilla puede constituirse un recurso a ser explota-

do por la presencia de compuestos antioxidantes. Los pigmentos tanto de pitahaya amarilla como roja pueden ser utilizados en la industria alimenticia.

6. Los datos fitopatológicos evidencian un complejo fúngico determinando la pudrición basal del fruto. En condiciones *in vitro* el patógeno *Fusarium oxysporium* mostró afectar el filocladodio, además del fruto. La pitahaya amarilla no produce fitoalexinas, compuestos con actividades fungicidas y o fungistáticas.
7. Los protocolos y metodologías desarrollados o adecuados (fitoquímica, molecular, sistemas de propagación, fitopatología, por ejemplo) son un aporte para nuevas y similares caracterizaciones.
8. La propagación por cultivo *in vitro* es útil para conservación de germoplasma. Sin embargo, la preferencia para siembra está en la multiplicación convencional por estacas de filocladodio, por el menor tiempo para la producción.
9. Los datos morfológicos, físico-químicos, moleculares y fitoquímicos comprueban una muy baja variabilidad genética, lo que es determinante para tomar decisiones en cuanto al manejo del cultivo, propagación y obtención de materiales de siembra.
10. Los materiales élite obtenidos en la etapa de pre-mejoramiento constituyen la base para futuros programas de mejoramiento, los cuales están en proceso de formulación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Corporación Colombia Internacional CCI. 1999. Perfil de producto pitaya. Boletín CCI: Sistema de Inteligencia de Mercados. Perfil de producto. (N°5, Julio-septiembre, 1999).
2. Caetano, C.M. 2010. Informe técnico. Identificación de recursos genéticos y fitoquímicos de pitahaya en Colombia. Programa “Desarrollo tecnológico del cultivo de la pitahaya amarilla en Colombia”. Proyecto IICA 117-2/06.
3. Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperms (an introduction to palinology). Leiden: E.J. Brill. (reimpr. 1986). 553pp.
4. Dellaporta, S.L. 1983. Wood J. and Hicks JB. A plant DNA miniprep: version II. *Plant Mol-Biol Rep* 1: 19-21.
5. Aljanabi, S.M. y Martinez, I. 1997 Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 25:4692-4693.
6. Reichardt, Christian. 1979. Solvents and Solvents Effects in Organic Chemistry. [en línea]. Germany. (reimpreso en 2003). [Febrero del 2010]. Disponible en: [http://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=DHGb8rIYt_MC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Solvent s+and+Solvents+Effects+in+Organic+Chemistry.&ots=Rhm9SIlp2A&sig=QJdYMO5O7KJ6qKvOsQVI8eFFqXQ#v=snippet&q=dichloromethane&f=false](http://books.google.com.co/books?hl=es&lr=&id=DHGb8rIYt_MC&oi=fnd&pg=PA1&dq=Solvent+s+and+Solvents+Effects+in+Organic+Chemistry.&ots=Rhm9SIlp2A&sig=QJdYMO5O7KJ6qKvOsQVI8eFFqXQ#v=snippet&q=dichloromethane&f=false)
7. Nelson P., Touso T., Marasas F. 1983. An Illustrated Manual for Identification. Penn State Press University. Pennsylvania. United State of America.
8. Escuela de Química. 2005. Práctica de fuerzas intermoleculares manual de laboratorio. Universidad Nacional de Colombia, Medellín. Facultad de Ciencias.
9. Kugler, F., Graneis, S., Schreiter, P.P.-Y., Stintzing, F.C., Carle, R. 2006. Determination of Free Amino Compounds in Betalainic Fruits and Vegetables by Gas Chromatography with Flame Ionization and Mass Spectrometric Detection. *J Agric Food Chem* 54: 4311-4318.
10. Kumazawa, S., Ikenaga, M., Usui, Y., Kajiya, K., Miwa, S., Endo, J., Chikasawa, C., Suzuki, Y., Shimoi, K., Nakayama, T. 2007. Comprehensive analysis of polyphenols in fruits consumed in Japan. *Food Sci Technol Res* 13(4): 404-413.
11. ICONTEC. 1996. Norma Técnica Colombiana 3554. Frutas frescas. Pitahaya amarilla. 12p.