

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA



“Establecimiento de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. (Var. Emerald), en dos medios de cultivo mediante el manejo de factores del ecosistema *in vitro*”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERO
AGRÓNOMO

AUTOR

JOSÉ MANUEL GUAMÁN QUISPE

TUTOR

Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.

AMBATO - ECUADOR

2021-2022

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

El suscrito, GUAMÁN QUISPE JOSÉ MANUEL, portador de cédula de identidad número: 1804967865, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “Establecimiento de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. (Var. Emerald), en dos medios de cultivo mediante el manejo de factores del ecosistema *in vitro*” es original, auténtico y personal. En la virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



.....

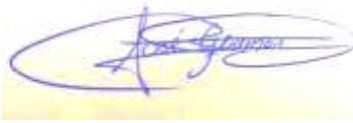
José Manuel Guamán Quispe

DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “ESTABLECIMIENTO DE SEGMENTOS NODALES DE *Vaccinium corymbosum* L. (Var. Emerald), EN DOS MEDIOS DE CULTIVO MEDIANTE EL MANEJO DE FACTORES DEL ECOSISTEMA *IN VITRO*”, como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniero Agrónomo, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice copia de este informe final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o parte de él”.



.....
José Manuel Guamán Quispe

“ESTABLECIMIENTO DE SEGMENTOS NODALES DE *Vaccinium corymbosum* L. (Var. Emerald), EN DOS MEDIOS DE CULTIVO MEDIANTE EL MANEJO DE FACTORES DEL ECOSISTEMA *IN VITRO*”

REVISADO POR:



Firmado electrónicamente por:
MICHEL LEIVA MORA

.....
Ing. Michel Leiva Mora Dr. C.
TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN



Firmado electrónicamente por:
**MARCO OSWALDO
PEREZ SALINAS**

FECHA

.....
Ing. Marco Pérez PhD.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

14/09/2022



Firmado electrónicamente por:
**CARLOS LUIS
VASQUEZ
FREYTEZ**

.....
Ing. Carlos Vásquez, Ph. D.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

14/09/2022



Firmado electrónicamente por:
**EDWIN LEONARDO
PALLO PAREDES**

.....
Ing. Mg. Edwin Pallo
MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

14/09/2022

DEDICATORIA

Primeramente, a Dios por otorgarme la vida y la sabiduría, a mi madre Gladys por ser mi pilar fundamental en cada una de mis metas, objetivos y aspiraciones, por siempre apoyarme, estar a mi lado y por nunca rendirte a pesar de las adversidades que nos ha tocado vivir, a ti en especial madre querida te dedico este logro por tu esfuerzo y dedicación para conmigo, por tu amor, por orar siempre por mi futuro y estar presente en cada uno de los pasos que marcan el rumbo de mi vida ya que eso me ha permitido crecer y convertirme en el hombre que soy hoy en día: fuerte, perseverante, dedicado y sobre todo a no rendirme jamás y luchar por mis sueños y nunca dejarme vencer por las circunstancias de la vida.

A mi familia que han estado a mi lado a lo largo de este proceso donde sin su ayuda y apoyo esto no habría sido posible: a mi hermana Mary mí cuñado Byron y mi sobrina Ashly, además también a mi tío Fabián por estar ahí cuando lo necesito.

También a los ingenieros que me apoyaron en este proceso: al ingeniero Eduardo Ulloa y su esposa Silvana Villacis por abrirme las puertas de su negocio y guiándome conjuntamente con el ingeniero Juan Villacis me ayudaron con productos y conocimiento para mi trabajo de titulación, a la ingeniera María Belén Martínez y la ingeniera Daniela Recalde por darme las pautas, consejos, conocimiento y la experiencia necesaria que requería en este campo investigativo.

A mis abuelitos que a pesar que ya no estén a mi lado sus palabras siguen retumbando dentro de mi ser, dado que querían que sea una persona preparada y un buen profesional y por el corto tiempo que estuvieron conmigo me enseñaron lo suficiente para enfrentarme a la vida y son mi motivación constante para convertiré en una persona de bien.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y la Virgen en especial a la virgen del Guayco y la virgen de Agua Santa, por permitirme llegar a este punto con las personas que amo que son mi familia y por bendecirme en todo momento en mi carrera estudiantil y permitirme hacer realidad este sueño tan anhelado.

A la Universidad Técnica de Ambato en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, por brindarme la oportunidad de estudiar esta hermosa carrera he ir formando mi vida en varios aspectos tanto en el campo profesional como en el ámbito personal, por todos y cada una de las enseñanzas, vivencias y anécdotas que me han permitido ir adquiriendo el conocimiento necesario para cumplir con este objetivo tan importante que es convertirme en Ingeniero Agrónomo.

A mi tutor Ing. Michel Leiva Mora. Dr. quien siempre me brindo todo su apoyo y su valiosa guía y tiempo durante la realización de este proyecto de investigación y de igual manera al Ing. Edwin Pallo y al Dr. Carlos Vásquez por cada uno de sus consejos y enseñanzas para la elaboración de este proyecto.

A todos los docentes que me brindaron su experiencia y conocimiento en este transcurso estudiantil para llegar a este punto, serán con seguridad cimientos firmes para mi futuro profesional. A todos mis compañeros con quienes compartimos un sin número de vivencias y anécdotas durante cada uno de los semestres de estudio.

¡A todos muchas gracias!

JOSÉ MANUEL GUAMÁN QUISPE

ÍNDICE

CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Antecedentes investigativos.....	4
1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual.....	7
1.3.1. Métodos de propagación.....	7
1.3.2. Cultivo <i>in vitro</i>	9
1.3.3. Etapas del cultivo <i>in vitro</i>	13
1.3.4. Cultivo de arándano (<i>V. corymbosum</i>).....	19
1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	27
1.4.1. Hipótesis.....	27
1.4.2. Objetivos.....	27
CAPÍTULO II.....	28
METODOLOGÍA.....	28
2.1. Ubicación del experimento.....	28
2.2. Características del lugar.....	28
2.3. Equipos y Materiales.....	28
2.3.1. Material experimental.....	28
2.3.2. Equipos.....	29
2.3.3. Materiales.....	29
2.4. Factores de estudio.....	31
2.4.1. Objetivo N° 1. Determinar el medio de cultivo que permita un mejor establecimiento de segmentos nodales de arándano (Var. Emerald).....	31
2.4.2. Objetivo N° 2. Evaluar la influencia de la concentración de agar y sacarosa en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.....	31

2.4.3.	Objetivo N° 3. Evaluar la influencia de agentes de desinfección e iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de los segmentos nodales.	32
2.4.4.	Objetivo N° 4. Determinar el tipo y las concentraciones de auxinas y citoquininas que favorezcan el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.	32
2.5.	Diseño experimental	32
2.6.	Manejo del experimento	33
2.6.1.	Objetivo 1. Determinar el medio de cultivo que permita un mejor establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano (Var. Emerald).	33
2.6.2.	Objetivo 2. Evaluar la influencia de la concentración de agar y sacarosa en el establecimiento <i>in vitro</i> de los segmentos nodales.	36
2.6.3.	Objetivo 3. Evaluar la influencia de agentes de desinfección e iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de los segmentos nodales.	38
2.6.4.	Objetivo 4. Determinar el tipo y las concentraciones de auxinas y citoquininas que favorezcan el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.	40
2.7.	VARIABLES RESPUESTA.....	42
2.8.	Procesamiento de la información.....	42
CAPÍTULO III.....		43
RESUTADOS Y DISCUSIÓN.....		43
3.1.	Determinar el medio de cultivo que permita un mejor establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano Var. Emerald.	43
3.2.	Evaluar la influencia de la concentración de agar y sacarosa en el establecimiento <i>in vitro</i> de los segmentos nodales.	45
3.2.1.	Influencia de la concentración de agar en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano.....	45
3.2.2.	Influencia de la concentración de sacarosa en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano.	52
3.3.	Evaluar la influencia de agentes de desinfección e iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de los segmentos nodales.	58

3.3.1. Influencia de agentes de desinfección (Hipoclorito de sodio, Povidyn y Tween 20) y su concentración en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano.....	58
3.3.2. Influencia de la presencia y ausencia de luz en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano.	68
3.4. Determinar el tipo y las concentraciones de auxinas y citoquininas que favorezcan el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales.	75
3.4.1. Influencia del tipo de auxina y su concentración en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano.....	75
3.4.2. Influencia del tipo de citoquininas y su concentración en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano.	84
CAPÍTULO IV.....	93
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	93
3.1. CONCLUSIONES.....	93
3.2. RECOMENDACIONES.....	94
BIBLIOGRAFÍA.....	95
ANEXOS.....	105

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía del arándano	20
Tabla 2. Ciclo del cultivo de arándano.....	24
Tabla 3. Efecto del tipo de medio de cultivo en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 28 días.	45
Tabla 4. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 7 días.	46
Tabla 5. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 14 días.	48
Tabla 6. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 21 días.	49
Tabla 7. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 28 días.	51
Tabla 8. Influencia de las concentraciones de sacarosa en establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 7 días.	53
Tabla 9. Influencia de las concentraciones de sacarosa en establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 14 días.	54
Tabla 10. Influencia de las concentraciones de sacarosa en establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 21 días.	56
Tabla 11. Influencia de las concentraciones de sacarosa en establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 28 días.	57
Tabla 12. Influencia del agente de desinfección Tween 20 en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los a los 7 días.	59
Tabla 13. Influencia del agente de desinfección Tween 20 en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los a los 14 días.	61

Tabla 14. Influencia del agente de desinfección Povidyn en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 7 días.....	63
Tabla 15. Influencia del agente de desinfección Povidyn en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 14 días.....	64
Tabla 16. Influencia del agente de desinfección hipoclorito de sodio en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 7 días.	66
Tabla 17. Influencia del agente de desinfección hipoclorito de Sodio en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 14 días.	67
Tabla 18. Efecto de condiciones de iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 7 días.	69
Tabla 19. Efecto de condiciones de iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 14 días.	70
Tabla 20. Efecto de condiciones de iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 21 días.	72
Tabla 21. Efecto de condiciones de iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 28 días.	74
Tabla 22. Efecto de diferentes auxinas y concentraciones sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 7 días.	76
Tabla 23. Efecto de diferentes auxinas y concentraciones sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 14 días.	78
Tabla 24. Efecto de diferentes auxinas y concentraciones sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 21 días.	80
Tabla 25. Efecto de diferentes auxinas y concentraciones sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 28 días.	83

Tabla 26. Influencia de tipos y concentraciones de citoquininas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 7 días.	85
Tabla 27. Influencia de tipos y concentraciones de citoquininas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 14 días.	87
Tabla 28. Influencia de tipos y concentraciones de citoquininas en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 21 días.	89
Tabla 29. Influencia de tipos y concentraciones en establecimiento en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 28 días.	92
Tabla 30. Efecto del tipo de medio de cultivo en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 7 días.	105
Tabla 31. Efecto del tipo de medio de cultivo en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 14 días.	105
Tabla 32. Efecto del tipo de medio de cultivo en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald a los 21 días.	106

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagramas de actividades realizados para preparación de medios de cultivo, preparación de los segmentos nodales de <i>V. corymbosum</i> L. Var. Emerald y manejo de ensayo bajo condiciones de cámara de flujo lamina.	35
Figura 2. Diagrama de actividades realizado para la preparación de los medios de cultivo con diferentes concentraciones Agar y de sacarosa para el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>V. corymbosum</i> L. Var. Emerald.....	37
Figura 3. Diagrama de actividades desarrollados para realizar la desinfección de los explantes y determinar la influencia de diferentes condiciones de iluminación sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>V. corymbosum</i> L. Var. Emerald.	39
Figura 4. Diagrama de actividades realizado para determinar el efecto de diferentes auxinas (ANA, AIA, AIB) y citoquininas (2Ip, TDZ) en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de <i>V. corymbosum</i> L. Var. Emerald.	41
Figura 5. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> en dos medios de cultivo [MS (Murashige & Skoog) (A) y WPM (Woody Plant Medium) (B)] a los 7 días.	44
Figura 6. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> en dos medios de cultivo [MS (Murashige & Skoog) (A) y WPM (Woody Plant Medium) (B)] a los 28 días.	44
Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$	45
Figura 7. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres concentraciones de agar [8 g/L ⁻¹ (A), 10 g/L ⁻¹ (B) y 12 g/L ⁻¹ (C)] a los 7 días. .	46
Figura 8. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres concentraciones de agar [8 g/L ⁻¹ (A), 10 g/L ⁻¹ (B) y 12 g/L ⁻¹ (C)] a los 14 días.	47
Figura 9. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres concentraciones de agar [8 g/L ⁻¹ (A), 10 g/L ⁻¹ (B) y 12 g/L ⁻¹ (C)] a los 21 días.	49

Figura 10. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald en desarrollo <i>in vitro</i> con tres concentraciones de agar [8 g/L ⁻¹ (A), 10 g/L ⁻¹ (B) y 12 g/L ⁻¹ (C)] a los 28 días.	51
Figura 11. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> al utilizar concentraciones de sacarosa [25 g/L ⁻¹ (A), 30 g/L ⁻¹ (B) y 35 g/L ⁻¹ (C)] a los 7 días.	52
Figura 12. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> al utilizar tres concentraciones de sacarosa [25 g/L ⁻¹ (A), 30 g/L ⁻¹ (B) y 35 g/L ⁻¹ (C)] a los 14 días.....	54
Figura 13. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> al utilizar tres concentraciones de sacarosa [25 g/L ⁻¹ (A), 30 g/L ⁻¹ (B) y 35 g/L ⁻¹ (C)] a los 14 días.....	55
Figura 14. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> mediante el uso de tres concentraciones de sacarosa [25 g/L ⁻¹ (A), 30 g/L ⁻¹ (B) y 35 g/L ⁻¹ (C)] a los 28 días.	57
Figura 15. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> utilizando tres concentraciones de desinfección de Tween20 [1 gota/100ml (A), 2 gotas/100ml (B) y 3 gotas/100ml (C)] a los 7 días.	59
Figura 16. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> mediante el uso de tres concentraciones de desinfección de Tween20 [1 gota/100ml (A), 2 gotas/100ml (B) y 3 gotas/100ml (C)] a los 14 días.....	61
Figura 17. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres concentraciones de Povidyn [0,5 % v/v (A), 1 % v/v (B) y 1,5 % v/v (C)] a los 7 días.....	62
Figura 18. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres concentraciones de Povidyn [0,5 % v/v (A), 1 % v/v (B) y 1,5 % v/v (C)] a los 14 días.....	64
Figura 19. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres concentraciones de desinfección de hipoclorito de sodio [1 % (A), 3% (B) y 5% (C)] a los 7 días.....	65

Figura 20. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres concentraciones de desinfección de hipoclorito de sodio [1 % (A), 3 % (B) y 5 % (C)] a los 14 días.....	67
Figura 21. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres condiciones de iluminación [Luz permanente (A), Oscuridad total (B) y 12 h/Luz solar + 12 h/Oscuridad (C)] a los 7 días.	68
Figura 22. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres condiciones de iluminación [Luz permanente (A), Oscuridad total (B) y 12 h/Luz solar + 12 h/Oscuridad (C)] a los 14 días.	70
Figura 23. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres condiciones de iluminación con presencia de callos en la base de los explantes [Luz permanente (A), Oscuridad total (B) y 12 h/Luz solar + 12 h/Oscuridad (C)] a los 21 días.	72
Figura 24. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres condiciones de iluminación con presencia de callos [Luz permanente (A), Oscuridad total (B) y 12 h/Luz solar + 12 h/Oscuridad (C)] a los 28 días.	74
Figura 25. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres tipos de auxinas [AIA 1 ppm (A), IBA 3 ppm (B) y ANA 0,1 ppm (C)] a los 7 días.	77
Figura 26. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres tipos de auxinas [AIA 1 ppm (A), IBA 3 ppm (B) y ANA 0,1 ppm (C)] a los 14 días.	79
Figura 27. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres tipos de auxinas [AIA 1 ppm (A), IBA 3 ppm (B) y ANA 0,1 ppm (C)] a los 21 días.	81
Figura 28. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con tres tipos de auxinas [AIA 1 ppm (A), IBA 3 ppm (B) y ANA 0,1 ppm (C)] a los 28 días.	82
Figura 29. Brotes de <i>Vaccinium corymbosum</i> L. Var. Emerald establecidos <i>in vitro</i> con dos tipos de citoquininas [2iP 1,0 ppm (A) y TDZ 0,01 ppm (B)] a los 7 días...	84

Figura 30. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con dos tipos de citoquininas [2iP 1,0 ppm (A) y TDZ 0,05 ppm (B)] a los 14 días. 86

Figura 31. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con dos tipos de citoquininas [2iP 1,25 ppm (A) y TDZ 0,05 ppm (B)] a los 14 días.
..... 88

Figura 32. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con dos tipos de citoquininas [2iP 1 ppm (A) y TDZ 0,01 ppm (B)] a los 28 días... 91

RESUMEN

La presente investigación se desarrolló con la finalidad de evaluar algunos factores que influyen en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* como: la composición del medio nutritivo utilizado (WPM y MS), la concentración de agar y sacarosa, el protocolo de desinfección de los segmentos nodales, auxinas y citoquininas. Se empleó un diseño completamente al azar en cada experimento. Se determinó que el medio que brindó mejores resultados fue WPM, tanto en la longitud del brote, el número de hojas por planta y el número de yemas por planta, reflejando diferencias estadísticas entre los medios WPM y MS. Se empleó conjuntamente con este parámetro un protocolo de desinfección el cual se probaron tres distintos desinfectantes a distintos tiempos de acción (1, 3 y 5 minutos), consiguiendo un menor porcentaje de contaminación con hipoclorito de sodio NaOCl (3%/ 5 min), Tween 20 (2 gotas/ 5 minutos) y Povidyn (1ml/ 5 minutos), los cuales se integraron como un solo protocolo para el resto de los factores de estudio. El medio de cultivo WPM permitió un mejor establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano (Var. Emerald). Asimismo, cuando se añadieron 10 g de agar por litro se alcanzó una mayor longitud de los brotes de las plantas establecidas. Aunque la adición de sacarosa al medio de cultivo WPM no influyó en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales las concentraciones de 25 y 30 g/L-1 incrementaron el número de hojas y el número de yemas por planta. Cuando se utilizaron los agentes de desinfección Tween 20, Povidyn e hipoclorito de sodio no se observaron influencias significativas sobre: establecimiento *in vitro*, porcentaje de contaminación ni el número de brotes por explante. La iluminación no influyó en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales. El establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales no estuvo determinado ni por el tipo de auxina ni sus concentraciones, aunque en algunas combinaciones se incrementó la longitud del brote de las plantas establecidas. La presencia de citoquininas y sus concentraciones no determinó el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano, aunque en algunas combinaciones se incrementó la longitud del brote y el número de brotes por explante de las plantas establecidas. Con los resultados del presente trabajo se logró conocer la influencia de varios factores que influyen en el éxito o fracaso de la fase de establecimiento *in vitro* permitiendo obtener

el primer banco de plantas donantes *in vitro* de *V. corymbosum* Variedad Emerald en las instalaciones de la Facultad de ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en el laboratorio de biotecnología vegetal, lo cual sienta las bases para establecer a futuro protocolos de micropropagación masiva.

Palabras clave: introducción, *in vitro*, micropropagación, segmentos nodales, *Vaccinium*.

SUMMARY

The present investigation was developed with the purpose of evaluating some factors that influence the *in vitro* establishment of nodal segments of *V. corymbosum* such as: the composition of the nutrient medium used (WPM and MS), the concentration of agar and sucrose, the protocol of disinfection of nodal segments, auxins and cytokinins. A completely randomized design was used in each experiment. It was determined that the medium that provided the best results was WPM, both in shoot length, the number of leaves per plant and the number of buds per plant, reflecting statistical differences between the WPM and MS media. Together with this parameter, a disinfection protocol was used in which three different disinfectants were tested at different action times (1, 3 and 5 minutes), achieving a lower percentage of contamination with sodium hypochlorite NaOCl (3% / 5 min), Tween 20 (2 drops/ 5 minutes) and Povidyn (1ml/ 5 minutes), which were integrated as a single protocol for the rest of the study factors. The WPM culture medium allowed a better *in vitro* establishment of blueberry nodal segments (Var. Emerald). Likewise, when 10 g of agar per liter were added, a greater length of the shoots of the established plants was achieved. Although the addition of sucrose to the WPM culture medium did not influence the *in vitro* establishment of nodal segments, concentrations of 25 and 30 g/L-1 increased the number of leaves and the number of buds per plant. When the disinfection agents Tween 20, Povidyn and sodium hypochlorite were used, no significant influences were observed on: *in vitro* establishment, percentage of contamination or the number of shoots per explant. Illumination did not influence the *in vitro* establishment of nodal segments. The *in vitro* establishment of the nodal segments was not determined by the type of auxin or its concentrations, although in some combinations the shoot length of the established plants was increased. The presence of cytokinins and their concentrations did not determine the *in vitro* establishment of blueberry nodal segments, although in some combinations the length of the shoot and the number of shoots per explant of the established plants were increased. With the results of this work, the influence of several factors that influence the success or failure of the *in vitro* establishment phase will be known, obtaining the first bank of *in vitro* donor plants of *V. corymbosum* Variety Emerald in the facilities of the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Ambato in the

plant biotechnology laboratory, which lays the foundations for establishing massive micropropagation protocols in the future.

Key words: introduction, in vitro, micropropagation, nodal segments, Vaccinium.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Introducción

Los arándanos son plantas arbustivas perennes nativas del hemisferio norte con una alta distribución de alrededor de 450 a 500 especies, pertenecientes a la familia Ericaceae del género *Vaccinium*, se considera que las especies originarias de América abarcan un 35% de las mismas, siendo un 10% de Centro y Sur América y un 25% de Norte de América (**Hine y Abdelnour, 2013**).

Las bayas de arándano tienen un alto nivel nutricional y medicinal siendo ricos en antocianinas y minerales los cuales se los puede encontrar de manera natural como fruto fresco, procesados en envasados o también de manera deshidratada, convirtiéndola en una especie vegetal y frutal de gran interés económico a nivel mundial (**Hine y Abdelnour, 2013**).

En Ecuador el cultivar de *Vaccinium corymbosum* L. está incrementado su producción y venta de manera exponencial dado que es de alto interés comercial y económico a nivel mundial por sus características nutricionales y medicinales, es por esto que se ha visto la necesidad de optimizar la producción de plantas masivamente con estándares óptimos de calidad, productividad y libre de agentes patógenos con precios accesibles para los agricultores ya que se requiere de una fuerte inversión económica inicial para la implementación de este cultivo (**Brenes et al., 2015**).

En la actualidad la demanda de arándano y sus frutos han generado una retribución económica notable en los mercados, lo cual ha provocado un incremento de la producción y del área de cultivo a nivel mundial. Para satisfacer las necesidades de plantas hacia los productores se han utilizado alternativas de propagación como la micropropagación *in vitro* la cual permite obtener altos volúmenes de material y de óptima calidad (**Jiménez y Abdelnour, 2017**).

La micropropagación de variedades e híbridos y su regeneración *in vitro* es altamente dependiente del genotipo que se trabaje es por ello que se requiere realizar ajustes en los protocolos para los diferentes cultivares para satisfacer los requerimientos de cada uno (**Jiménez y Abdelnour, 2017**).

La micropropagación ha demostrado ser un método óptimo de multiplicación reduciendo el tiempo en el ciclo de crecimiento de este cultivo, mostrando que bajo condiciones de procesos *in vitro* no genera variabilidad genética si se realiza mediante organogénesis directa, ayudando de esta manera a obtener una producción masiva de plantas de alta calidad (**Lerma et al., 2019**).

Para la multiplicación *in vitro* existen varios medios de crecimiento los cuales pueden incluir MS (Murashige y Skoog), Anderson (Anderson), Z-2 (Zimmerman y Broome) y WPM (Lloyd y McCown), su utilización permite alcanzar mejores resultados en los procesos de multiplicación, pero cada uno de estos tienen características diferentes, lo cual explica que su eficacia dependerá de cada medio, mediante estudios previos que se han realizado de estos se ha considerado que los más adecuados para el éxito *in vitro* de arándano son WPM y MS (**Shufang et al., 2017**).

La micropropagación *in vitro* permite obtener gran cantidad de material vegetal con las características genéticas similares a la planta de origen permitiendo hacer una

selección con mejor productividad y desarrollo vegetativo. Este proceso muestra grandes beneficios, pero consta de ciertos factores limitantes por la ocurrencia de contaminantes bacterianas y fúngicos, los cuales bajo protocolos de desinfección y esterilización no adecuados de materiales y equipos puede colonizar el explante y el medio de cultivo provocando su muerte (**Jiménez y Abdelnour, 2016**).

Los problemas ocasionados por la contaminación fúngica, bacteriana o un inadecuado manejo de los implementos utilizados en la micropropagación son las principales limitantes que se pueden presentar ya sea tanto al inicio del proceso como durante el mantenimiento de los tejidos cultivados *in vitro*. Es por ello que el uso de protocolos estandarizados donde existan puntos de control que eviten la contaminación permite solucionar las pérdidas (**Jiménez y Abdelnour, 2016**).

Por lo antes mencionado, en la presente investigación se propuso conseguir un banco de plantas de *V. corymbosum* Var. Emerald en condiciones controladas de laboratorio, mediante el uso de técnicas de micropropagación y del manejo del ecosistema *in vitro*, para lo cual se utilizaron dos tipos de medios (MS y WPM) semisólidos, también se emplearon auxinas: IAA (Ácido Indol Acético), IBA (Ácido indol -3- butírico), NAA (Ácido 1- naftalenacético), citoquininas: 2-iP (N-isopentil adenina), TDZ (Thidiazuron), Agar y Sacarosa en distintas concentraciones, así como otros parámetros de medición considerados de importancia para este proceso fueron las condiciones de iluminación y protocolo de desinfección de explantes vegetales para un óptimo desarrollo vegetativo donde los resultados de esta investigación serán de gran utilidad para el proceso de multiplicación y enraizamiento *in vitro* de arándano azul.

1.2. Antecedentes investigativos

Cañal *et al.*, (2001) a través de su artículo titulado “Fisiología del cultivo *in vitro*” mencionaron que la micropropagación es una técnica de propagación en masa de plantas empleada desde los años 60 donde hace énfasis que la principal ventaja de este método es multiplicar de manera rápida material clonal libre de agentes contaminantes y enfermedades, permitiendo introducir nuevas variedades de plantas a los mercados bajo selección, y mejoras mediante manipulación genética.

Hine y Abdelnour (2013) mediante su artículo titulado “Establecimiento *in vitro* de arándano (*V. corymbosum*)” afirmaron que la importancia biológica y comercial de este cultivo ha provocado en los agricultores el interés de establecer plantaciones a pequeña y gran escala, pero mediante la propagación tradicional no es una opción viable para alcanzar una producción masiva de plantas con estándares óptimos de calidad dado que requiere una cantidad enorme de plantas donantes y los brotes tienen un pobre desarrollo radicular presentando gran variabilidad genética, siendo una vía eficaz el proceso *in vitro* ya que permite utilizar segmentos de hojas o realizar una brotación directa a partir de yemas obteniendo una gran cantidad de material multiplicable.

Rodríguez y Morales (2015) en su artículo titulado “Efecto de la densidad de explantes y el volumen de medio de cultivo sobre la multiplicación *in vitro* de arándano (*V. corymbosum*) variedades Brigitta y Legacy” mencionaron que el incremento de cultivos arándano ha provocado una gran demanda de plantas en especial las provenientes de desarrollo *in vitro* por su eficacia y por no generar variabilidad genética, dado que no hay suficiente información de la cantidad de medio y explantes por frasco o recipiente se emplearon distintas cantidades y número de explantes por recipiente para determinar un mejor rendimiento y resultados, donde se

utilizaron concentraciones específicas de sacarosa, agar, medio nutritivo y regulador de crecimiento ajustando el medio preparado a un pH de 5,2.

Mora (2010) a través de su investigación titulada “ORGANOGENESIS *in vitro* DE ARÁNDANO *V. corymbosum*” determinó que el método de reproducción realizado por estacas generó grandes desventajas por ser lenta y costosa tanto en número de plantas a partir de una donante o madre y las dificultades mostradas por un bajo rendimiento por efectos de las plagas y enfermedades heredadas de sus progenitoras, mostrando que el cultivo *in vitro* puede optimizar este proceso de propagación al obtener clones sin variabilidad genética y ser resistentes a factores bióticos y abióticos con una gran producción en menor tiempo independientemente del factor climático en todo el año, manejando plantas libres de plagas y enfermedades.

Trauco (2016) mediante su investigación titulada “Efecto de cuatro concentraciones de Citoquininas en la multiplicación “*in vitro*” de Arándano (*V. corymbosum*) cv. Biloxy, Trujillo-La libertad”, mencionó que los reguladores de crecimiento cumplen un rol clave en la micropropagación *in vitro* para poder alcanzar una tasa alta en el incremento de brotes y en la fase multiplicación donde las plantas derivadas de este método de propagación tienen características notorias a diferencia de las producidas por métodos convencionales, donde estas muestran: crecimiento más tupido, mayor brotación lateral, desarrollo de corona y cantidad de presencia de yemas florales lo que significara una mejor producción de frutos con mejor calidad sanitaria y sobre todo obtener plantas de las variedades que muestran dificultades en enraizamiento.

Gutiérrez et al. (2020) en su artículo titulado “Micropropagación de *V. corymbosum* en medio Murashige y Skoog (1962), suplementado con 6-bencilaminopurina” señalaron que la biotecnología vegetal garantiza una mayor cantidad de multiplicación clonal, sanidad vegetal, uniformidad y estabilidad genética contribuyendo de esta manera a que mayor cantidad de clientes prefieran las plantas micropropagadas. El

éxito de la micropropagación dependerá de los medios de cultivo que se utilicen ya que cada especie necesita diferentes requerimientos nutritivos para poder desarrollarse siendo estos útiles para el crecimiento y establecimiento de los explantes de arándano.

Ružić et al. (2012) mediante su artículo titulado “Micropropagación *in vitro* de arándano alto (*V. corymbosum*)”, aseguraron que los métodos tradicionales de propagación son lentos, son costosos y poco eficientes en tanto a productividad y número de propágulos es por ello que el proceso *in vitro* mejora la calidad de las plantas y son más eficientes, pero para ello es necesario considerar los efectos de los reguladores de crecimiento y los medios basales dado que la respuesta morfológica dependerá de ello y de la variedad aplicada.

Arencibia et al. (2013) en su artículo titulado “Un enfoque para la micropropagación de plantas de arándanos (*V. corymbosum*), mediada por Biorreactores de inmersión temporal (TIB)” afirmaron que los explantes en medios *in vitro* presentaron una alta capacidad fotosintética con mayor crecimiento y desarrollo evidenciando que los factores de un ambiente controlado de laboratorio como: concentración de CO₂, intensidad lumínica, humedad, temperatura, medios nutritivos y reguladores promueven la fotosíntesis y transpiración de explantes *in vitro*.

Castro (2016) mediante su trabajo de investigación titulada “Mejora de la propagación *in vitro* de *V. corymbosum* y evaluación de la actividad antioxidante en arándanos comerciales” mencionó que el arándano por su alta demanda para el consumo y en la medicina ha requerido buscar medios de propagación masiva donde el método *in vitro* permite obtener una producción masiva de plantas con un reducido número de material clonal, obteniendo brotes con una alta capacidad de multiplicación y posterior enraizamiento según la fase que lo requiera.

Rache y Pacheco (2010) a través de su artículo titulado “Propagación *in vitro* de plantas adultas de *Vaccinium meridionale* (Ericaceae)” afirmaron que diversos

estudios han permitido determinar distintas composiciones nutricionales en los métodos de propagación *in vitro* comprendiendo de esta manera los requerimientos y la influencia que tienen los factores ambientales en el óptimo manejo de propagación, donde los medios controlados son los más eficaces obteniendo excelentes resultados en las distintas variedades de *Vaccinium* ssp.

1.3. Categorías fundamentales o marco conceptual

1.3.1. Métodos de propagación

En la propagación de arándano se puede emplear tres distintos métodos de propagación convencionales utilizando injertos, estacas y por medio de semillas. El método empleado por semillas se utiliza únicamente para el estudio y desarrollo de nuevas variedades, el método por injerto permite reutilizar las plantas ya existentes para un cambio de variedad compatible que tenga mejores características evitando de esta manera realizar una nueva siembra con otra variedad, aunque para una producción comercial se emplea principalmente estacas herbáceas y semileñosas, algunas variedades de este cultivar presentan dificultades para el enraizamiento, aunque también pueden verse influenciada por la condición fisiológica (**Castro *et al.*, 2019; García *et al.*, 2008**)

Otro método de propagación es el proceso *in vitro* el cual permite obtener plantas mediante segmentos de tallos induciendo brotación de raíces adventicias, este método es el más eficaz utilizado actualmente dado que ha mostrado mejores beneficios tanto en calidad como cantidad de plantas al no genera variabilidad genética utilizando como método de regeneración la organogénesis directa. (**Rodríguez y Morales 2015**)

Castrillón (2008) mencionó que la reproducción sexual del arándano depende esencialmente de la germinación de las semillas, siendo un trabajo laborioso en su cuidado y manejo: por la forma, número de semillas y su reducido tamaño, por su

pobre porcentaje de germinación, dependencia de la luz para germinar, latencia. Se considera que las semillas de arándano presentan un comportamiento generalizado ya que muestran índices que no existe estabilidad en los índices de germinación en semillas grandes y pequeñas respectivamente, mostrando un menor tamaño, menor número radicular en plántulas germinadas por semillas pequeñas.

La propagación asexual es un proceso que busca generar raíces adventicias en segmentos de tallos conocidos como estacas de manera *ex vitro*, este proceso es muy útil desde el punto de vista práctico ya requiere menor tiempo que la multiplicación por semillas, esto permite evitar plantas con bajo vigor tratando de obtener la mayor uniformidad y calidad en la productividad, otro proceso útil y con mejores resultados para la propagación es el método *in vitro* que permite obtener plantas de excelente calidad, para alcanzar este objetivo actualmente se busca reducir costos de producción ya que no es muy accesible para los agricultores (**Chicaiza et al. 2021; Debnath, 2007**).

Propagación por Estacas: la selección de estacas se realiza tomando en cuenta la edad y calidad de las ramificaciones de la planta madre, con una longitud de 7 a 10 cm y un diámetro superior a 2 mm de diámetro, se eliminan las hojas inferiores dejando un par superior para su desarrollo. Para evitar problemas causados por agentes fitopatógenos es recomendable que sus progenitoras estén en un ambiente controlado o semi controlado y realizar un protocolo preventivo de desinfección, para el enraizamiento de los explantes, se coloca en recipientes individuales con una mezcla de sustrato y suelen utilizarse domos o contenedores plásticos para conservar la temperatura y la humedad (**Castro, 2019**).

Propagación por injerto: la longevidad del arándano ha permitido realizar cambios de variedades con plantas ya establecidas, este método es propio de otros frutales, pero al ser el arándano una planta leñosa arbustiva se ha podido conseguir este fin siendo

una alternativa técnicamente posible, económicamente viable y ventajosa. Se recolecta el material a emplear y se conservan en cámara frigorífica hasta su uso, en el caso de las plantas patrón se seleccionan de 7 a 8 ramificaciones por planta que muestren características de vigorosidad a una altura de 50 cm y el resto se elimina, para el proceso de injerto se utiliza la técnica de púa por hendidura, eliminando los rebrotes de las plantas injertadas (**García et al. 2008**).

1.3.2. Cultivo *in vitro*

Castillo (2004) afirmó que el proceso *in vitro* de micropropagación consiste en colocar explantes vegetales de manera aséptica en un medio de cultivo con la adición de fitohormonas que regulan el crecimiento, manejando los factores ambientales que se puedan controlar, es decir que requiere de un control específico del ambiente físico y químico en el cual el explante estará situado. Mediante la micropropagación se obtiene una descendencia clonal uniforme con plantas que muestran características genéticamente idénticas a las plantas donantes, para este medio se emplean mayormente las yemas vegetativas de las plantas, pero también se pueden utilizar cualquier otro órgano y tejido.

Antecedentes del cultivo *in vitro*

La micropropagación es la técnica que permite manipular órganos, tejidos o células de la planta que puedan producir una nueva población de plántulas libres de agentes patógenos, con este proceso se acorta el tiempo de producción, la manipulación es más rápida en comparación con métodos convencionales obteniendo un mayor número de plantas por superficie, una mayor sanidad, fácil manejo y rápido transporte del material multiplicado en una gran variedad de cultivos (**López et al., 2017**).

En la actualidad el incremento de áreas cultivadas de arándano ha generado una gran demanda de plantas de calidad para lo cual se ha empleado herramientas biotecnológicas con el propósito de satisfacer estas necesidades mejorando y adaptando cultivares a distintas condiciones ambientales en cualquier época del año y en menor tiempo (Arista *et al.* 2019).

Esta técnica ha contribuido a la expansión de diversos cultivos con características genéticas requeridas para producciones extensivas, permitiendo alcanzar un mejor desarrollo, crecimiento más rápido y una mayor brotación en diversos cultivos, estableciéndose a nivel mundial con fines comerciales con gran aceptación por la calidad de las plantas micropropagadas (Gutiérrez y Linares, 2019).

Factores que influyen en la propagación *in vitro*

Factores internos

Selección del explante: este punto es muy importante ya que de esto dependerá la respuesta que se desarrolle en el proceso *in vitro*, mientras la procedencia del explante sea de plantas juveniles mejor será la respuesta al proceso de brotación dado que tiene zonas de crecimiento más activas respecto a las plantas adultas ya diferenciadas, las fuentes de explantes pueden ser células, porciones de tejidos, granos de polen, semillas entre otros, pero para mayor facilidad y estabilidad genética se utilizan los meristemas apicales y segmentos nodales (Cayo y Peralta, 2021).

Tamaño del explante: está relacionado con la porción vegetativa que acompaña al explante en el medio nutritivo, según el protocolo empleado, el tamaño del envase y la cantidad de medio a emplear, el material vegetal tendrá un tamaño de unos 2,5 cm hasta unos 5 cm acompañados de 1 o 2 yemas axilares para evitar pérdidas en caso de

presentarse oxidación de manera descendente que esta no llegue hasta las yemas y altere su normal desarrollo (**Brenes *et al.* 2015; Hine y Abdelnour, 2013**).

Factores externos:

Castillo (2004) manifestó que el cultivo *in vitro* requiere un control específico del ambiente que rodea al explante tanto químico como físico lo que requerirá el conocimiento de los factores que lo conforman y las que deberán ser reguladas o controladas.

Ambiente químico

Composición del medio de cultivo:

- **Sales minerales**

Medio MS: iones amonio NH_4^+ (20,6 mM), iones nitrato NO_3^- (39,4 mM), iones cloruro Cl^- (6,0 mM) y molibdato MoO_4^- . Aunque contiene concentraciones relativamente bajas en comparación con otros medios de Ca^{2+} (3,0 mM), PO_4^- (1,3 mM), Mg^{2+} (1,5 mM) y Cu^{2+} (0,1 mM).

Medio WPM presenta baja concentración de sales en iones amonio NH_4^+ (5 mM), iones nitrato NO_3^- (9,7 mM) y iones cloruro Cl^- (1,3 mM) empleado para cultivo de plantas leñosas (**Martínez, 2015**).

- **Vitaminas**

i-Inositol (100mg/L), Niacina (0,5 mg/L), Piridoxina (0.1 mg/L), Tiamina (0.1 mg/L), Glicina (2 ml/L) y Edamina (1g/L).

- **Sacarosa**

Para el medio nutritivo en esta investigación se empleó 30 g de sacarosa o 0,3 % de la misma, en algunos casos dependiendo de la concentración del medio nutritivo, variedad de material vegetal y agar se emplean distintas concentraciones de sacarosa entre 3% y 2,0% (**Brenes *et al.* 2015; Martínez *et al.* 2015; Saavedra, 2021**)

- **Agua**

Se utilizó agua destilada estéril obtenida de una máquina destiladora tipo 1.

- **Agar**

Los principales agentes gelificantes empleados en micropropagación según la goma empleada, su composición química y fuente son:

Guar: Galactosa (unida por α 1-6) y manosa (unidas por β 1-4), fuente: *Cyamopsis tetragonolobus*.

Cassia: Galactosa (unida por α 1-6) y manosa (unidas por β 1-4), fuente: endospermo de *Senna obtusifolia*.

Xantana: cadena de D-glucopiranosilo unido enlace β 1-4. Ramificación de trisacáridos de D-manopiranosilo y de ácido D-glucopiranosilurónico, fuente: exudada por la bacteria *Xanthomonas campestris* cepa B-1459.

Agar: Agarosa (galactosa) y agarpectina (anhidrogalactosa parcialmente esterificada con ácido sulfúrico), fuente *Gelidium cartilagineum*, *Gracilaria confervoides* y *Pteroclaia capillacea*.

Gellan (gelrite y phytigel): tetrasacárido, que consiste en dos residuos de D-glucosa y cada uno de los residuos de L- ramnosa y D- ácido glucurónico, fuente: exudada por la bacteria *Pseudomonas elodea*.

Goma katira: D-galactosa, ácido D-galacturónico y L-ramnosa en proporción molar 2:1:3, fuente: exudado de *Cochlospermum religiosum*.

Natugel: fuente *Kappaphycu salvarezii*.

Para esta investigación se empleó como agente gelificante AGAR de marca comercial Agar Powder for tissue culture de la empresa SRL. (**Martin et al. 2012**)

- **Hormonas**

Auxinas: IAA (Ácido Indol-3- Acético), IBA (Ácido indol -3- butírico), NAA (Ácido 1- naftalenacético), y citoquininas: 2-iP (N-isopentil adenina), TDZ (Thidiazuron).

- **pH**

Para cultivos *in vitro* se emplea un pH de 5, 5.5 y 6 dado que es un cultivo que se desarrolla en suelos ácidos y se los mantiene en ese rango en procesos *in vitro* para evitar un estrés al momento de la fase de aclimatación y ser colocados en un sustrato (**Brenes et al. 2015; Restrepo y Álvarez, 2013**).

Ambiente físico

- Temperatura.
- Luz, oscuridad y fotoperiodo.
- Humedad.

1.3.3. Etapas del cultivo *in vitro*

Perea (2009) aseguró que el sistema *in vitro* abarca cinco etapas comenzando desde la etapa 0 para alcanzar el proceso de micropropagación las cuales consisten en: 0 Selección de los explantes, I desinfección del material vegetal y equipos, II introducción en medio de cultivo, III multiplicación de los brotes, IV enraizamiento y

aclimatación. Por otro lado, **Arista (2019)**, afirmó que el cultivo *in vitro* consta de cinco fases: I preparación de la planta madre, II establecimiento del cultivo en condiciones de asepsia, III multiplicación de los brotes, IV enraizamiento y V aclimatación. Así mismo **Rache y Pacheco (2010)**, en su trabajo de investigación coincide con los puntos antes mencionados.

Fase 0: Preparativa, en esta etapa se prepara la planta madre para poder establecer los explantes en condiciones de asepsia los cuales deben presentar vigorosidad, yemas viables, buen tamaño y un desarrollo adecuado. Para este fin es necesario el establecimiento de un banco de plantas donantes las cuales deben estar en condiciones controladas y libre de agentes fitopatógenos (**Castillo, 2004**).

En esta fase también se desarrolla un protocolo de desinfección del material vegetal recolectado, de los cuales se obtendrán los explantes. Previo a la recolección se debe realizar un control fitosanitario con unos 2 o 3 días de anticipación para eliminar los contaminantes que esta pueda transmitir, donde los más comunes son: hongos y bacterias, este proceso se debe realizar si las plantas se encuentran en condiciones de campo o condiciones controladas para obtener un menor índice de contaminación en la fase de introducción. Los protocolos de desinfección pueden variar según la procedencia del explante utilizando hipoclorito de sodio (NaOCl) en distintas concentraciones, fungicidas de contacto y sistémicos, jabón y desinfectantes quirúrgicos y agua esterilizada para enjuagarlos (**Castillo, 2004; Jiménez y Abdelnour, 2016**).

Fase I: Establecimiento *in vitro*, en este punto se realiza la introducción de los explantes previamente desinfectados y el establecimiento *in vitro* colocándolos en un medio de cultivo estéril, el medio básico empleado no siempre puede suplir el desarrollo de todas las células por lo cual es necesario realizar cambios o colocar aditivos (**Sharry et al. 2015**).

Generalmente los medios de cultivo deben contener sales inorgánicas, vitaminas, carbohidratos, reguladores de crecimiento y un agente gelificante, aunque este último no es indispensable en ciertas ocasiones, pero también se pueden agregar aminoácidos, antioxidantes, retardantes, entre otros (Perea, 2009). El punto más importante en la introducción es mantener todos los equipos, materiales, áreas de trabajo y explantes desinfectados ya que al producirse una contaminación con microorganismos puede destruir los explantes e inutilizar los medios, retardar el normal desarrollo y generar pérdidas de material vegetal y reactivos útiles (Ribón y Bernal, 2020).

Fase II: Multiplicación, en esta fase se realiza el proceso de multiplicación de los brotes obtenidos en la fase de introducción, lo cual consistirá en incrementar el número de propágulos o plantas establecidas *in vitro* (Ribón y Bernal, 2020), para ello es necesario subcultivar en un nuevo medio los brotes obtenidos en la introducción lo cual requiere de asepsia por lo que es necesario realizarlo en una cámara de flujo laminar donde se cortarán los brotes de unos 2 a 3 cm de longitud o según se requiera y se colocarán en los nuevos medios (Castillo, 2004). En este punto se utilizan bajas concentraciones de citoquininas para estimular la producción de múltiples brotes a partir de una sola yema axilar o apical (Perea, 2009).

Fase III: Enraizamiento, para enraizar los explantes, brotes o plantines individuales deben contar con el tamaño que se considere necesario por lo general se toman de 2 cm, estos brotes obtenidos en la fase de multiplicación son colocados en nuevos medios libres de reguladores, en algunos casos solo se colocan hormonas de tipo auxinas. Algunas especies de plantas multiplicadas no requieren este proceso y emiten sus raíces en el mismo medio donde se realizó la multiplicación por lo que en ocasiones la fase de multiplicación y enraizamiento ocurre de manera simultánea (Castillo, 2004). Para este punto de enraizamiento las plántulas deben ser sometidas a prolongados periodos de oscuridad, aunque esto no aplica en todas las especies, también se requiere el manejo de la intensidad lumínica, la temperatura y las respuestas fisiológicas (Perea, 2009).

Fase IV: Aclimatación, es la etapa final de la micropropagación la cual busca adaptar las plántulas al medio ambiente natural proporcionando una estabilidad en campo, para ello cuenta con tres procesos esenciales: la aclimatación, periodo de monitoreo en invernadero donde son trasplantadas en sustratos estériles que fortalezcan el sistema radicular y trasplante en campo (**Pera, 2009**). Las condiciones en invernadero simulan las condiciones *in vitro* donde estas se acostumbran en un corto periodo de tiempo y se debe controlar la humedad e intensidad lumínica la cual debe irse dando gradualmente ya que son muy sensibles a cambios bruscos (**Ribón y Bernal, 2020**).

Condiciones *in vitro*

Las condiciones en laboratorio no son factores que se puedan universalizar o generalizar ya que la recepción de material, condiciones de humedad, temperatura, iluminación entre otras, variarán según la ubicación del laboratorio o estructuración por lo que necesario definir parámetros de utilización y manipulación para zonas específicas, de todo esto dependerá el éxito de desarrollo de los cultivos *in vitro* puesto que estarán en un ambiente distinto del que provienen (**Correa y Mejía, 2013**).

Tecanhuey (2012) afirmó que la asepsia y las condiciones necesarias que requiere el explante en los procesos *in vitro* son muy rigurosos ya que es necesario la eliminación de agentes contaminantes de cualquier tipo, por lo que es importante identificar posibles fuentes contaminantes y aislarlas, implementar protocolos de desinfección de explantes, esterilizar materiales y equipos ya que si no se realiza una práctica aséptica que se desarrollaron en los medios de cultivos puesto que contienen las condiciones idóneas para albergar hongos y bacterias.

Esterilidad: los cultivos *in vitro* de este cultivo deben realizarse en un ambiente libre de microorganismos, con una asepsia estricta tanto en los materiales como en los

equipos, la instalación en general debido a que con esto el índice de contaminación será menor, siendo necesario identificar, aislar y eliminar posibles fuentes contaminantes en la micropropagación (**Wampash et al. 2011**).

Temperatura: la temperatura estará afectada por el ambiente y estructura donde estarán situados los explantes, además de la luz que se disponga, esta debe ser regulada hasta encontrar un punto deseado donde por lo general para los cultivos *in vitro* oscilan entre unos 20 y 30 °C, en ambientes fríos se utilizan calefactores y en climas cálidos se usan equipos refrigerantes para mantener la temperatura constante (**Hine y Abdelnour, 2013; Wampash et al. 2011**).

Humedad: la humedad relativa juega un papel importante tanto en la introducción como en la fase de multiplicación y enraizamiento para que estos puedan desarrollarse correctamente con un rango favorable de 70 a 80% (**Aquije, 2020; Gutiérrez y Linares, 2019**).

Control de iluminación y fotoperiodo: el área donde se desarrollarán los explantes introducidos deberán contar con una serie de unidades productoras de luz a manera que iluminen toda la superficie útil, estas pueden estar dispuestas de manera horizontal o vertical según se requiera o la forma que tengan los estantes, algunos autores manifiestan que el fotoperiodo de las horas luz requeridas para un normal desarrollo varían de entre 16 a 18 horas de iluminación y de 6 a 8 horas de oscuridad con una intensidad lumínica de 850 a 3000 lux (lumen/m²), las horas de luz requeridas por los explantes para su normal desarrollo dependerá de la especie y variedad multiplicada (**Hine y Abdelnour, 2013; Rodríguez y Morales, 2015**).

Reguladores de crecimiento (Fitohormonas)

Alcántara et al., (2019) afirmaron que una hormona vegetal o fitohormona es un compuesto que producen internamente las plantas, las cuales realizan su función en muy bajas concentraciones y estas actúan principalmente a nivel celular cambiando los patrones de crecimiento, los reguladores comerciales son sintetizados químicamente u obtenidos de otros organismos siendo su concentración más potente que las producidas de manera natural, es por ello que en sistema *in vitro* es recomendable establecer tiempos de aplicación, dosis teniendo en cuenta la respuesta de la variedad vegetal y sus requerimientos de su crecimiento.

Fitohormonas y su papel en el establecimiento *in vitro* de *Vaccinium corymbosum* L.

Axinas: actúan como reguladores de crecimiento y del desarrollo vegetativo, especialmente en la división, elongación y diferenciación celular, estas se pueden encontrar en la mayoría de tejidos vegetales, pero se concentran en mayor cantidad en los tejidos con crecimiento activo, ocurriendo la síntesis de esta generalmente en los meristemas apicales, en las semillas de los frutos en desarrollo y hojas tiernas (**Garay et al. 2014**). La presencia de auxinas en los medios de cultivo para propagación *in vitro* es indispensable para la formación de raíces adventicias y mantener la capacidad rizogénica de la especie en condiciones *ex vitro* las auxinas deben emplearse en bajas concentraciones con la finalidad de no causar efectos inhibitorios ni atrofas en las células y tejidos donde la más empleada es el AIA (ácido 3- indol acético) (**Uribe et al. 2012**).

Citoquininas: son hormonas vegetales que se derivan de adeninas promoviendo la división celular en tejidos no meristemáticos, estas son producidas en órganos en

crecimiento y en el meristemo de la raíz. Entre los efectos fisiológicos que causan estas hormonas se puede determinar: división celular y formación de órganos, la apertura de estomas, dominancia apical, retardo de la senescencia (gracias a su propiedad de generar alta división celular), inducen partenocarpia y permiten el desarrollo de yemas tanto laterales como las yemas del ápice caulinar (**Perea, 2009**).

UNIDAD DE ANÁLISIS

1.3.4. Cultivo de arándano (*V. corymbosum*)

Historia

El arándano es una especie vegetal originaria de Norteamérica, arbustiva con una variación en su tamaño dependiendo de la variedad que puede ir desde 0,2 hasta los 7 metros de altura, presenta hojas simples y alternas con una forma ovada a lanceolada, para entrar en fase de producción requieren alrededor de unas 800 horas frío, sus frutos son bayas esféricas de tonalidades que van desde un azul claro hasta un negro azulado teniendo un calibre que varía de entre 0,7 a 1,5 hasta los 3 cm de diámetro (**Aquiye, 2020; Ormazábal et al. 2020**).

Gordó (2008) aseguró que actualmente la superficie mundial de arándano cultivado es alrededor de 20.000 hectáreas con una producción en fresco de fruto de 550.000 toneladas siendo altamente aceptado por su sabor, valor nutricional y medicinal, donde para su distribución y consumo a corto, mediano y largo plazo se derivan múltiples productos como: fruto fresco, deshidratados y congelados, en comidas dulces y saladas y en aplicaciones industriales como productos de área farmacéutica, repostería, jugos, mermeladas, colorantes, salsas, helados, conservas, yogurt, etc.

Clasificación taxonómica del arándano (*V. corymbosum*)

De acuerdo con **Bone (2022)** el arándano se clasifica taxonómicamente de la siguiente manera:

Tabla 1. Taxonomía del arándano

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Subdivisión	Angiosperma
Clase	Dicotiledónea
Subclase	Dilleniidae
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Tribu	Vaccinioideae
Sección	Vaccinieae
Género	Cyanococcus
Especie	<i>Vaccinium corymbosum</i> L.

Fuente: Tomado de Bone (2022)

Descripción botánica del arándano

Los arándanos son plantas que pertenecen al género *Vaccinium* de la familia Ericaceae, la cual posee 36 secciones y albergando unas 350 especies, posee una estructura arbustiva erecta o rastrera con una altura que varía según la especie yendo desde los 0,2 hasta 7,0 m, planta perenne catalogada como caducifolia con hojas alternas, esta especie vegetal presenta una gran longevidad que superar incluso los 50 años (**Caballero, 2015; García et al. 2018**).

Raíz: presenta un sistema radicular que no supera los 40 cm de profundidad con raíces finas y fibrosas las cuales están desprovistas de pelos absorbentes lo cual las convierte en dependientes de una provisión constante de humedad, es necesario que cuente con una capa superficial de suelo suelto y bien aireado para que pueda desarrollar su volumen radicular, cuando el agua escasea la respuesta fisiológica de esta se traduce en un menor crecimiento y marchitamiento pero también a su vez puede resultar muy sensible al encharcamiento en zonas de suelos pesados, estas pueden estar asociadas de manera simbiótica con micorrizas para un mutuo beneficio, los nuevos brotes resultan de la corona la cual se encuentra entre la raíz y la parte aérea promoviendo la constante renovación vegetativa de la plantan (**Caballero, 2015; García et al. 2018; Gordó, 2008**).

Hojas: son simples y alternadas cortamente pediceladas en forma ovada a lanceolada con una longitud variable de 1 a 8 cm con una tonalidad verde pálido a intenso dependiendo la variedad, ligeramente dentadas con pequeñas nervaduras en el envés de una tonalidad rojiza o amarillenta (**Caballero, 2015; García et al. 2018**).

Flores: se disponen por lo general en racimos axilares o terminales de las ramas con 6 a 10 botones florales por yema, posee una corola acampanada blanca o rosada conformada por 4 o 5 pétalos fusionados, unos 8 a 10 estambres con antenas que pueden o no estar aristadas, la cantidad de yemas florales está relacionada con el grosor de la rama, la influencia de reguladores del crecimiento, el cultivar y las propias técnicas de cultivo empleadas (**Caballero, 2015; García et al. 2018**).

Fruto: es una baya casi esférica que puede variar su tamaño según la especie alcanzando desde unos 0,7 hasta 3 cm de diámetro con varias semillas en su interior (20 a 100), las cuales están relacionadas con el tamaño del mismo, según la madurez y el desarrollo del fruto sus tonalidades van cambiando hasta alcanzar ese color azul característico al finalizar la maduración, la epidermis del fruto está cubierta por una

capa cerosa, la cual le da una vista llamativa, el fruto está cubierta en la epidermis por una capa cerosa, la cual le da una vista llamativa, el tamaño está relacionado con la distribución de las bayas en la rama donde los más cercanos a la base vendrán a tener un mayor tamaño mientras que los distantes pueden afectarse por el número de frutos por rama así como el vigor que está presente (**Caballero, 2015; García *et al.* 2018; Gordó, 2008**).

Tallo: nace de la base de la planta con una tonalidad que varía según la especie y en este se encuentran las yemas vegetativas y florales donde su vigorosidad y grosor dependerá de la edad de la planta y la ubicación en la misma ya que posee ramificaciones abundantes (**Gordó, 2008**).

Requerimientos edafoclimáticos

Clima: la acumulación de horas frío juega un papel importante en la producción de frutos, hoy en día las variedades de este cultivar se pueden encontrar en los dos extremos climáticos frío y calor, unas con altos niveles de horas frío soportando incluso -30°C y otras que requieren pocas horas frío que pueden soportar hasta 30°C sin afectar la productividad (**García *et al.* 2018**). Aunque la temperatura óptima para su desarrollo se encuentra entre los 7 a 18°C y en la mayoría de estas variedades de temperaturas superiores a los 28°C pueden causar daños en los frutos así también como los fuertes vientos que pueden afectar al follaje, la floración y la polinización (**Caballero, 2015; Casas, 2017**)

Agua: al ser plantas dependientes de humedad constante es necesario contar con un buen sistema de riego durante el periodo estival necesita una demanda media de agua que varía de 15 a 20 litros/planta/semana, las plantas de 1 año de edad en una superficie de 1 hectárea requieren de aproximadamente $4,000\text{ m}^3/\text{ha}/\text{año}$ y las que se encuentran

por encima de los tres años entre 4,250 y 4,300 m³/ha/año lo que significa que los requerimientos hídricos van en aumento a medida que el cultivo se desarrolla (**Fiedler, 2015**).

Suelo: el sistema radicular del arándano se compone esencialmente por raíces de contextura finas y fibrosas, donde el suelo más adecuado para un normal desarrollo de este cultivo son los que presentan un pH entre 4.5 y 5.5, con textura ligera y una buena aireación ya que es muy exigente al oxígeno a nivel radicular y que retengan la humedad puesto que las raíces no son capaces de profundizar en el perfil del suelo compacto. También deben contener un buen porcentaje de materia orgánica entre 3% a 5% (**Casas, 2015**).

La textura del suelo debe ser del tipo arenoso o franco arenoso con un porcentaje de arcilla por debajo del 20% y bajo contenido en limo, en caso de que las características del suelo no sean las óptimas es necesario garantizarlos manualmente, donde se debe controlar muy bien el pH y conjuntamente con este la conductividad eléctrica (CE) ya que estos son los parámetros que se necesitan manejar con mayor cuidado puesto que estos determinan la fertilidad del suelo los cuales toleran los 0,5 mS/cm siendo muy sensible a la acumulación de sales y no debe superar el 1 mS/cm (**García et al.2018**).

Ciclo del cultivo

Según **Forbes et al. (2009)** y **Martínez (2019)** consideran que el ciclo del cultivo se maneja de la siguiente manera:

Tabla 2. Ciclo del cultivo de arándano.

Tiempo	Fase
1 a 2 años	Fase de establecimiento y desarrollo con podas de establecimiento y formación eliminando ramas delgadas y yemas florales para garantizar un desarrollo vegetativo y altura adecuado.
>2 años	Fase de producción con podas de producción eliminando ramas muertas o envejecidas.
3 a 5 años	Primeras cosechas.
7 a 9 años	Estabilidad de producción dependiendo de la variedad.
>9 años	Adulto productivo.

Fuente: tomado de Forbes *et al.* (2009) y Martínez (2019).

Plagas y enfermedades

Plagas

Gallina ciega (*Anomala spp.*): se alimenta directamente de la raíz provocando una disminución en absorción de los nutrientes afectando los estadios de polinización y fructificación (**Cayo y Peralta, 2021**).

Trips (*Thysanoptera*): de tamaño pequeño (0,8 a 1,7 mm) succionan la sabia de hojas y flores evitando la polinización, interfiriendo en el normal desarrollo y crecimiento del cultivo, además de ser vector de enfermedades, hongos, bacterias y virus (**Cayo y Peralta, 2021**).

Aves: constituyen una plaga muy importante ya que consumen los frutos ocasionando pérdidas en el rendimiento de producción y más cuando la plantación se encuentra en zonas con abundantes bandadas de aves (**García *et al.* 2018**).

Mosca de la fruta (*Anastrepha fraterculus* (Wied.) y *Ceratitis capitata* (Wied.)): ocasiona daños en la etapa larvaria dado que se alimentan del fruto ocasionando pérdidas de calidad y rendimiento (Cayo, y Peralta, 2021).

Enfermedades

Atizonamiento del tallo y pudrición de frutos (*Botrytis cinerea* Berk.): se presenta bajo condiciones de humedad elevada y temperaturas alrededor de 20°C siendo mayor la incidencia de esta enfermedad cerca de la cosecha apareciendo frecuentemente en brotes nuevos siendo susceptibles principalmente racimos florales y frutos presentando aspectos momificados, aunque los frutos sanos no muestren daños si ya fueron infectados los síntomas se mostraran luego de la cosecha provocando una pérdida del mismo. Los síntomas que presenta esta enfermedad son pudrición de frutos, atizonamiento de los brotes, marchites y necrosis en hojas y flores, rara vez se presenta en partes viejas de la planta (Cayo y Peralta, 2021; García *et al.* 2018).

Podredumbre de la raíz y el cuello (*Phytophthora* sp): causada por un hongo el cual puede provocar la muerte de la planta o a su vez manifestarse como una enfermedad progresiva con un débil crecimiento y prematuro desarrollo, mostrando una coloración amarilla o rojiza, en ocasiones acompañado de necrosis de los bordes de la hojas acentuándose la defoliación con el paso del tiempo, las plantas enfermas presentan una débil anclaje al suelo debido a su pobre desarrollo radicular las cuales se encuentran necrosadas. Generalmente se desarrolla en suelos pesados, húmedos con mal drenaje lo cual provoca encharcamiento, la intensidad de esta enfermedad se muestra con el tiempo de saturación que presenta el suelo (García, 2018).

Alternaria (*Alternaria* sp.): aparece con climas fríos y húmedos, ingresa a la planta por heridas en hojas o tallos ocasionando pequeñas manchas necróticas de color

marrones en ambas caras y en los tallos como pequeños “chancros”, provoca la pudrición de los frutos de arándano con lesiones hendidas y ablandamiento, la superficie del área infectada a menudo se encuentra recubierta por una masa de conidios de coloración verde negruzco permitiendo diferenciarla de la antracnosis (**Gordó, 2011**).

Roya (*Pucciniastrum vaccinii* Wint.): comienza en el haz de la hoja como manchas cloróticas tornándose con el tiempo a un color castaño oscuro, las cuales abarcan grandes áreas, en el envés se muestran pústulas de color amarillo anaranjado. A menudo no influye mucho en el rendimiento, pero puede producir una defoliación y si esta es severa puede comprometer la producción futura de frutos (**Gordó, 2011**).

Tizón del tallo (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.): puede ocasionar manchas foliares y pudrición en frutos ingresando por heridas o atacando plantas débiles, se presenta como manchas pequeñas circulares de tonalidad marrón en hojas y en los tallos como una muerte regresiva comenzando desde los ápices hacia abajo, en flores se muestra como un atizonamiento y en los frutos los efectos se presentan tras la cosecha ocasionado un ablandamiento y pudrición (**Gordó, 2011**).

Agalla de corona (*Agrobacterium tumefaciens* Smith y Town): se presentan como agallas en la base del tallo y raíces principales. Las agallas jóvenes son blandas y de color claro, pero con el tiempo se van tornando rugosas, leñosas y con una coloración marrón oscuro. Las plantas afectadas pueden mostrar un bajo rendimiento y crecimiento reducido. Todas las variedades de arándanos son susceptibles a esta enfermedad, para evitar su presencia es necesario analizar el suelo y comprobar que se encuentre libre de *A. tumefaciens* y obtener plantas de viveros certificados (**Gordó, 2011**).

1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.4.1. Hipótesis

Mediante el establecimiento de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. (Var. Emerald) y el análisis de factores asociados al ecosistema *in vitro* en la fase de establecimiento se podría desarrollar un banco de plantas *in vitro* juveniles.

1.4.2. Objetivos

Objetivos generales

Establecer segmentos nodales de arándano de plantas desarrolladas *ex vitro* de la variedad Emerald mediante el análisis de factores del ecosistema *in vitro* para establecer un banco de plantas donantes que permita disponer de material vegetal juvenil.

Objetivos específicos

1. Determinar el medio de cultivo que permita un mejor establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano (Var. Emerald).
2. Evaluar la influencia de la concentración de agar y sacarosa en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales.
3. Evaluar la influencia de agentes de desinfección e iluminación en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales.
4. Determinar el tipo y las concentraciones de auxinas y citoquininas que favorezcan el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del experimento

La investigación se desarrolló en el laboratorio de biotecnología vegetal de la facultad de ciencias agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicada en el cantón Cevallos, localizada en la Provincia de Tungurahua.

2.2. Características del lugar

Para la obtención del establecimiento *in vitro* y un banco de plantas donantes de arándano Var. Emerald se utilizará el laboratorio de biotecnología, ubicado en la facultad de ciencias agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en el sector el Tambo, perteneciente al Cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. Se encuentra localizada a 2850 msnm, las coordenadas geográficas son: 01° 24' 27" de latitud Sur y 78° 35' 00" de longitud al Oeste, ubicado a 19,31 km, al Sureste de Ambato.

2.3. Equipos y Materiales

2.3.1. Material experimental

El material experimental está constituido por plantas de arándano (*V. corymbosum*) Var. Emerald.

2.3.2. Equipos

2.3.2.1. Establecer segmentos nodales de arándano Var. Emerald en condiciones controladas de laboratorio *in vitro*.

- Autoclave (MIDMARK).
- Balanza analítica (OHAUS – Pioneer™).
- Cabina de flujo laminar (PURIFIER™ - MAGELLAN).
- Microondas (PANASONYC).
- Refrigeradora (Indurama).
- pH metro (BANTE 900).
- Destilador de agua (DIRECT – Q / MILLOPONE).

2.3.3. Materiales

2.3.3.1. Establecer segmentos nodales de arándano Var. Emerald en condiciones controladas de laboratorio *in vitro*.

- Plantas de arándano variedad Emerald.
- Sustrato TS4 (Fibra de coco).
- Vasos plásticos de 12 oz.
- Bandejas (4 L).
- Medios de cultivo MS (PhytoTech) y WPM (PhytoTech).
- Frascos de vidrio (250 ml).
- Tijeras metálicas (acero inoxidable Bochem).
- Adhesivos (Etiquetas adhesivas).
- Cinta adhesiva (ABRO).
- Cucharillas metálicas.

- Vaso de precipitación (500 ml y 100 ml).
- Bisturí (N°4 – MULTICIENCIAS).
- Cintas pH (eisco).
- Agar (en polvo para cultivo de tejidos vegetales - Agar Powder for tissue culture SRL).
- Pinzas metálicas (Stainles 200 ml).
- Alcohol (70 % y 90 %).
- Hipoclorito de sodio NaClO (5 %).
- Mechero de alcohol.
- Papel nuevo reciclado.
- Fundas plásticas.
- Recipientes para esterilización de plásticos.
- Estantes metálicos y de vidrio.
- Papel aluminio.
- Cajas Petri (vidrio y plásticas 100 mm x 15 mm).
- Probetas (100 ml, 50 ml, 10 ml).
- Erlenmeyer (1000 ml, 500 ml, 100 ml).
- Detergente sólido y líquido (Deja, Bacterion).
- Agua desionizada.
- Marcadores permanentes (Pelikan).
- Toallas de papel (Familia).
- Jarras volumétricas (1000 ml / Pica).
- Pipetas plásticas pequeñas (1ml).
- Rociador plástico (120, 250, 1000 ml).
- Gorros quirúrgicos (cofia).
- Bata quirúrgica.
- Mascarillas.
- Sacarosa (Azúcar blanca Valdez).
- 2-iP (N-isopentil adenina) (Caisson labs).
- TDZ (Thidiazuron) (Caisson labs).
- AIA (Ácido Indol Acético) (LOBA CHEMIE).
- IBA (Ácido indol -3- butírico) (SIGMA).

- ANA (Ácido 1- naftalenacético) (SIGMA).
- Tween 20.
- Povidyn (Povidyn).
- Ácido cítrico.
- Hidróxido de sodio (LOBA CHEMIE PVT. LTDA).

2.4. Factores de estudio

2.4.1. Objetivo N° 1. Determinar el medio de cultivo que permita un mejor establecimiento de segmentos nodales de arándano (Var. Emerald).

- **Factor N° 1.** Influencia del medio de cultivo MS en el establecimiento *in vitro* de arándano azul (Var. Emerald).
- **Factor N° 2.** Influencia del medio de cultivo WPM en el establecimiento *in vitro* de arándano azul (Var. Emerald).

2.4.2. Objetivo N° 2. Evaluar la influencia de la concentración de agar y sacarosa en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

- **Factor N° 1.** Influencia de la concentración de agar en el desarrollo *in vitro* de segmentos nodales de arándano.
- **Factor N° 2.** Influencia de la concentración de sacarosa para el desarrollo *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

2.4.3. Objetivo N° 3. Evaluar la influencia de agentes de desinfección e iluminación en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales.

- **Factor N° 1.** Influencia de agentes de desinfección (hipoclorito de sodio, Povidyn y Tween 20) y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.
- **Factor N° 2.** Influencia de las diferentes condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

2.4.4. Objetivo N° 4. Determinar el tipo y las concentraciones de auxinas y citoquininas que favorezcan el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

- **Factor N° 1.** Influencia de tipo de auxina y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.
- **Factor N° 2.** Influencia del tipo de citoquininas y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

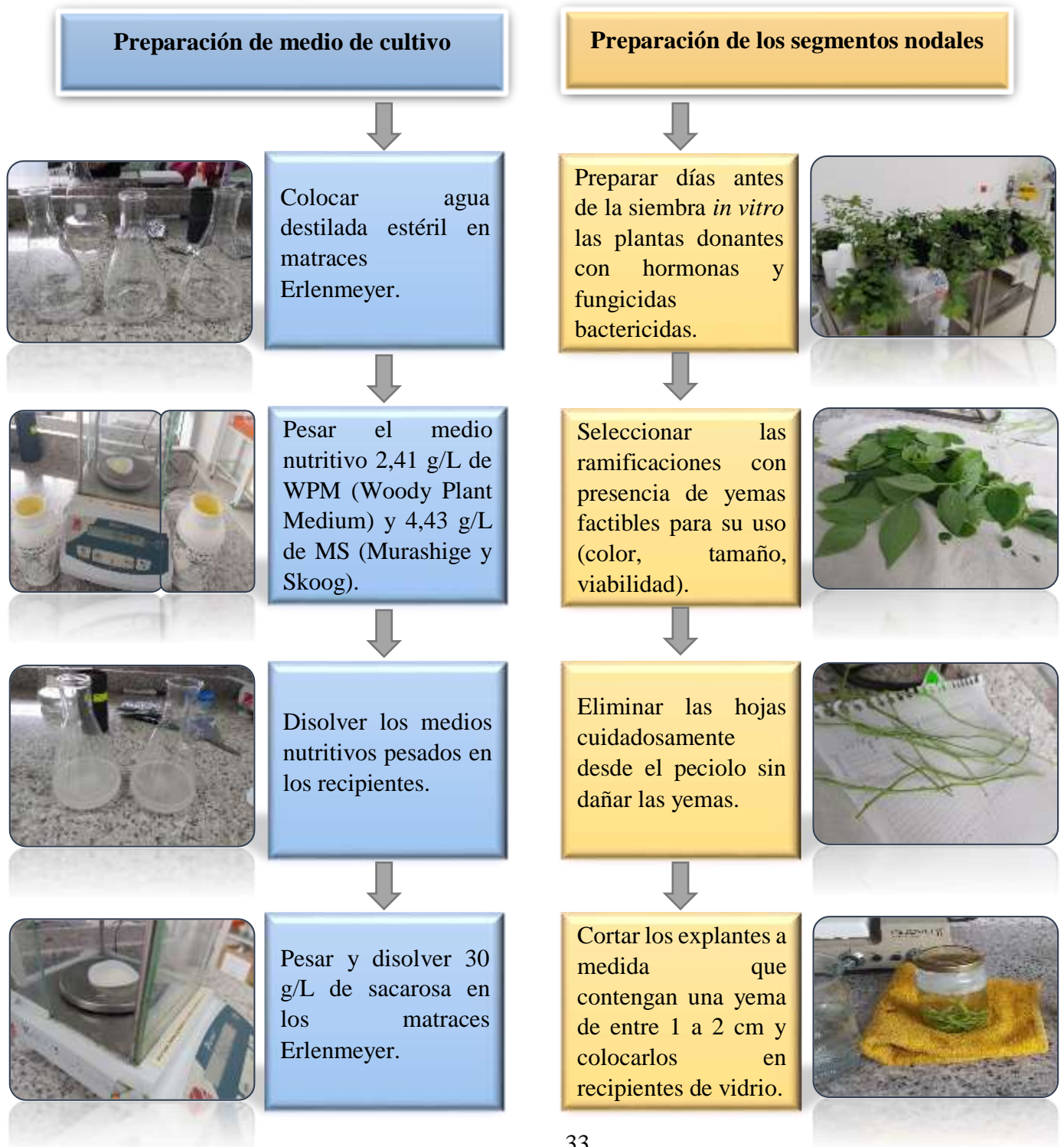
2.5. Diseño experimental

Se utilizó para cada ensayo un diseño completamente aleatorizado con 4 repeticiones.

2.6. Manejo del experimento

2.6.1. Objetivo 1. Determinar el medio de cultivo que permita un mejor establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano (Var. Emerald).

Para la preparación del medio de cultivo y los segmentos nodales como explante se procedió como se representa en la siguiente figura.





Ajustar el pH de los distintos medios de 5 a 5,5.

Emplear un protocolo de desinfección de tres procesos.



Colocar 10 g/L de Agar en los medios y aforar a la cantidad deseada y agitar.

Desinfectar con Tween 20, Povidyn e Hipoclorito de sodio en distintas concentraciones.



Disolver y calentar los medios en el microondas para que todo se integre de mejor manera por 10 minutos.

En cada proceso de desinfección enjuagar tres veces con agua destilada estéril.



Dispensar 20 ml de medio por frasco, colocar las tapas semi cerradas, cubrir con aluminio y ajustar con ligas.

Obtener un testigo empleando solo agua destilada estéril.



Autoclavar los frascos dispensados por un periodo de 40 minutos a una temperatura 110°C.

Tras culminar el protocolo de desinfección enjuagar y colocar los explantes en recipientes de vidrio



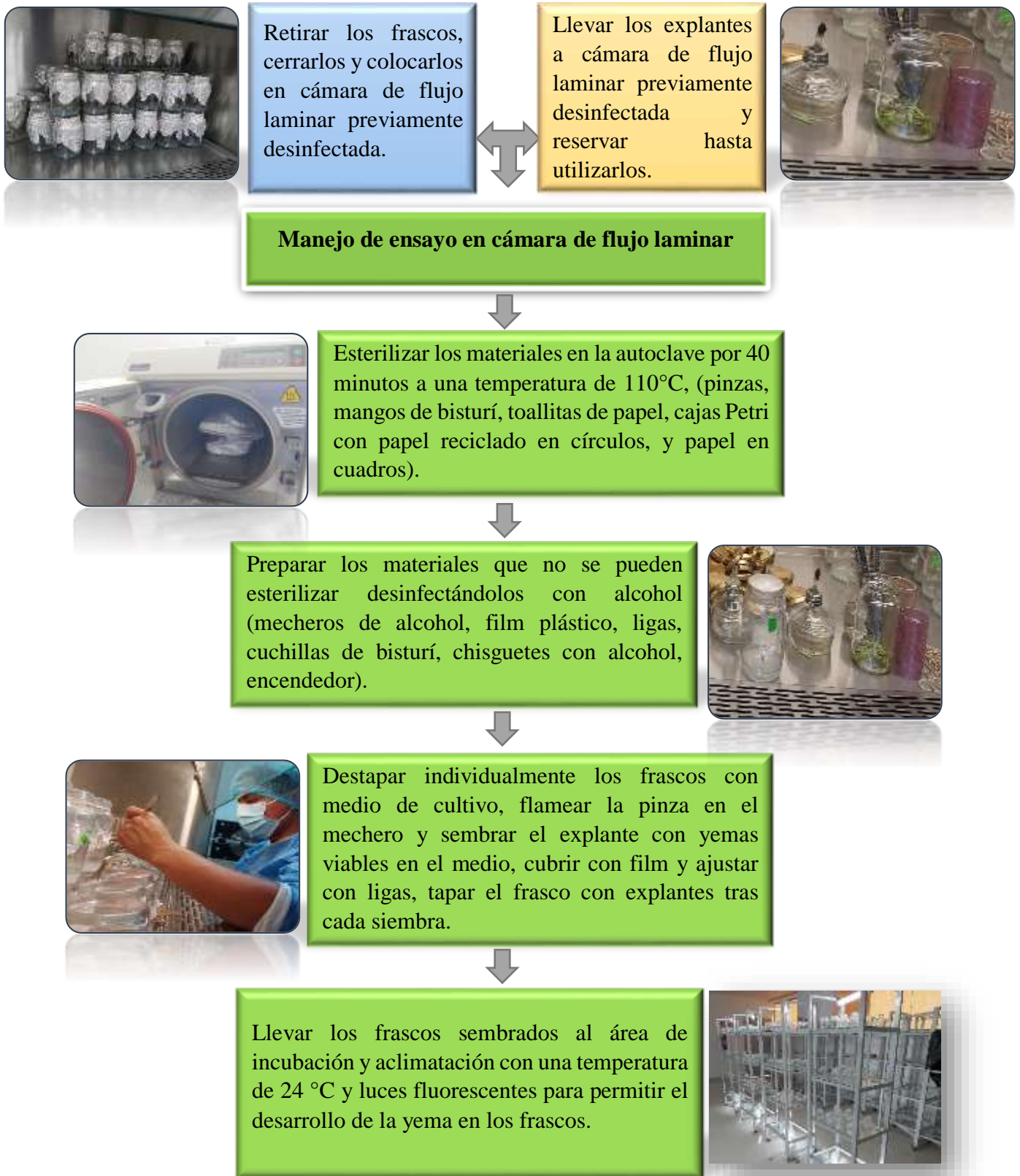
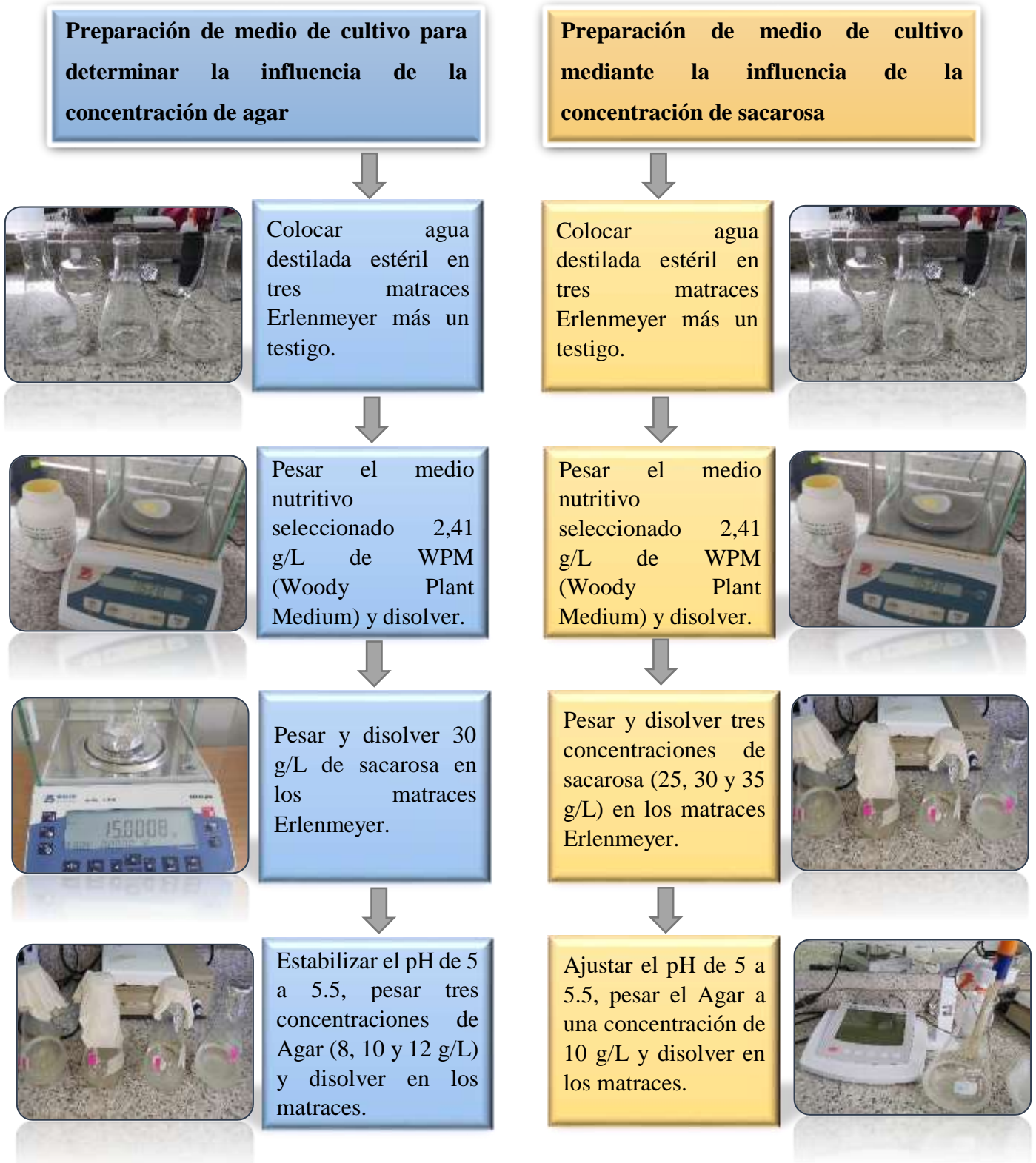


Figura 1. Diagramas de actividades realizados para preparación de medios de cultivo, preparación de los segmentos nodales de *V. corymbosum* L. Var. Emerald y manejo de ensayo bajo condiciones de cámara de flujo lamina.

2.6.2. Objetivo 2. Evaluar la influencia de la concentración de agar y sacarosa en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales.



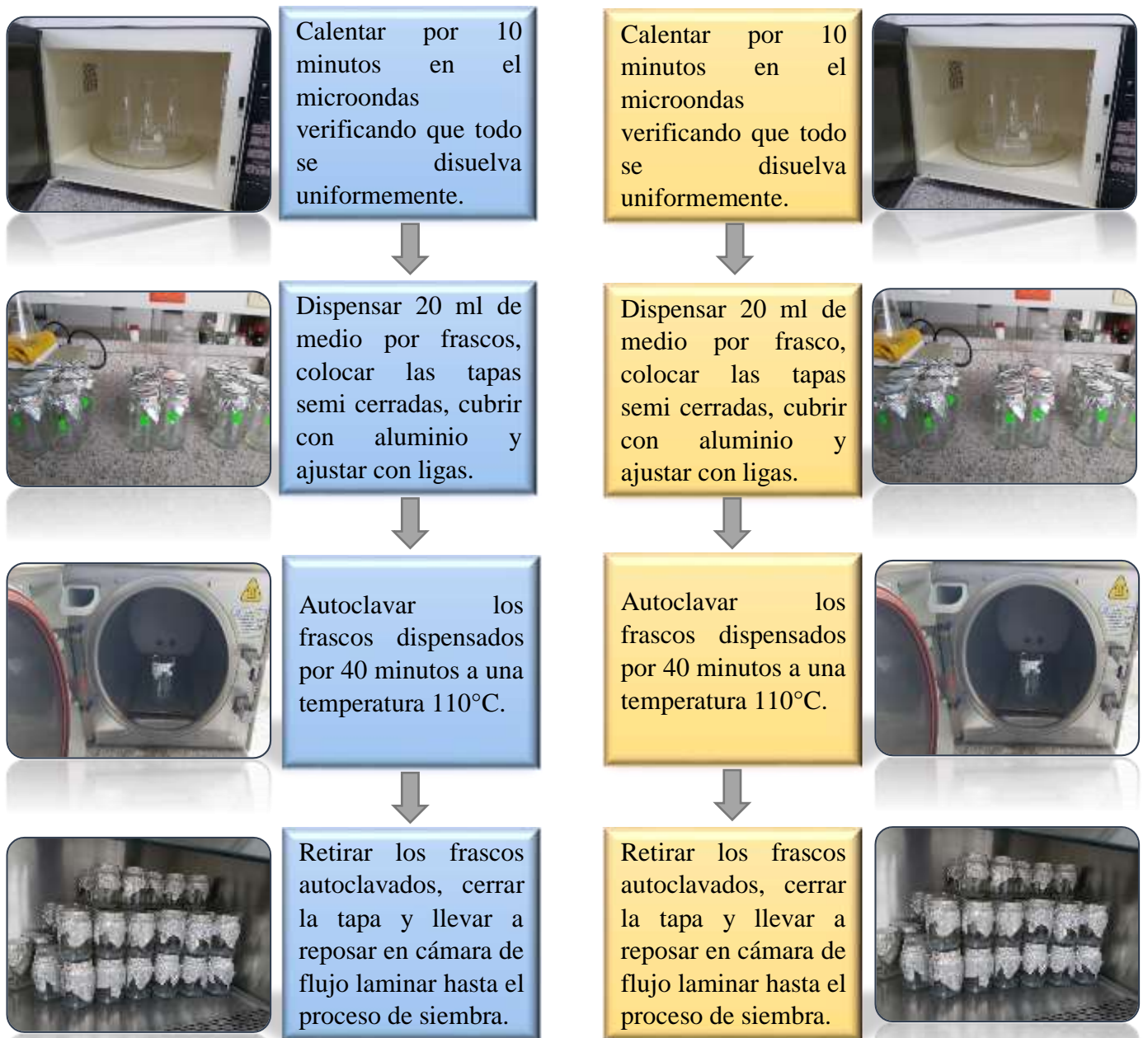
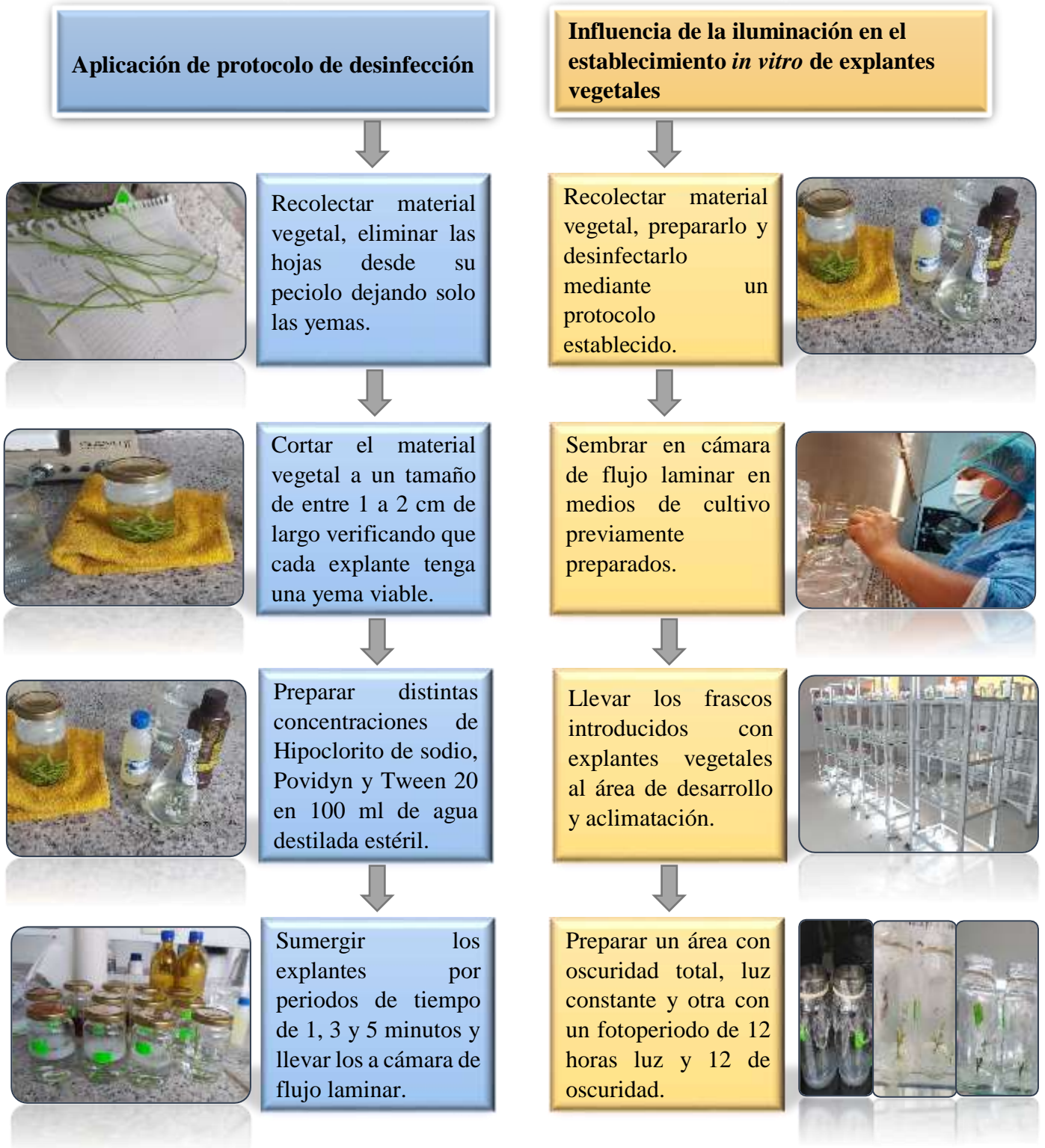


Figura 2. Diagrama de actividades realizado para la preparación de los medios de cultivo con diferentes concentraciones Agar y de sacarosa para el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* L. Var. Emerald.

2.6.3. Objetivo 3. Evaluar la influencia de agentes de desinfección e iluminación en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales.





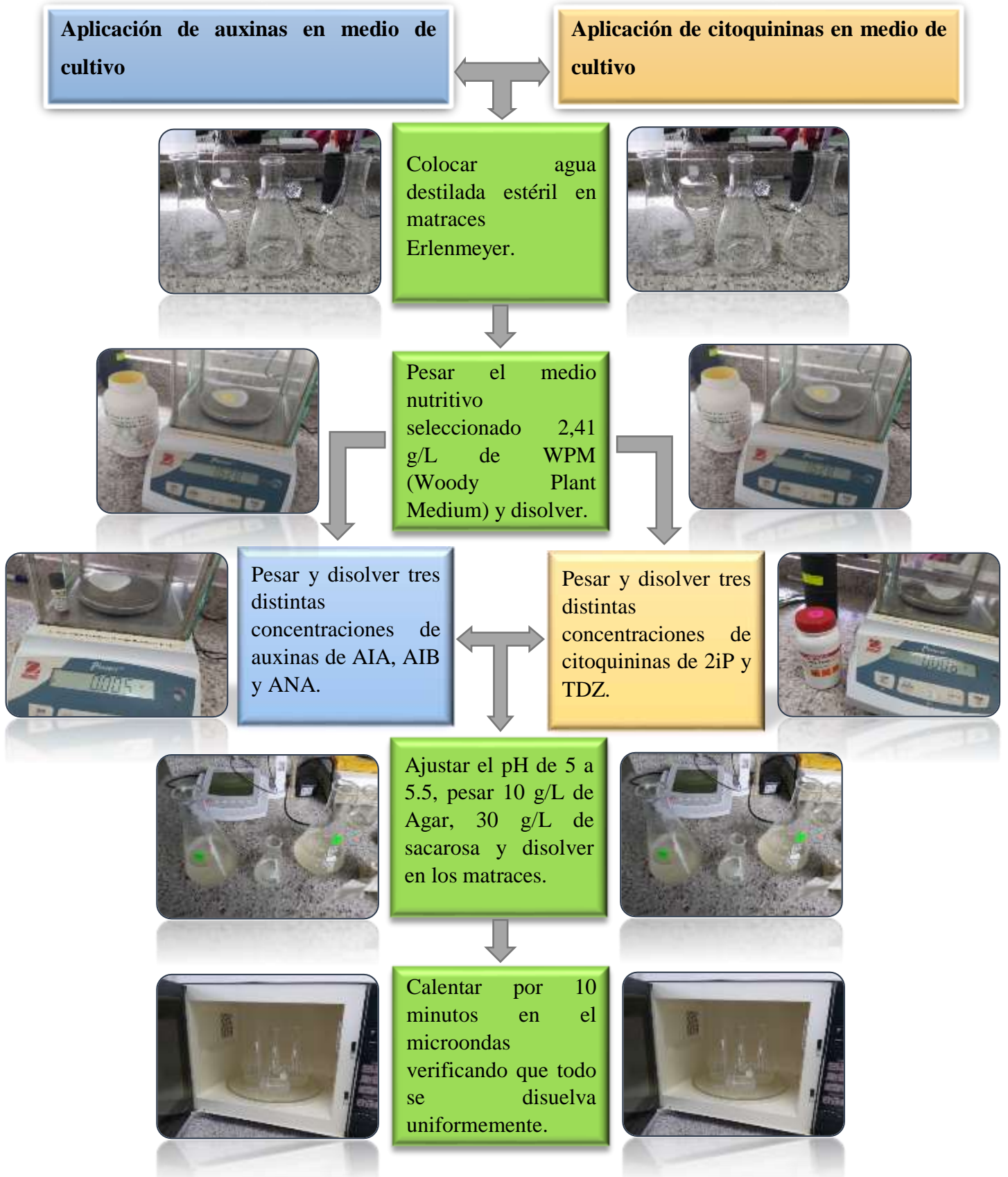
Sembrar los explantes en medios de cultivo y observar su desarrollo tomando datos cada 7 días por 4 semanas.

Observar su desarrollo y tomar datos cada 7 días por 4 semanas.



Figura 3. Diagrama de actividades desarrollados para realizar la desinfección de los explantes y determinar la influencia de diferentes condiciones de iluminación sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* L. Var. Emerald.

2.6.4. Objetivo 4. Determinar el tipo y las concentraciones de auxinas y citoquininas que favorezcan el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.



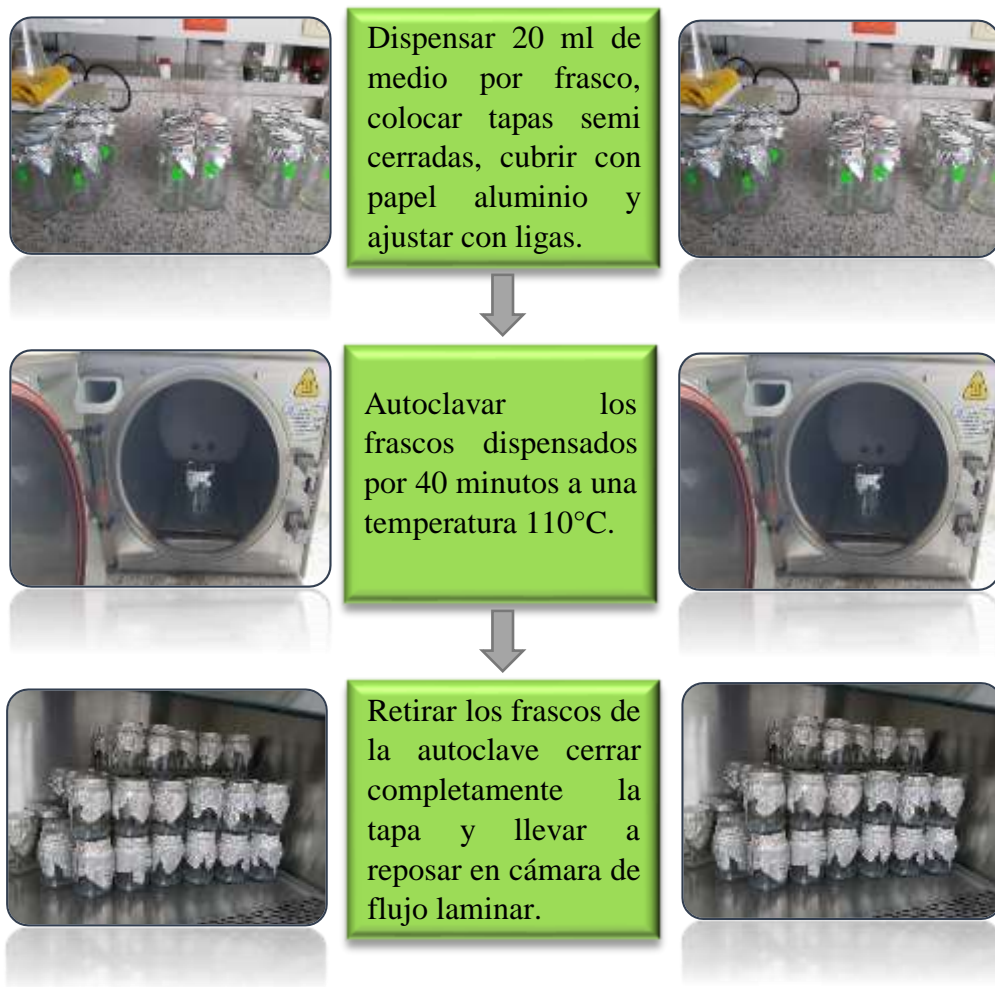


Figura 4. Diagrama de actividades realizado para determinar el efecto de diferentes auxinas (ANA, AIA, AIB) y citoquininas (2Ip, TDZ) en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. crymbosum* L. Var. Emerald.

2.7. VARIABLES RESPUESTA

Caracterización de establecimiento *in vitro*

- Porcentaje de contaminación *in vitro*.
- Porcentaje de establecimiento *in vitro*.
- Longitud del brote por explante.
- Número de brotes por explante.
- Número de yemas por brote.
- Número de hojas por brote.

2.8. Procesamiento de la información

Los datos registrados fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0. Se evaluaron los criterios de distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov y para determinar la homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Levene. Para aquellas variables cuyos datos cumplieron con ambos requerimientos se realizó un ANOVA de clasificación simple. Para separar las medias se utilizó la prueba de Tukey. Para los datos que no tuvieron distribución normal ni homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Kruskal Wallis completada con la prueba U de Mann Whitney. Para un nivel de significación de un 5 %.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

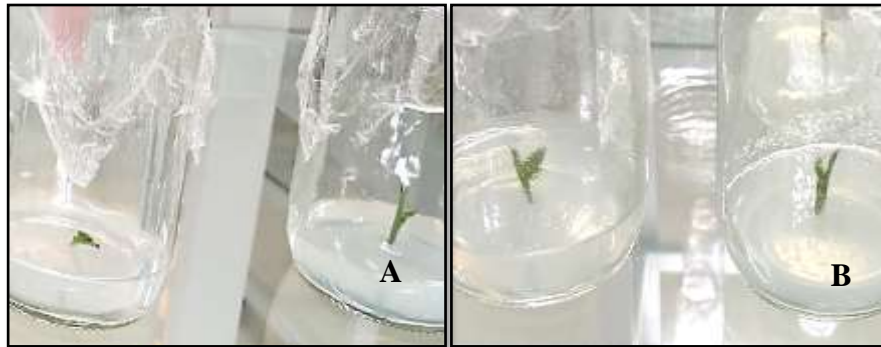
3.1. Determinar el medio de cultivo que permita un mejor establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano Var. Emerald.

3.1.1. Influencia de la composición de los medios nutritivos MS y WPM en el establecimiento *in vitro* de arándano azul Var. Emerald.

A los 7, 14, 21 y 28 días de la de la influencia de los medios nutritivos sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* L. Var. Emerald se observó que no mostraron diferencias estadísticas significativas al evaluar el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, la longitud del brote, el número de hojas por planta, el número de yemas por planta y el número de brotes por explante. Por el contrario en los parámetros de medición que corresponden a la longitud del brote, el número de hojas por planta y el número de yemas por planta se observó un mejor resultado en el medio correspondiente a WPM entre los medios MS y WPM (**Tabla 3**).

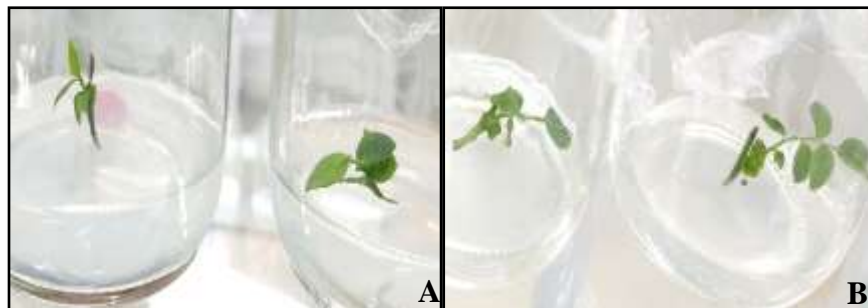
Según **Cayo y Peralta (2021)** afirmaron que al analizar las variables altura del brote, número de hojas por explante, número de brotes formados por explantes y porcentaje de contaminación, presentaron mejores resultados los explantes sembrados en el medio WPM, siendo la altura del brote la variación más notable en comparación con el medio MS, también manifestaron que la combinación con reguladores de crecimiento influyó en los resultados según las concentraciones empleada de estas.

Por otra parte, **Tetsumura *et al.* (2008)** refirieron que, para el caso de contaminación, establecimiento y brotación *in vitro* el medio WPM mostró mejores resultados con un 100% de eficacia a comparación de MW (mezcla homogénea de WPM y MS) con un 92% y MS que mostró una eficacia de 70% aunque la supervivencia de los explantes fue mayor en MW, y para el caso de longitud del brote se observó mejores resultados en MW y WPM superando al medio MS. Todos los medios preparados contenían 20 μM de 6-(4-hidroxi-3-metilbut-2-enilamino) purina (zeatina), agar al 0,8% (p/v), 2% (p/v) de sacarosa y 0,2% de mezcla de Plant Preservative Mixture (ppm, biocida/fungicida de amplio espectro para el cultivo de tejidos vegetales) ajustado a un pH de 4,8 coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación en tanto a la eficiencia del medio empleado.



Elaborado por: José Guamán

Figura 5. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* en dos medios de cultivo [MS (Murashige & Skoog) (A) y WPM (Woody Plant Medium) (B)] a los 7 días.



Elaborado por: José Guamán

Figura 6. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* en dos medios de cultivo [MS (Murashige & Skoog) (A) y WPM (Woody Plant Medium) (B)] a los 28 días.

Tabla 3. Efecto del tipo de medio de cultivo en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 28 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Medio MS	0	6,50	0	6,50	2	5,17
Medio WPM	0	6,50	0	6,50	2,33	7,83

Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Medio MS	5	5,92	5	5,92	1	6,50
Medio WPM	5,50	7,08	5,50	7,08	1	6,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

3.2. Evaluar la influencia de la concentración de agar y sacarosa en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales.

3.2.1. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

En la evaluación a los 7 días de la influencia de la concentración de agar sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Emerald se observó que no mostró diferencias estadísticas significativas al evaluar el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, la longitud de brote, el número de hojas por planta, el número de yemas por planta y el número de brotes por explante entre los tratamientos diseñados (**Tabla 4**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 7. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres concentraciones de agar [8 g/L^{-1} (A), 10 g/L^{-1} (B) y 12 g/L^{-1} (C)] a los 7 días.

Tabla 4. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 7 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Agar 8 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	1	14,50
Agar 10 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	1	14,50
Agar 12 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	1	14,50
Sin Agar	0,20	16,30	0,20	16,30	1	14,50

Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Agar 8 g.L^{-1}	0	14,50	0	14,50	1	14,50
Agar 10 g.L^{-1}	0	14,50	0	14,50	1	14,50
Agar 12 g.L^{-1}	0	14,50	0	14,50	1	14,50
Sin Agar	0	14,50	0	14,50	1	14,50

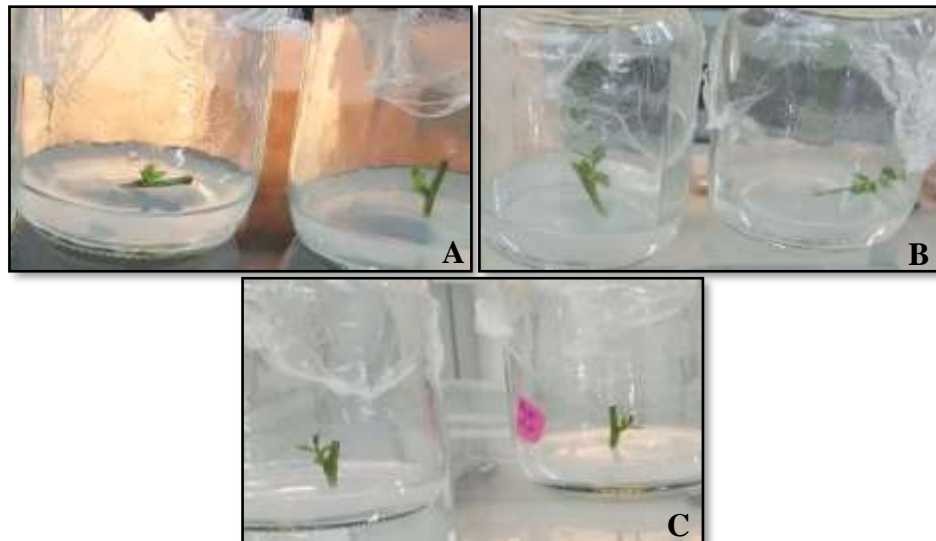
Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Sin embargo, en la evaluación correspondiente a los 14 días se determinó que entre los tratamientos que contenían 8, 10 y 12 g de agar por litro si mostraron diferencias estadísticas significativas en la longitud del brote, al añadir 10 g de agar por litro se alcanzó una mayor longitud de los brotes con relación al control sin agar y los tratamientos que contenían 8 y 12 g de Agar por litro.

Para en número de hojas y yemas por planta el uso de agar en las tres concentraciones permitió el desarrollo de mayor número de hojas y yemas por planta con relación al tratamiento control sin agar.

Asimismo, con el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento y número de brotes por explante no influyó la concentración de agar entre los tratamientos diseñados (**Tabla 5**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 8. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres concentraciones de agar [8 g/L⁻¹ (A), 10 g/L⁻¹ (B) y 12 g/L⁻¹ (C)] a los 14 días.

Tabla 5. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 14 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Agar 8 g.L ⁻¹	0	13,50	0	13,50	1,17	13,83 b
Agar 10 g.L ⁻¹	0	13,50	0	13,50	1,67	20,83 a
Agar 12 g.L ⁻¹	0	13,50	0	13,50	1,17	13,83 b
Sin Agar	0,20	16,30	0,20	16,30	1	11,50 b

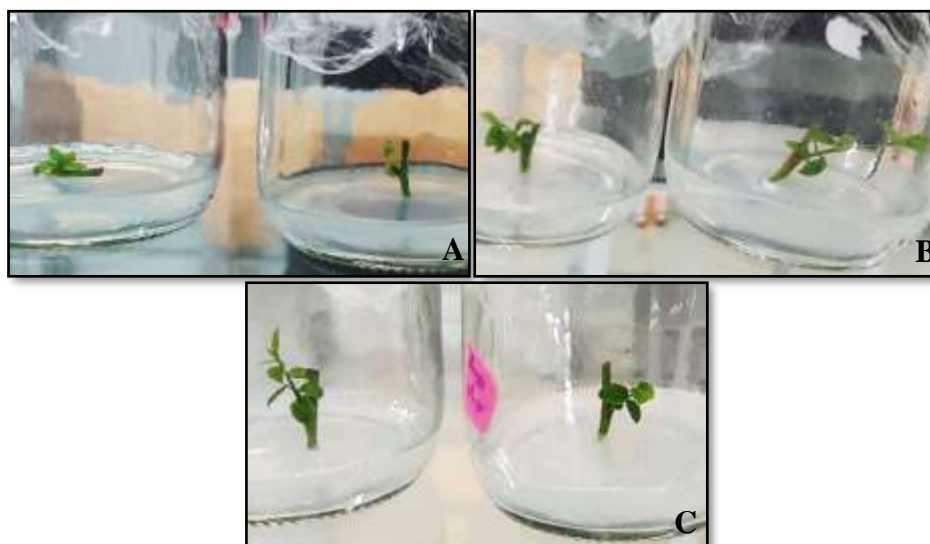
Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Agar 8 g.L ⁻¹	2,67	16,50 a	2,67	16,50 a	1	14,50
Agar 10 g.L ⁻¹	3	17,83 a	3	17,83 a	1	14,50
Agar 12 g.L ⁻¹	3,33	19,17 a	3,33	19,17 a	1	14,50
Sin Agar	0	8,50 b	0	8,50 b	1	14,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

En la evaluación correspondiente a los 21 días se determinó que la mayor longitud de los brotes, número de hojas por planta y número de yemas por planta se alcanzó al utilizar agar 10 gramos por litro como agente gelificante en comparación con el control sin agar.

Sin embargo, no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de agar utilizadas en relación con el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento y número de brotes por explante entre los tratamientos diseñados (**Tabla 6**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 9. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres concentraciones de agar [8 g/L^{-1} (A), 10 g/L^{-1} (B) y 12 g/L^{-1} (C)] a los 21 días.

Tabla 6. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 21 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Agar 8 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	1,50	12,58 ab
Agar 10 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	1,83	20,33 a
Agar 12 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	1,83	18,92 a
Sin Agar	0,20	16,30	0,20	16,30	1	9,50 b
Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Agar 8 g.L^{-1}	3	14,50 ab	3	14,50 ab	1	14,50
Agar 10 g.L^{-1}	4,67	18,67 ab	4,67	18,67 ab	1	14,50
Agar 12 g.L^{-1}	5,67	21,50 a	5,67	21,50 a	1	14,50
Sin Agar	0,40	7,80 b	0,40	7,80 b	1	14,50

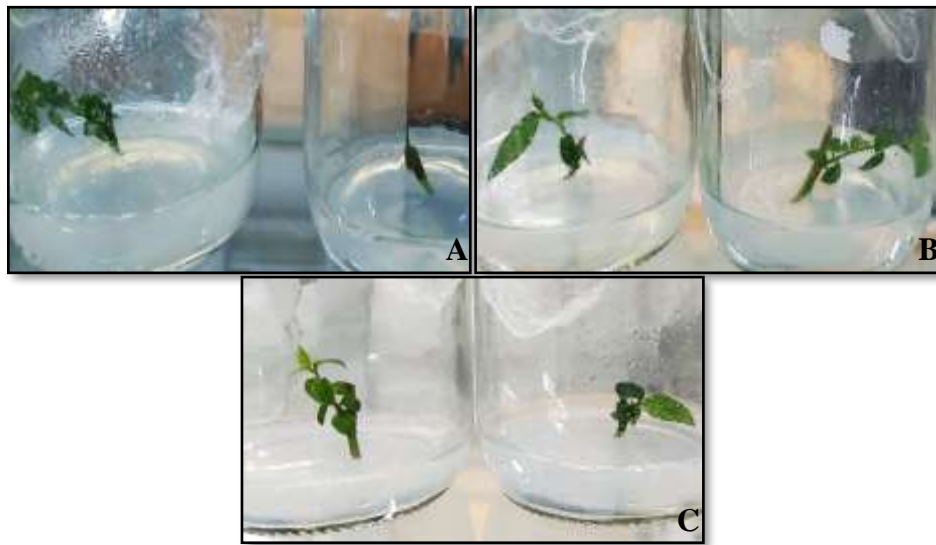
Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Mediante la evaluación correspondientes a los 28 días se determinó que entre los tratamientos que contenían 8, 10 y 12 g de agar por litro si mostraron diferencias estadísticas en la longitud del brote. Sin embargo, cuando se añadió 10 y 12 g de agar por litro se alcanzó una mayor longitud del brote con relación con el tratamiento control sin agar y el tratamiento con 8 g de agar por litro.

En relación con el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento y número de brotes por explante no influyó la concentración de agar entre los tratamientos diseñados (**Tabla 7**).

Tetsumura et al. (2008) en su investigación para la fase de establecimiento señalaron que el empleo de 2 g/L^{-1} de agar mostraron resultados favorables para el desarrollo de los explantes. **Zhao et al. (2011)** afirmaron que para la fase de establecimiento emplearon 8 g/L^{-1} de agar bacteriológico en los distintos medios de cultivo promovió la regeneración, proliferación y elongación de los brotes conjuntamente las fitohormonas y complementos empleados en la preparación del medio, aseverando que las cantidades de agar a utilizar dependerá de su procedencia y la variedad de material vegetal a utilizar, para este caso la concentración de agar difirió en los resultados de esta investigación con los autores antes mencionados dado que por la cantidad de medio nutritivo por frasco colocado (20 ml/frasco) la estabilidad del explante se vio afectada y no se mantuvieron firmes ante su peso depositándose de manera horizontal en el medio, por lo que se utilizó 10 g/L^{-1} para mantener la estabilidad en los explantes y observar mejores resultados en la medición de los parámetros analizados como: porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, longitud del brote, número de hojas por planta, número de yemas por planta y número de brotes por explante.



Elaborado por: José Guamán

Figura 10. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald en desarrollo *in vitro* con tres concentraciones de agar [8 g/L^{-1} (A), 10 g/L^{-1} (B) y 12 g/L^{-1} (C)] a los 28 días.

Tabla 7. Influencia de la concentración de agar en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 28 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Agar 8 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	1,50	11,67 b
Agar 10 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	2,50	21,00 a
Agar 12 g.L^{-1}	0	13,50	0	13,50	2,17	20,83 a
Sin Agar	0,2	16,30	0,2	16,30	1	8,50 b

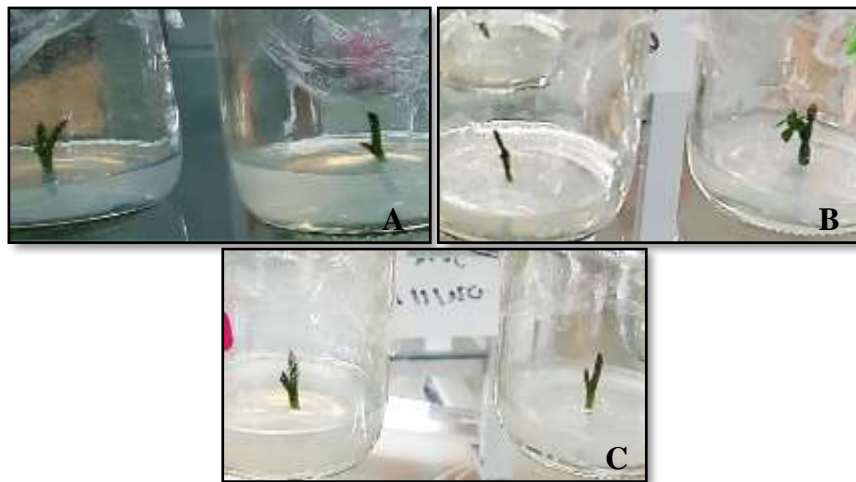
Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Agar 8 g.L^{-1}	3,50	13,42 ab	3,50	13,42 ab	1	14,50
Agar 10 g.L^{-1}	6,17	19,58 a	6,17	19,58 a	1	14,50
Agar 12 g.L^{-1}	6	20,33 a	6	20,33 a	1	14,50
Sin Agar	1,30	8,60 b	1,30	8,60 b	1	14,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

3.2.2. Influencia de la concentración de sacarosa en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

En la evaluación a los 7 días de la influencia de la concentración de sacarosa sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Emerald se observó que no mostró diferencias estadísticas significativas al evaluar el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, la longitud de brote, el número de hojas por planta, el número de yemas por planta y el número de brotes por explante entre los tratamientos diseñados (**Tabla 8**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 11. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* al utilizar concentraciones de sacarosa [25 g/L^{-1} (A), 30 g/L^{-1} (B) y 35 g/L^{-1} (C)] a los 7 días.

Tabla 8. Influencia de las concentraciones de sacarosa en establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 7 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Sacarosa 25 g.L ⁻¹	0	12,50	0	12,50	1	12,50
Sacarosa 30 g.L ⁻¹	0	12,50	0	12,50	1	12,50
Sacarosa 35 g.L ⁻¹	0	12,50	0	12,50	1	12,50
Sin Sacarosa	0	12,50	0	12,50	1	12,50

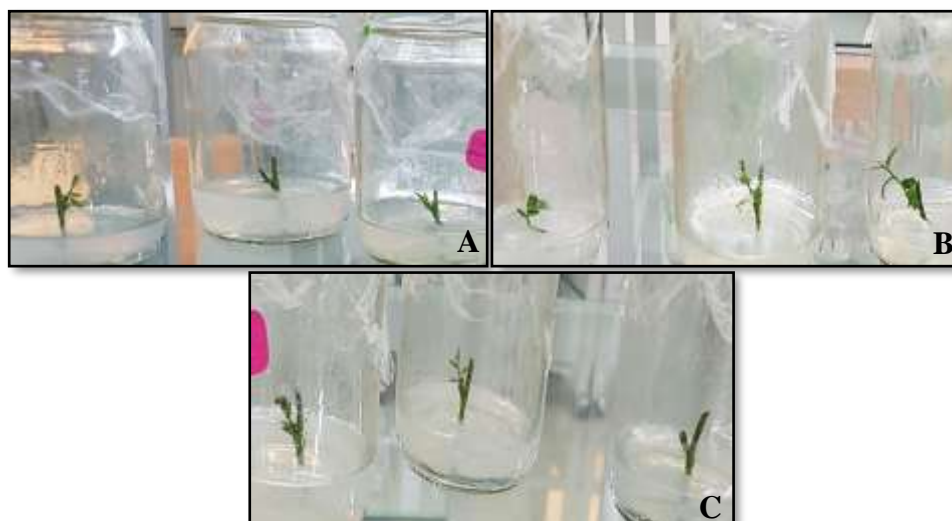
Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Sacarosa 25 g.L ⁻¹	0	12,50	0	12,50	1	12,50
Sacarosa 30 g.L ⁻¹	0	12,50	0	12,50	1	12,50
Sacarosa 35 g.L ⁻¹	0	12,50	0	12,50	1	12,50
Sin Sacarosa	0	12,50	0	12,50	1	12,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

No existieron diferencias estadísticas significativas a los 14 días entre los tratamientos que contenían 25, 30 y 35 g/L⁻¹ de sacarosa. Sin embargo, cuando se añadió 25 y 30 g/L⁻¹ se incrementó el número de hojas por planta y el número de yemas por planta en relación con el tratamiento control sin sacarosa.

En relación con el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, longitud del brote y el número de brotes por explante no influyó la concentración de sacarosa (Tabla 9).



Elaborado por: José Guamán

Figura 12. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* al utilizar tres concentraciones de sacarosa [25 g/L⁻¹ (A), 30 g/L⁻¹ (B) y 35 g/L⁻¹ (C)] a los 14 días

Tabla 9. Influencia de las concentraciones de sacarosa en establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 14 días.

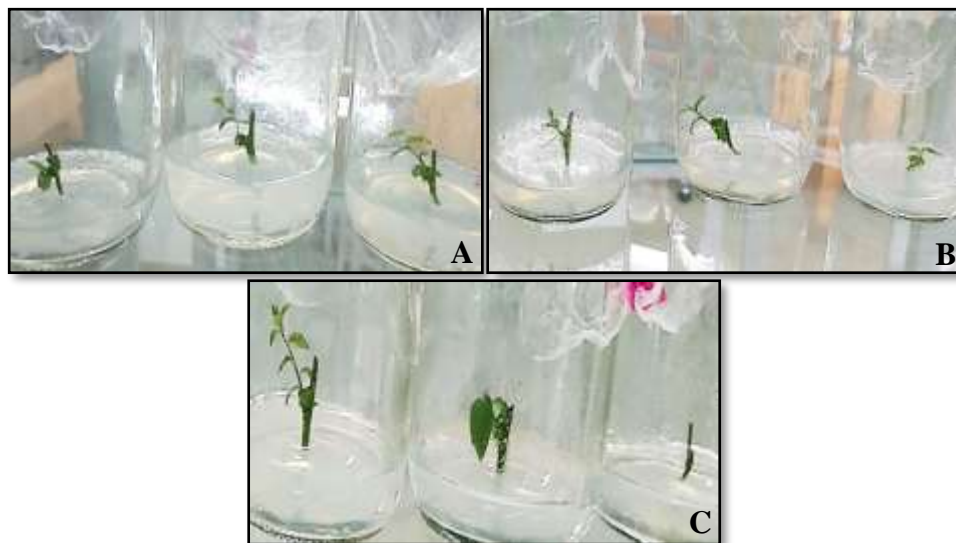
Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Sacarosa 25 g.L ⁻¹	0	14,50	0	14,50	1	12,50
Sacarosa 30 g.L ⁻¹	0	14,50	0	14,50	1,33	17,17
Sacarosa 35 g.L ⁻¹	0	14,50	0	14,50	1,33	17,17
Sin Sacarosa	0	14,50	0	14,50	1	12,50

Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Sacarosa 25 g.L ⁻¹	3	17,58 a	3	17,58 a	1	14,50
Sacarosa 30 g.L ⁻¹	2,67	18,50 a	2,67	18,50 a	1	14,50
Sacarosa 35 g.L ⁻¹	2,50	16,08 ab	2,50	16,08 ab	1	14,50
Sin Sacarosa	0,50	9,30 b	0,50	9,30 b	1	14,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Tras la evaluación correspondiente a los 21 días se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de sacarosa en los medios de cultivo para las variables porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, longitud del brote, número de hojas de hojas por planta, número de yemas por planta y el número de brotes por explante entre los tratamientos diseñados (**Tabla 10**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 13. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* al utilizar tres concentraciones de sacarosa [25 g/L^{-1} (A), 30 g/L^{-1} (B) y 35 g/L^{-1} (C)] a los 14 días.

Tabla 10. Influencia de las concentraciones de sacarosa en establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 21 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Sacarosa 25 g.L ⁻¹	0	14,00	0	14,50	1,67	17,00
Sacarosa 30 g.L ⁻¹	0	14,00	0	14,50	1,5	15,00
Sacarosa 35 g.L ⁻¹	0	14,00	0	14,50	2	16,17
Sin Sacarosa	0,17	15,40	0	14,50	4,33	11,70

Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Sacarosa 25 g.L ⁻¹	5	17,00	5	17,00	1	14,50
Sacarosa 30 g.L ⁻¹	5,33	18,25	5,33	18,25	1	14,50
Sacarosa 35 g.L ⁻¹	4	14,00	4	14,00	1	14,50
Sin Sacarosa	4,33	11,05	4,33	11,05	1	14,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

En relación con la evaluación correspondiente a los 28 días se determinó que la adición de sacarosa no influyó en el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento ni en el número de brotes por explante. Sin embargo, cuando se añadió sacarosa al medio de cultivo en concentraciones de 25 y 30 g/L⁻¹ se alcanzó mayor longitud del brote, número de hojas por planta y mayor número de yemas por planta en los tratamientos diseñados (**Tabla 11**).

Según **Rodríguez y Morales (2015)** señalaron que en la fase de establecimiento *in vitro* para lograr mejores resultados en las técnicas de cultivo es necesario proveer al material vegetal con suficiente cantidad de nutrientes esenciales incluyendo la sacarosa como fuentes de energía bajo condiciones heterotróficas donde emplearon el medio WPM suplementado con 30 g/L⁻¹ de sacarosa, 4 mg/L⁻¹ (2iP) y 7 g/L⁻¹ agar ajustando a un pH de 5,2 obteniendo como resultado una considerable brotación *in vitro* de arándano, coincidiendo con la cantidad de sacarosa empleada en esta investigación.

Elaborado por: José Guamán

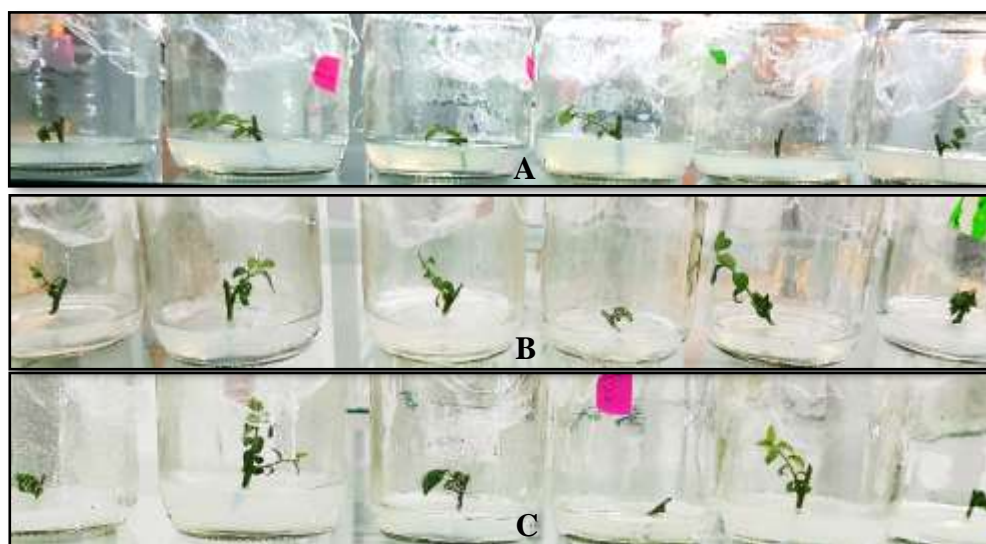


Figura 14. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* mediante el uso de tres concentraciones de sacarosa [25 g/L⁻¹ (A), 30 g/L⁻¹ (B) y 35 g/L⁻¹ (C)] a los 28 días.

Tabla 11. Influencia de las concentraciones de sacarosa en establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 28 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Sacarosa 25 g.L ⁻¹ ₁	0	14,00	0	14,50	2,33	17,17 a
Sacarosa 30 g.L ⁻¹ ₁	0	14,00	0	14,50	2,83	19,00 a

Sacarosa 35 g.L⁻¹	0	14,00	0	14,50	2,33	14,50 ab
Sin Sacarosa	0,17	15,40	0	14,50	1,67	10,20 b
Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Sacarosa 25 g.L⁻¹	6,67	17,42 a	6,67	17,42 a	1	14,50
Sacarosa 30 g.L⁻¹	7,50	19,25 a	7,50	19,25 a	1	14,50
Sacarosa 35 g.L⁻¹	6,57	16,25 ab	6,57	16,25 ab	1	14,50
Sin Sacarosa	4,83	8,85 b	4,83	8,85	1	14,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

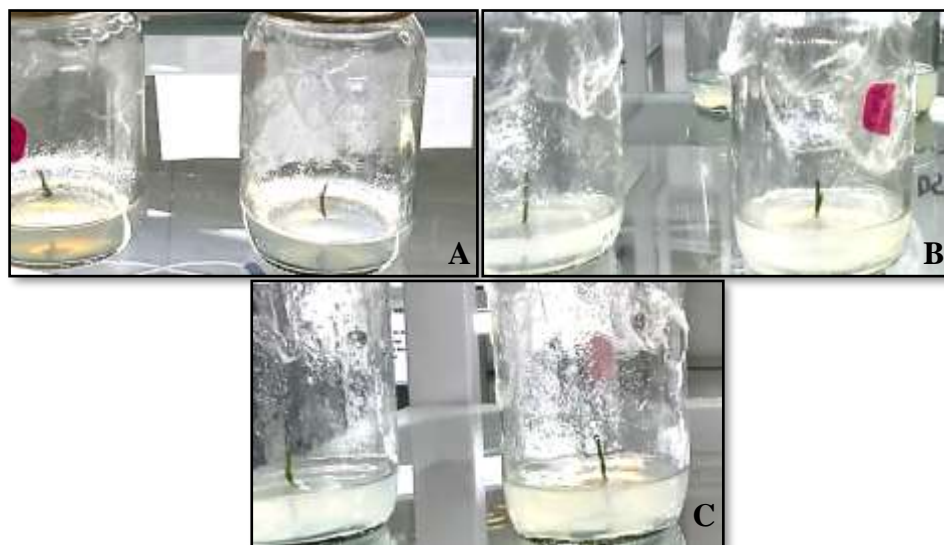
3.3. Evaluar la influencia de agentes de desinfección e iluminación en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales.

3.3.1. Influencia de agentes de desinfección (Hipoclorito de sodio, Povidyn y Tween 20) y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

Influencia del agente de desinfección Tween 20 y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

En la evaluación realizada a los 7 días de la influencia del agente de desinfección Tween 20 sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Emerald se observó que el uso de Tween 20 no influyó sobre el porcentaje de

contaminación ni sobre el número de brotes por explante. Sin embargo, el porcentaje de establecimiento *in vitro* se incrementó al no utilizar Tween 20 (**Tabla 12**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 15. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* utilizando tres concentraciones de desinfección de Tween20 [1 gota/100ml (A), 2 gotas/100ml (B) y 3 gotas/100ml (C)] a los 7 días.

Tabla 12. Influencia del agente de desinfección Tween 20 en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los a los 7 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
1 gota de Tween 20 en 100 mL de agua	0,33	30,50	0,20	29,50 b	1	30,00
2 gota de Tween 20 en 100 mL de agua	0,20	30,50	0,27	25,50 b	1	32,00

3 gota de Tween 20 en 100 mL de agua	0,33	30,50	0,20	29,50 b	1	30,00
Sin Tween 20	0,60	30,50	0,20	37,50 a	1	30,00

Elaborado por: José Guamán

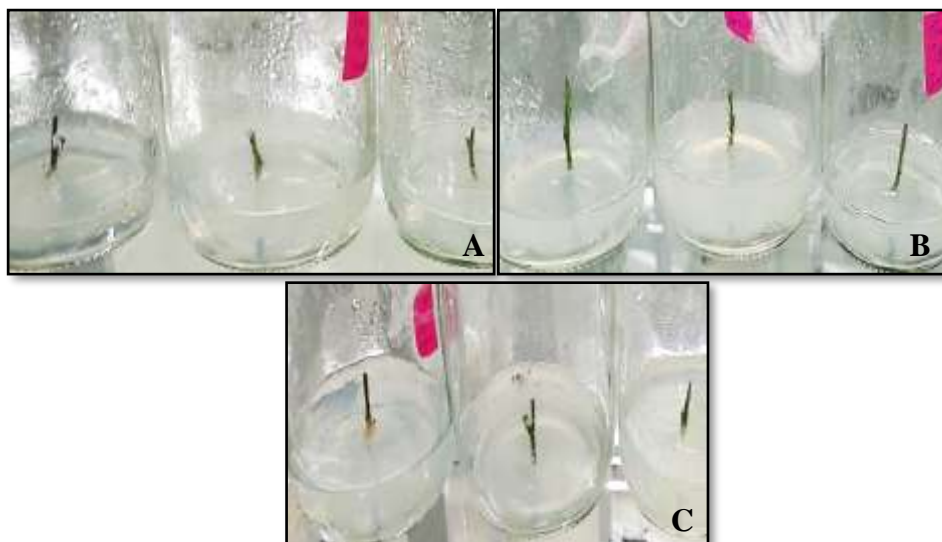
Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Sin embargo, en la evaluación realizada a los 14 días se observó que no mostró diferencias estadísticas significativas al evaluar el número de brotes por explante. Por otra parte, en los tratamientos que contenían 1, 2 y 3 gotas de Tween 20 se observó un menor índice de contaminación y menor índice de pérdida de material vegetal en el porcentaje de establecimiento entre los medios de cultivo que contenían 2 gotas de Tween 20 (**Tabla 13**).

Según **León (2017)** los explantes vegetales a los cuales se les realizó un protocolo de desinfección mediante el uso de agua jabonosa, H_2O_2 al 20%, alcohol al 70% por 1 minuto, hipoclorito de sodio al 20% por 15 minutos agregando 2 gotas de tween 20 enjuagando 5 veces con agua esterilizada al finalizar redujeron en gran medida la presencia de contaminación en los medios *in vitro*, además **Arista et al. (2019)** manifestaron que al emplear un protocolo para desinfección incluyendo una gota de tween 20 agitando por 10 minutos y realizando 3 enjuagues con agua desionizada estéril se redujo considerablemente la presencia de contaminantes.

Además **Rache y Pacheco (2010)** emplearon adicionalmente a la desinfección la concentración de Tween 20 (0,1 v/v) reduciendo así el índice de contaminación al tener propiedades fungicidas, esporicidas y bactericidas, igualmente **Brenes et al. (2015)** mencionan que para una menor contaminación en los procesos de siembra *in vitro* emplearon procesos similares a los autores antes mencionados, así mismo en esta investigación se adicionó 1 gota de tween 20 como parte del protocolo de desinfección

puesto que reduce la tensión superficial ayudando a una mejor limpieza y reducir la presencia de hongos y bacterias en los cultivos *in vitro*.



Elaborado por: José Guamán

Figura 16. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* mediante el uso de tres concentraciones de desinfección de Tween20 [1 gota/100ml (A), 2 gotas/100ml (B) y 3 gotas/100ml (C)] a los 14 días.

Tabla 13. Influencia del agente de desinfección Tween 20 en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los a los 14 días.

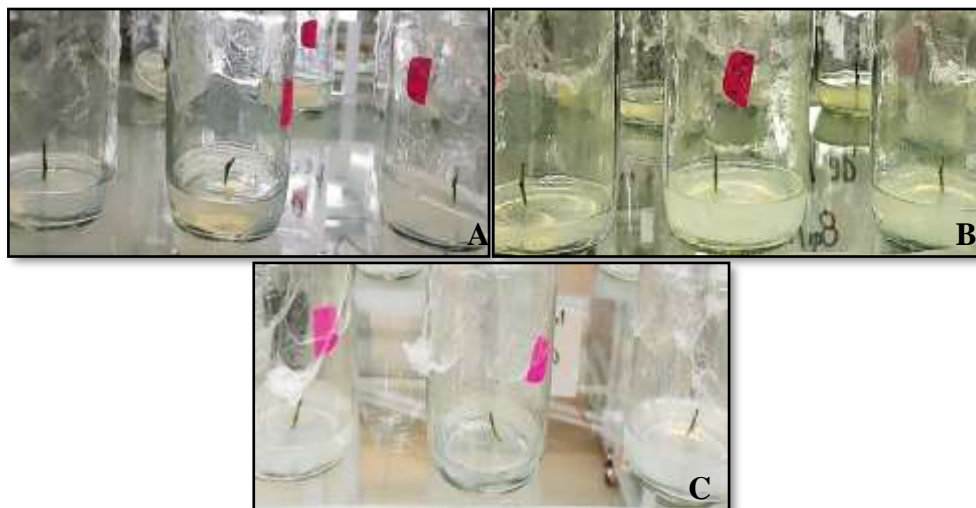
Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
1 gota de Tween 20 en 100 mL de agua	0,40	30,50 b	0,47	34,00 a	1	30,50
2 gota de Tween 20 en 100 mL de agua	0,13	22,50 c	0,20	26,00 b	1	30,50
3 gota de Tween 20 en 100 mL de agua	0,40	30,50 b	0,47	34,00 a	1	30,50
Sin Tween 20	0,80	38,50 a	0,40	28,00 b	1	30,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Influencia del agente de desinfección Povidyn y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

En la evaluación realizada a los 7 días de la influencia del agente de desinfección con Povidyn sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Emerald no mostró diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de Povidyn para el porcentaje de establecimiento y el número de brotes por explante. Por el contrario, los tratamientos que presentaban 0,5 - 1 y 1,5 % de Povidyn se observó un menor porcentaje de contaminación con la concentración de 1,5 % de Povidyn (**Tabla 14**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 17. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres concentraciones de Povidyn [0,5 % v/v (A), 1 % v/v (B) y 1,5 % v/v (C)] a los 7 días.

Tabla 14. Influencia del agente de desinfección Povidyn en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 7 días.

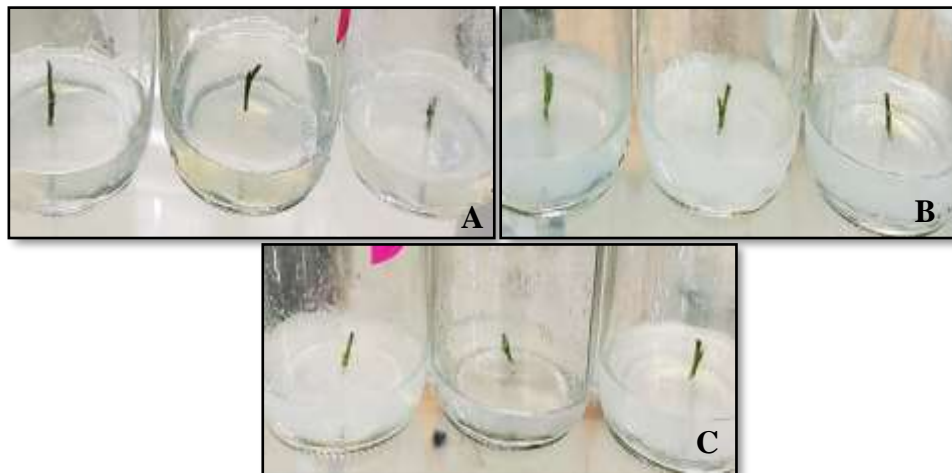
Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Povidyn 0,5%	0,30	30,50 ab	0,10	27,50	1	30,50
Povidyn 1%	0,27	28,50 a	0,20	31,50	1	30,50
Povidyn 1,5%	0,13	24,50 a	0,20	31,50	1	30,50
Sin Povidyn	0,60	38,50 b	0,20	31,50	1	30,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

En la evaluación realizada a los 14 días se observó que no mostró diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de Povidyn en los medios de cultivo para las variables porcentaje de establecimiento y el número de brotes por explante. Por el contrario, los tratamientos que presentaban 0,5 - 1 y 1,5 % de Povidyn se observó una menor incidencia de contaminación comprendido al medio de cultivo que contenía una concentración de 1,5 % de Povidyn (**Tabla 15**).

En el trabajo realizado por **Indacochea et al. (2017)** mencionaron que el uso de Povidyn se emplea en la limpieza de segmentos nodales de especies arbustivas y leñosas para retirar y descartar los desechos de contaminantes empleando una concentración del 1 %. Considerando que Povidyn es un microbicida y antiséptico de amplio espectro con las propiedades del yodo estando unido a la Polividona lograron alcanzar un 90 % de explantes vivos libres de hongos y bacterias, difiriendo con esta investigación ya que se mostraron mejores resultados con una concentración de 1,5 % de Povidyn empleado en el protocolo de desinfección.



Elaborado por: José Guamán

Figura 18. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres concentraciones de Povidyn [0,5 % v/v (A), 1 % v/v (B) y 1,5 % v/v (C)] a los 14 días.

Tabla 15. Influencia del agente de desinfección Povidyn en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 14 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Povidyn 0,5%	0,67	30,00 a	0,27	26,00	1	30,50
Povidyn 1%	0,27	28,00 a	0,27	32,00	1	30,50
Povidyn 1,5%	0,33	26,00 a	0,27	32,00	1	30,50
Sin Povidyn	0,40	38,00 b	0,10	32,00	1	30,50

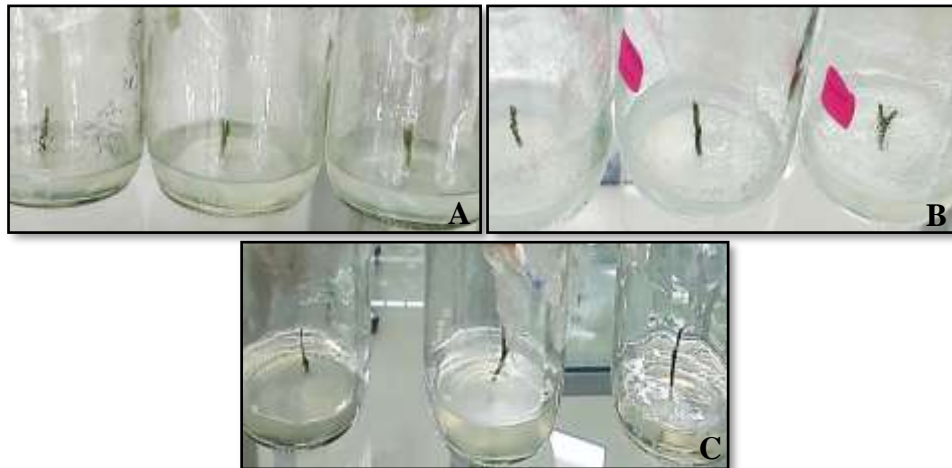
Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Influencia del agente de desinfección hipoclorito de sodio y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

En la evaluación realizada a los 7 días de la influencia del agente de desinfección hipoclorito de sodio sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Emerald se observó que no mostró diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio en los medios de cultivo para el porcentaje de establecimiento y el número de brotes por explante.

Sin embargo, los tratamientos de 1, 3 y 5 % de hipoclorito de sodio presentó una menor incidencia de porcentaje de contaminación al medio que contenía 3% de hipoclorito de sodio con respecto al tratamiento control (**Tabla 16**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 19. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres concentraciones de desinfección de hipoclorito de sodio [1 % (A), 3% (B) y 5% (C)] a los 7 días.

Tabla 16. Influencia del agente de desinfección hipoclorito de sodio en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 7 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Hipoclorito de sodio 1%	0,40	31,00 ab	0,40	34,00	1	30,50
Hipoclorito de sodio 3%	0,13	23,00 b	0,20	28,00	1	30,50
Hipoclorito de sodio 5%	0,40	31,00 ab	0,33	32,00	1	30,50
Sin hipoclorito de sodio	0,60	37,00 a	0,20	28,00	1	30,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

En la evaluación realizada a los 14 días se observó que las concentraciones de hipoclorito de sodio al 1, 3 y 5% no mostró diferencias estadísticas significativas en los medios de cultivo para el porcentaje de establecimiento y el número de brotes por explante. Sin embargo, solo la concentración de hipoclorito de sodio al 3% redujo significativamente el porcentaje de contaminación al compararlo con el control (**Tabla 17**).

Según **Indacochea et al. (2018)** mencionaron que al emplear hipoclorito de sodio al 2,5 % alcanzaron un menor índice de contaminación en las siembras *in vitro*. Además, en los estudios realizados por **Brenes et al. (2015)** señalaron que se logró un 75 % de explantes limpio al emplear 1,5 % de hipoclorito de sodio difiriendo con esta investigación ya que se registró un mayor porcentaje de explantes limpios respecto a cuándo se usó 3 % de hipoclorito de sodio, aunque se requirió explantes con un tamaño

de 2 a 3 cm para evitar pérdidas de material vegetal por oxidación por efecto de la desinfección.



Elaborado por: José Guamán

Figura 20. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres concentraciones de desinfección de hipoclorito de sodio [1 % (A), 3 % (B) y 5 % (C)] a los 14 días.

Tabla 17. Influencia del agente de desinfección hipoclorito de Sodio en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 14 días.

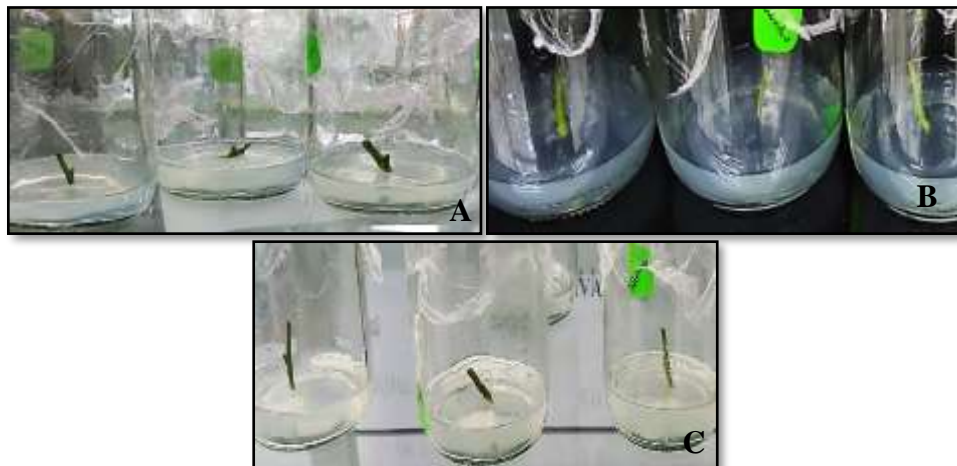
Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Hipoclorito de sodio 1%	0,40	30,50 ab	0,47	34,00	1	30,50
Hipoclorito de sodio 3%	0,13	22,50 b	0,20	26,00	1	30,50
Hipoclorito de sodio 5%	0,40	30,50 ab	0,47	34,00	1	30,50
Sin hipoclorito de sodio	0,67	38,50 a	0,27	28,00	1	30,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

3.3.2. Influencia de la presencia y ausencia de luz en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

En la evaluación realizada a los 7 días de la influencia de presencia y ausencia de luz sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Emerald, se observó que no mostró diferencias estadísticas significativas al evaluar el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, la longitud del brote, el número de hojas por planta, el número de yemas por planta y el número de brotes por explante (Tabla 18).



Elaborado por: José Guamán

Figura 21. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres condiciones de iluminación [Luz permanente (A), Oscuridad total (B) y 12 h/Luz solar + 12 h/Oscuridad (C)] a los 7 días.

Tabla 18. Efecto de condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 7 días.

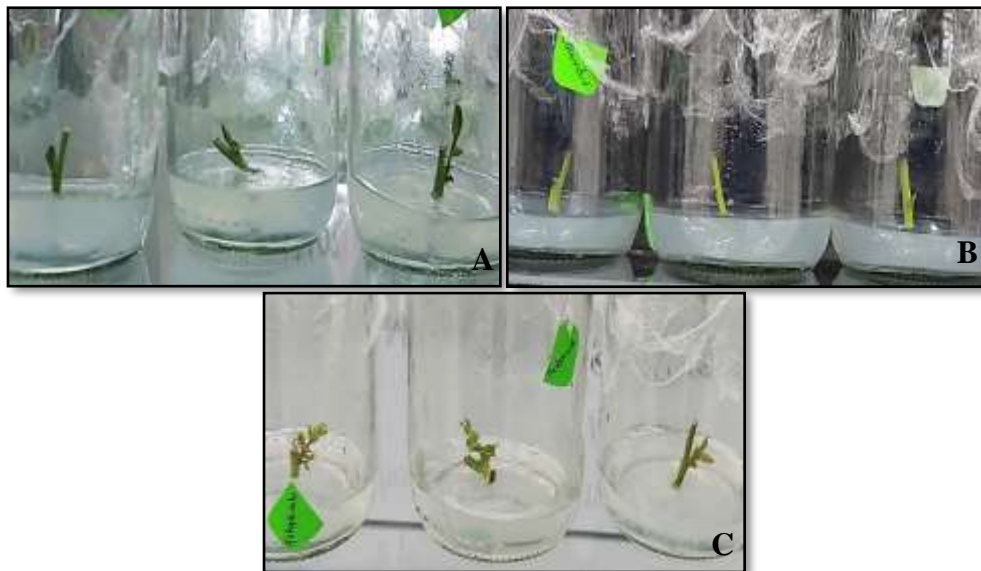
Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Luz blanca fluorescente	0	9,50	0	9,50	1	9,50
Oscuridad total	0	9,50	0	9,50	1	9,50
12h luz solar + 12h oscuridad	0	9,50	0	9,50	1	9,50

Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Luz blanca fluorescente	0	9,50	0	9,50	1	9,50
Oscuridad total	0	9,50	0	9,50	1	9,50
12h luz solar + 12h oscuridad	0	9,50	0	9,50	1	9,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Tras 14 días de evaluación correspondientes a las condiciones de iluminación se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las distintas condiciones de iluminación para las variables correspondientes al porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, longitud del brote, número de hojas por planta, número de yemas por planta y el número de brotes por explante (**Tabla 19**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 22. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres condiciones de iluminación [Luz permanente (A), Oscuridad total (B) y 12 h/Luz solar + 12 h/Oscuridad (C)] a los 14 días.

Tabla 19. Efecto de condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 14 días.

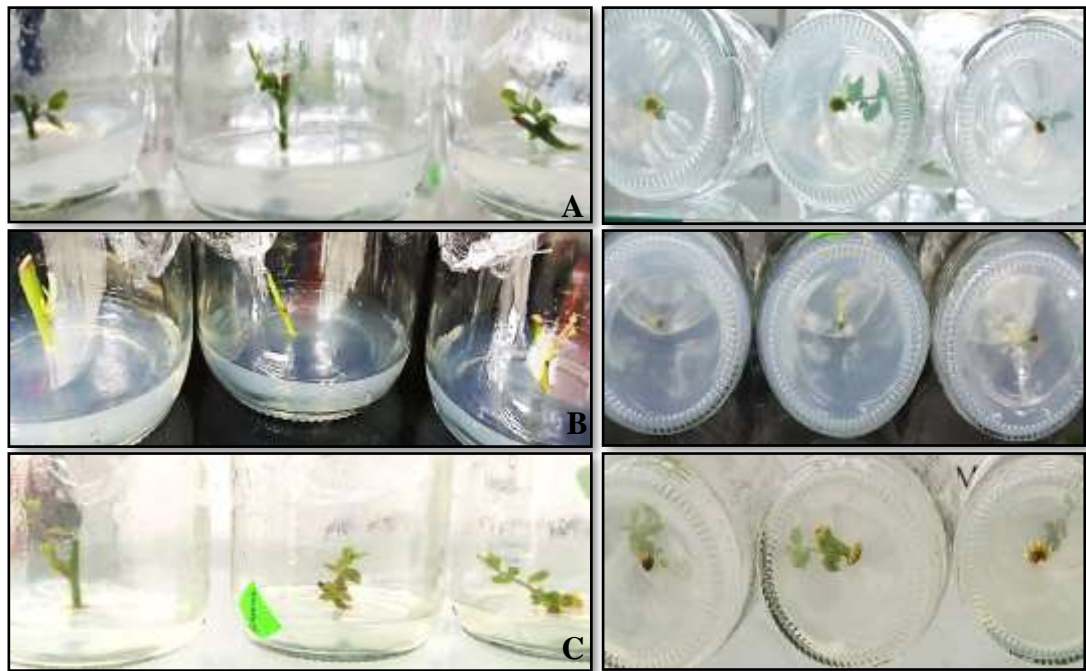
Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Luz blanca fluorescente	0	9,50	0	9,50	1,17	8,50
Oscuridad total	0	9,50	0	9,50	1	7,00
12h luz solar + 12h oscuridad	0	9,50	0	9,50	1,67	13,00

Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Luz blanca fluorescente	3,67	10,08	3,67	10,08	1	9,50
Oscuridad total	0	4,00	0	4,00	1	9,50
12h luz solar + 12h oscuridad	6,50	14,42	6,60	14,42	1	9,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Sin embargo, en la evaluación correspondiente a los 21 días, se determinó que no existieron diferencias estadísticas significativas para el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento y número de brotes por explante. Por el contrario, en los tratamientos las condiciones de iluminación con 12 horas luz más 12 horas oscuridad, así como la luz blanca fluorescente incrementaron la longitud de los brotes, número de hojas por planta y número de yemas por planta observándose también la presencia de callos como en las tres distintas condiciones de iluminación (**Tabla 20**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 23. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres condiciones de iluminación con presencia de callos en la base de los explantes [Luz permanente (A), Oscuridad total (B) y 12 h/Luz solar + 12 h/Oscuridad (C)] a los 21 días.

Tabla 20. Efecto de condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 21 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Luz blanca fluorescente	0	9,50	0	9,50	2,50	10,00 ab
Oscuridad total	0	9,50	0	9,50	1,33	4,33 b
12h luz solar + 12h oscuridad	0	9,50	0	9,50	3,67	14,17 a

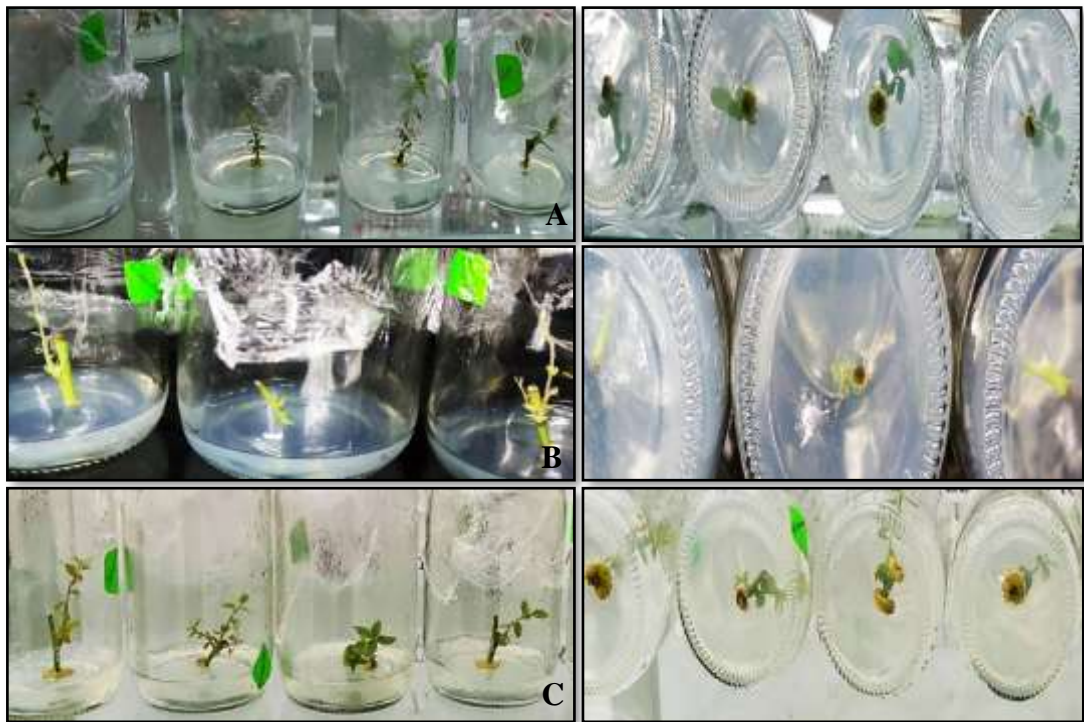
Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Luz blanca fluorescente	7	10,42 ab	7	10,42 ab	1	6,50
Oscuridad total	1,83	4,08 b	1,33	4,08 b	1,50	9,67
12h luz solar + 12h oscuridad	8,83	14,00 a	8,83	14,00 a	1,83	12,33

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Sin embargo, en la evaluación correspondiente a los 28 días, se determinó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes condiciones de iluminación en los medios de cultivo para las variables porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento y número de brotes por explante. Por el contrario, las condiciones de iluminación de 12 horas luz más 12 horas oscuridad, así como la luz fluorescente incrementaron la longitud de brotes, número de hojas por planta y número de yemas por planta además se observó el desarrollo de callos en las distintas condiciones de iluminación (**Tabla 21**).

En los estudios realizados por **Castro y Álvarez (2013)** mencionaron que un fotoperiodo compuesto por 12 horas luz más 12 horas de oscuridad afectó significativamente a la respuesta de establecimiento, el número de brotes y la altura de los brotes por explante mostrando respuestas similares a las obtenidas en esta investigación. Además, en el trabajo realizado por **Mora (2010)** señaló que los ensayos realizados presentaron mayor tamaño del brote cuando se utilizó un periodo de observación con 16 horas luz y 8 horas oscuridad con luz blanca fluorescente de 75 W.



Elaborado por: José Guamán

Figura 24. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres condiciones de iluminación con presencia de callos [Luz permanente (A), Oscuridad total (B) y 12 h/Luz solar + 12 h/Oscuridad (C)] a los 28 días.

Tabla 21. Efecto de condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 28 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Luz blanca fluorescente	0	9,50	0	9,50	3,17	9,33 ab
Oscuridad total	0	9,50	0	9,50	2,67	7,42 b
12h luz solar + 12h oscuridad	0	9,50	0	9,50	3,83	11,75 a

Tratamientos	Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Luz blanca fluorescente	9,33	10,75 ab	9,33	9,33	10,75 ab	9,33
Oscuridad total	3,33	4,58 b	3,83	3,33	4,58 b	3,83
12h luz solar + 12h oscuridad	10,50	13,17 a	10,50	10,50	13,17 a	10,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

3.4. Determinar el tipo y las concentraciones de auxinas y citoquininas que favorezcan el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

3.4.1. Influencia del tipo de auxina y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

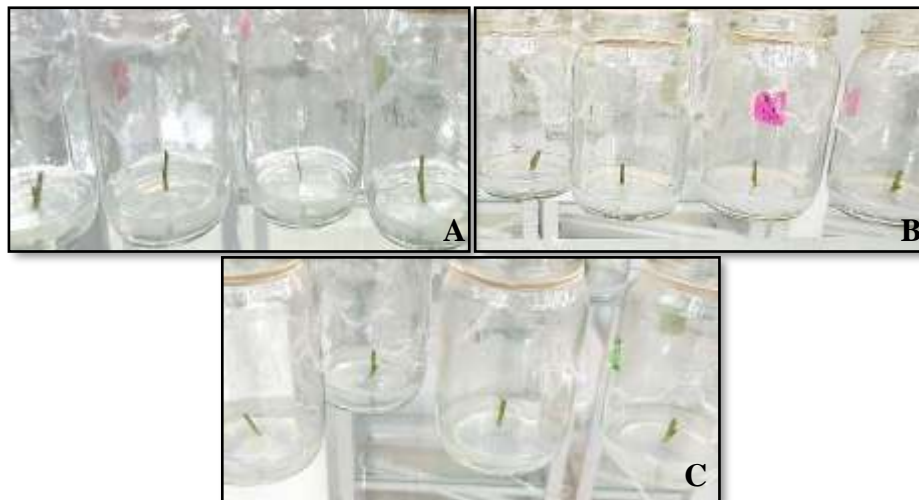
En la evaluación realizada a los 7 días de la influencia de concentración de auxinas sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Emerald, se observó que no mostró diferencias estadísticas significativas al evaluar: el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, el número de hojas por planta, el número de yemas por planta y el número de brotes por explante. Por otro lado, los tratamientos que contenían AIA (0,5 - 1 - 1,5 ppm), AIB (2,5 - 3 - 3,5 ppm) y ANA (0,05, 1, 0,15 ppm) mostraron que los medios de cultivo que contenían AIA (0,5 - 1 - 1,5 ppm) fueron los que presentaron menor longitud de los brotes observados a comparación de los demás tratamientos y el tratamiento testigo sin auxinas como reguladores de crecimiento (Tabla 22).

Tabla 22. Efecto de diferentes auxinas y concentraciones sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 7 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
AIA 0,5 ppm	0	32,50	0	32,50	0	9,50 b	0	32,50	0	32,50	1	32,50
AIA 1 ppm	0	32,50	0	32,50	0	9,50 b	0	32,50	0	32,50	1	32,50
AIA 1,5 ppm	0	32,50	0	32,50	0	9,50 b	0	32,50	0	32,50	1	32,50
AIB 2,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	41,50 a	0	32,50	0	32,50	1	32,50
AIB 3 ppm	0	32,50	0	32,50	1	41,50 a	0	32,50	0	32,50	1	32,50
AIB 3,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	41,50 a	0	32,50	0	32,50	1	32,50
ANA 0,05 ppm	0	32,50	0	32,50	1	41,50 a	0	32,50	0	32,50	1	32,50
ANA 0,1 ppm	0	32,50	0	32,50	1	41,50 a	0	32,50	0	32,50	1	32,50
ANA 0,15 ppm	0	32,50	0	32,50	1	41,50 a	0	32,50	0	32,50	1	32,50
Sin Auxinas	0	32,50	0	32,50	1	41,50 a	0	32,50	0	32,50	1	32,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.



Elaborado por: José Guamán

Figura 25. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres tipos de auxinas [AIA 1 ppm (A), IBA 3 ppm (B) y ANA 0,1 ppm (C)] a los 7 días.

Tras los 14 días de evaluación se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de auxinas en los medios de cultivo para las variables porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, longitud del brote y el número de brotes por explante.

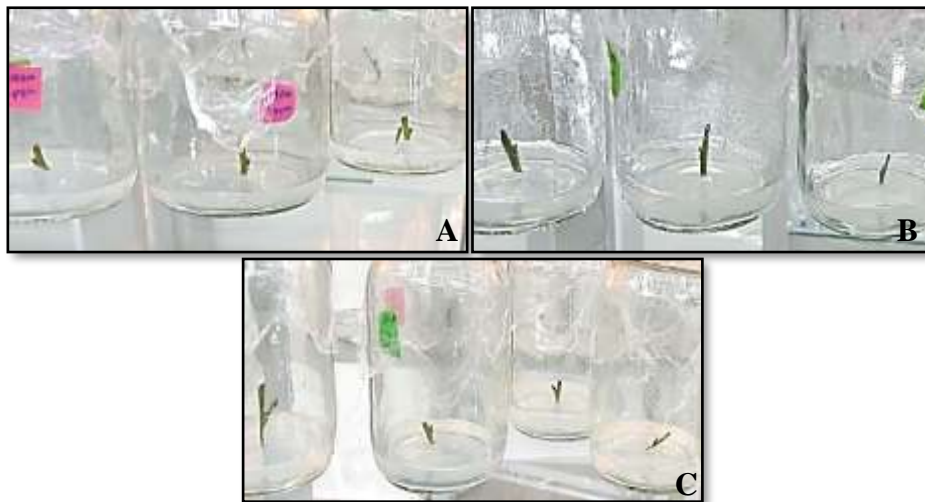
Por otra parte, los tratamientos que contenían AIA (0,5 – 1 – 1,5 ppm), AIB (2,5 – 3 – 3,5 ppm) y ANA (0,05 – 1 – 0,15 ppm) se observó un mayor número de hojas por planta y número de yemas por planta correspondiente al medio que contenía ANA (0,15 ppm) y el tratamiento testigo sin auxinas con respecto al resto de tratamientos y sus concentraciones (**Tabla 23**).

Tabla 23. Efecto de diferentes auxinas y concentraciones sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 14 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
AIA 0,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	31,50	0	27,50 b	0	27,50 b	1	32,50
AIA 1 ppm	0	32,50	0	32,50	1	31,50	0	27,50 b	0	27,50 b	1	32,50
AIA 1,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	31,50	0	27,50 b	0	27,50 b	1	32,50
AIB 2,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	31,50	0	27,50 b	0	27,50 b	1	32,50
AIB 3 ppm	0	32,50	0	32,50	1	31,50	0	27,50 b	0	27,50 b	1	32,50
AIB 3,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	31,50	0	27,50 b	0	27,50 b	1	32,50
ANA 0,05 ppm	0	32,50	0	32,50	1	31,50	1	33,42 b	1	33,42 b	1	32,50
ANA 0,1 ppm	0	32,50	0	32,50	1	31,50	0	27,50 b	0	27,50 b	1	32,50
ANA 0,15 ppm	0	32,50	0	32,50	1,17	36,83	2,83	49,42 a	2,83	49,42 a	1	32,50
Sin Auxinas	0	32,50	0	32,50	1,10	34,70	1,50	42,80 a	1,50	42,80 a	1	32,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.



Elaborado por: José Guamán

Figura 26. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres tipos de auxinas [AIA 1 ppm (A), IBA 3 ppm (B) y ANA 0,1 ppm (C)] a los 14 días.

No obstante, con 21 días de evaluación se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de auxinas en los medios de cultivo para las variables porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento y el número de brotes por explante.

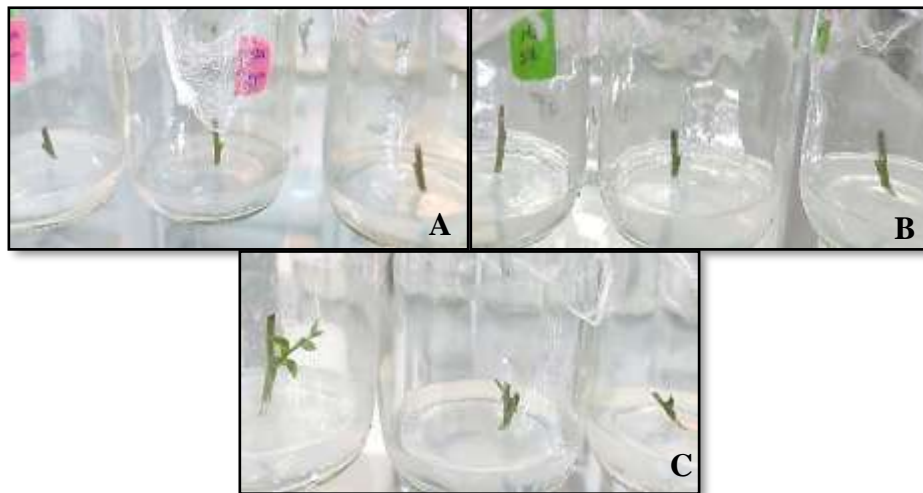
Por otra parte, los tratamientos que contenían AIA (0,5 - 1 - 1,5 ppm), AIB (2,5 - 3 - 3,5 ppm) y ANA (0,05 - 1 - 1,15 ppm) se observó un mayor tamaño de la longitud del brote, un mayor número de hojas por planta y número de yemas por planta correspondiente al medio que contenía ANA (0,05 y 0,15 ppm) y el tratamiento testigo sin auxinas con respecto al resto de tratamientos y sus concentraciones (**Tabla 24**).

Tabla 24. Efecto de diferentes auxinas y concentraciones sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 21 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
AIA 0,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	24,50 b	0,33	25,17 b	0,33	25,17 b	1	31,00
AIA 1 ppm	0	32,50	0	32,50	1	24,50 b	0	21,50 b	0	21,50 b	1	31,00
AIA 1,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1,17	29,25 b	1,17	27,25 b	1,17	27,25 b	1	31,00
AIB 2,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	24,50 b	0	21,50 b	0	21,50 b	1	31,00
AIB 3 ppm	0	32,50	0	32,50	1	24,50 b	0	21,50 b	0	21,50 b	1	31,00
AIB 3,5 ppm	0	32,50	0	32,50	1	24,50 b	0	21,50 b	0	21,50 b	1	31,00
ANA 0,05 ppm	0	32,50	0	32,50	1,67	40,00 a	4,33	46,75 a	4,33	46,75 a	1,17	36,25
ANA 0,1 ppm	0	32,50	0	32,50	1	24,50 b	0,50	25,67 b	0,50	25,67 b	1,33	36,50
ANA 0,15 ppm	0	32,50	0	32,50	2	45,33 a	6	52,67 a	6	52,67 a	1	31,00
Sin Auxinas	0,20	37,90	0,20	37,90	2,30	51,05 a	5,90	49,90 a	5,90	49,90 a	1,10	34,15

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.



Elaborado por: José Guamán

Figura 27. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres tipos de auxinas [AIA 1 ppm (A), IBA 3 ppm (B) y ANA 0,1 ppm (C)] a los 21 días.

Mediante la evaluación realizada a los 28 días se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de auxinas AIA (0,5 - 1 - 1,5 ppm), AIB (2,5 - 3 - 3,5 ppm) y ANA (0,05 - 1 - 1,15 ppm) en los medios de cultivo para las variables porcentaje de contaminación y porcentaje de establecimiento. Sin embargo, cuando se añadió AIA (0,5 y 1 ppm), ANA (0,05 - 0,1 - 0,15 ppm) y el tratamiento control sin auxinas se alcanzó una mayor longitud de los brotes por explante.

Por otro lado, el uso de auxinas AIA (0,5 y 1 ppm), ANA (0,05 - 0,1 - 0,15 ppm) y el tratamiento control permitieron el desarrollo de mayor número de hojas por planta y número de yemas por planta con relación al resto de tratamientos.

En relación con el número de brotes por explante mostró que si influyó la concentración de auxinas donde se alcanzó un mayor número de brotes por explante al emplear AIA (0,5 ppm) y ANA (0,05 - 0,1 - 0,15 ppm) con relación al tratamiento control y el resto de los tratamientos y sus concentraciones (**Tabla 25**).

En el trabajo de **Torres et al. (2010)** aseguraron que la concentración de ANA (0,1 ppm/L) y TZR (7 ppm/L) proporcionaron los mejores resultados para el proceso de introducción y brotación *in vitro* de yemas *Vaccinium* de hasta un 100 %, también mencionaron que concentraciones por debajo de esta no generaron brotación, aunque se haya mantenido la concentración de TZR. Además, **Chicaiza (2021)** estableció que un medio suplementado con Zeatina (2 mg/L), ANA (2 ml/L) y Kinetina (0,05 ml/L) produjo un 95,57 % de brotes de explante de arándano.

Para el caso de AIB **Brenes et al. (2014)** emplearon concentraciones de (0 - 1 - 2 - 4 y 8 mg/L) no obteniendo ningún resultado en la fase de establecimiento *in vitro* dado que tiene mejores resultados en el proceso de enraizamiento obteniendo el porcentaje menor al 10 % en la fase *in vitro* en cualquiera de las concentraciones, pero al ser trasplantadas su desarrollo de raíces fue del 100 % independientemente de la concentración. Además, **Chamorro et al (2007)** señalaron que al emplear AIB consiguió desarrollar 52 raíces promedio por explante con una concentración de AIB (3 mg/L) siendo más efectivo para enraizamiento que para establecimiento *in vitro*. Para el caso de AIA **Chamorro et al. (2007)** aseguraron que no produce efectos notables en el establecimiento *in vitro* en este material a diferencia de otros reguladores.



Elaborado por: José Guamán

Figura 28. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con tres tipos de auxinas [AIA 1 ppm (A), IBA 3 ppm (B) y ANA 0,1 ppm (C)] a los 28 días.

Tabla 25. Efecto de diferentes auxinas y concentraciones sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 28 días.

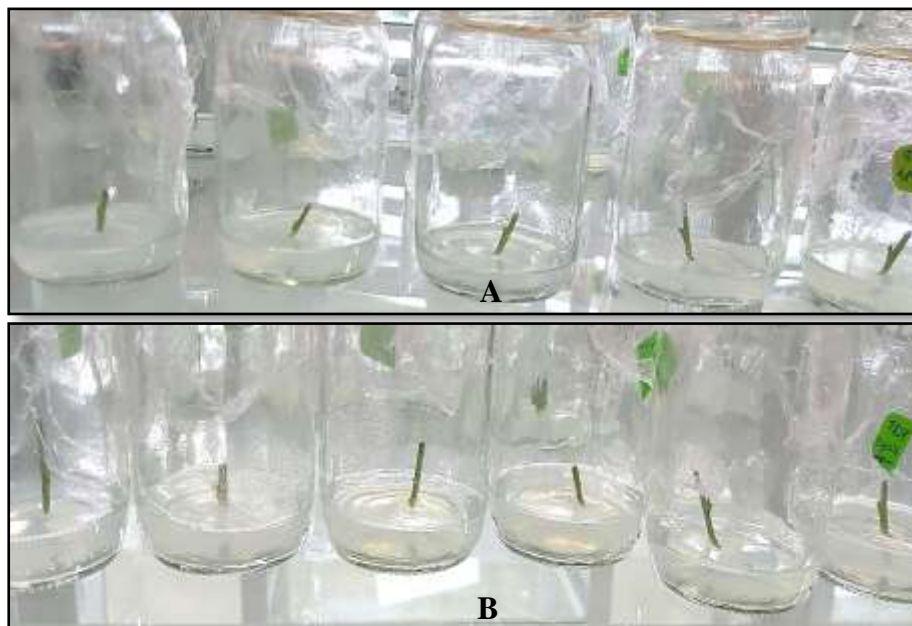
Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
AIA 0,5 ppm	0	31,50	0	31,50	1,33	27,83 a	3,50	34,33 a	3,17	34,00 a	1,67	38,17 a
AIA 1 ppm	0	31,50	0	31,50	1	19,50 ab	0	16,50 b	0	16,50 b	1	26,50 c
AIA 1,5 ppm	0	31,50	0	31,50	1,33	25,42 b	2,17	26,42 ab	2,17	26,58 ab	1	26,50 c
AIB 2,5 ppm	0	31,50	0	31,50	1	19,50 b	0	16,50 b	0	16,50 b	1	26,50 c
AIB 3 ppm	0	31,50	0	31,50	1	19,50 b	0	16,50 b	0	16,50 b	1	26,50 c
AIB 3,5 ppm	0	31,50	0	31,50	1	19,50 b	0	16,50 b	0	16,50 b	1	26,50 c
ANA 0,05 ppm	0	31,50	0	31,50	2,33	42,58 a	6,50	44,67 a	5,50	42,58 a	1,33	36,17 a
ANA 0,1 ppm	0	31,50	0	31,50	1,83	40,33 a	5	42,25 a	5	43,42 a	1,83	43,00 a
ANA 0,15 ppm	0	31,50	0	31,50	2,50	46,75 a	10,17	54,92 a	9,83	55,08 a	1,83	43,00 a
Sin Auxinas	0,20	37,90	0,20	37,90	2,90	51,45 a	7,20	46,85 a	7,20	47,40 a	1,20	32,30 bc

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

3.4.2. Influencia del tipo de citoquininas y su concentración en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano.

En la evaluación realizada a los 7 días de la influencia de concentración de citoquininas sobre el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Emerald, se observó que no mostró diferencias estadísticas significativas al evaluar: el porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, la longitud del brote, el número de hojas por planta, el número de yemas por planta y el número de brotes por explante (**Tabla 26**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 29. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con dos tipos de citoquininas [2iP 1,0 ppm (A) y TDZ 0,01 ppm (B)] a los 7 días.

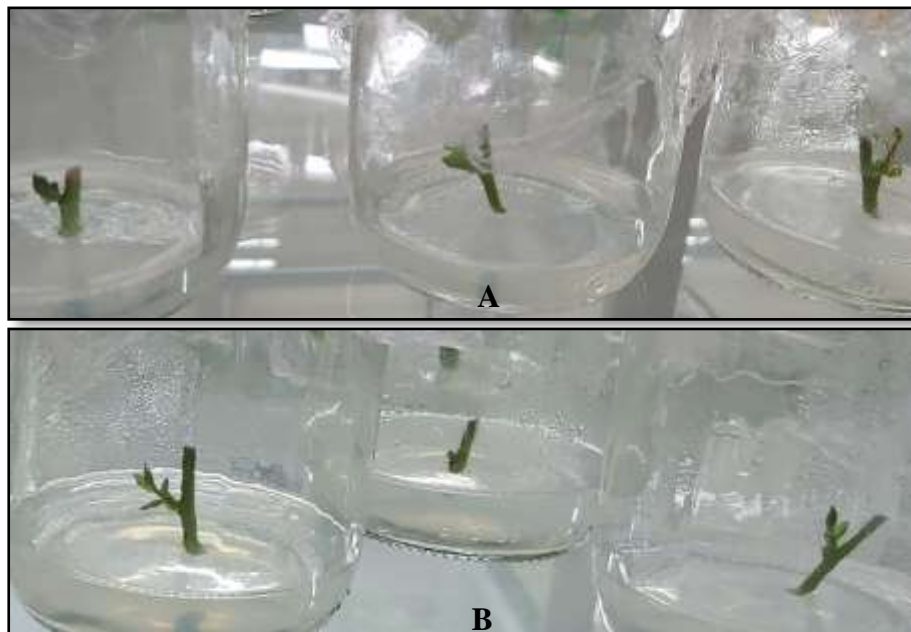
Tabla 26. Influencia de tipos y concentraciones de citoquininas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 7 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
2iP 0,25 ppm	0	23,50	0	23,50	1	23,50	0	23,50	0	23,50	1	23,50
2iP 1,0 ppm	0	23,50	0	23,50	1	23,50	0	23,50	0	23,50	1	23,50
2iP 1,25 ppm	0	23,50	0	23,50	1	23,50	0	23,50	0	23,50	1	23,50
TDZ 0,005 ppm	0	23,50	0	23,50	1	23,50	0	23,50	0	23,50	1	23,50
TDZ 0,01 ppm	0	23,50	0	23,50	1	23,50	0	23,50	0	23,50	1	23,50
TDZ 0,05 ppm	0	23,50	0	23,50	1	23,50	0	23,50	0	23,50	1	23,50
Sin Citoquininas	0	23,50	0	23,50	1	23,50	0	23,50	0	23,50	1	23,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

En la evaluación realizada a los 14 días determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de citoquininas en los medios de cultivo para las variables porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento, longitud del brote y el número de brotes por explante. Por otra parte, los tratamientos que contenían 2iP (0,25 - 1 - 1,25 ppm) y TDZ (0,005 – 0,01 – 0,05 ppm) se observó un mayor número de hojas por planta y número de yemas por planta correspondiente al medio que contenía 2iP (1,0 ppm) y TDZ (0,005 y 0,05 ppm) con respecto al tratamiento testigo sin citoquininas y el resto de los tratamientos y sus concentraciones (**Tabla 27**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 30. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con dos tipos de citoquininas [2iP 1,0 ppm (A) y TDZ 0,05 ppm (B)] a los 14 días.

Tabla 27. Influencia de tipos y concentraciones de citoquininas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 14 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
2iP 0,25 ppm	0	23,50	0	23,50	1,17	24,33	0,67	16,92 b	0,67	16,92 b	1	23,50
2iP 1,0 ppm	0	23,50	0	23,50	1,33	28,17	3,33	30,17 a	3,33	30,17 a	1	23,50
2iP 1,25 ppm	0	23,50	0	23,50	1	20,50	0,67	17,83 b	0,67	17,83 b	1	23,50
TDZ 0,005 ppm	0	23,50	0	23,50	1,17	24,33	3,33	30,25 a	3,33	30,25 a	1	23,50
TDZ 0,01 ppm	0	23,50	0	23,50	1	20,50	0	13,00 b	0	13,00 b	1	23,50
TDZ 0,05 ppm	0	23,50	0	23,50	1,17	24,33	4,17	34,25 a	4,17	34,25 a	1	23,50
Sin Citoquininas	0	23,50	0	23,50	1,10	22,80	1,50	22,65 b	1,50	22,65 b	1	23,50

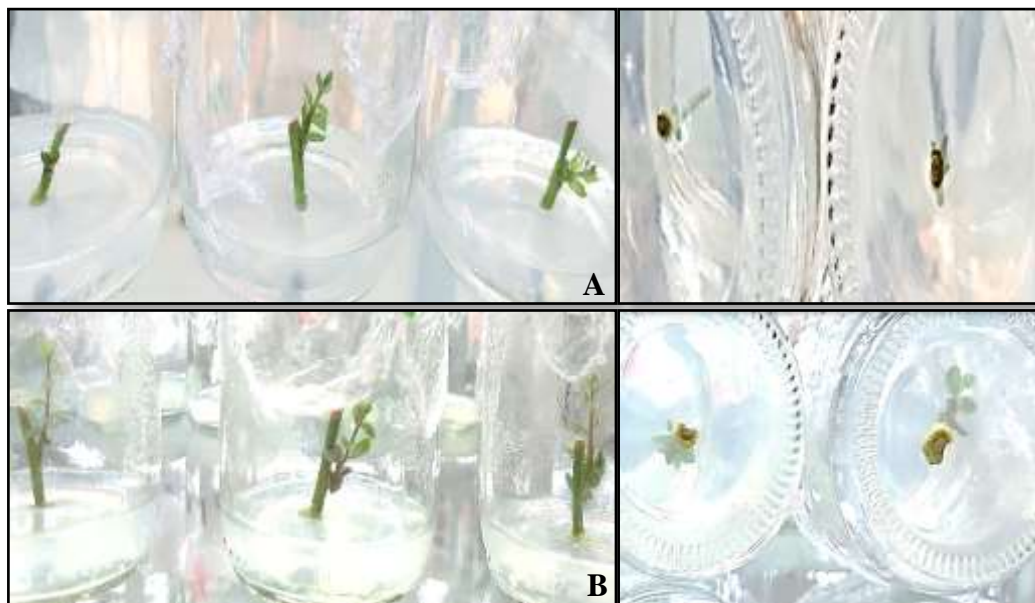
Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

La evaluación realizada a los 21 días se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de citoquininas 2iP (0,25 – 1 – 1,2 - 5 ppm) y TDZ (0,005 – 0,01 – 0,05 ppm) en los medios de cultivo para las variables porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento.

Por otra parte, el uso de TDZ (0,05 ppm) permitió el desarrollo de una mayor longitud del brote con relación con el tratamiento control y resto de tratamientos y sus concentraciones. En relación con el número de hojas por planta y número de yemas por planta se observó un mejor desarrollo de estas al utilizar TDZ (0,05 ppm) con relación al tratamiento testigo.

Entre los tratamientos diseñados se pudo determinar que cuando se añadió 2iP (1,25 ppm) y TDZ (0,05 ppm) se alcanzó un mayor número de brotes por explante en comparación con el tratamiento testigo y el resto de los tratamientos y sus concentraciones (**Tabla 28**).



Elaborado por: José Guamán

Figura 31. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con dos tipos de citoquininas [2iP 1,25 ppm (A) y TDZ 0,05 ppm (B)] a los 14 días.

Tabla 28. Influencia de tipos y concentraciones de citoquininas en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 21 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
2iP 0,25 ppm	0	22,50	0	22,50	1,67	18,00 c	4,83	19,83 b	4,83	19,83 b	1	17,50 b
2iP 1,0 ppm	0	22,50	0	22,50	2,17	25,08 bc	6,83	27,08 b	6,83	27,08 b	1,17	20,92 b
2iP 1,25 ppm	0	22,50	0	22,50	1,33	13,17 c	4,50	18,92 b	4,17	18,08 b	2	33,17 a
TDZ 0,005 ppm	0	22,50	0	22,50	2,17	25,42 bc	7	26,25 b	7	26,25 b	1	17,50 b
TDZ 0,01 ppm	0	22,50	0	22,50	1,50	15,75 c	5,17	18,17 b	5,17	18,17 b	1,33	21,92 b
TDZ 0,05 ppm	0	22,50	0	22,50	3,33	37,50 a	9,33	35,00 a	9,33	35,00 a	2,17	36,58 a
Sin Citoquininas	0,20	27,10	0,20	27,10	2,30	27,15 bc	5,90	21,45 b	5,90	21,45 b	1,10	19,55 b

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Sin embargo, la evaluación realizada a los 21 días se determinó que no mostraron diferencias estadísticas significativas entre las diferentes concentraciones de citoquininas 2iP (0,25 – 1 – 1,2 - 5 ppm) y TDZ (0,005 – 0,01 – 0,05 ppm) en los medios de cultivo para las variables porcentaje de contaminación, porcentaje de establecimiento.

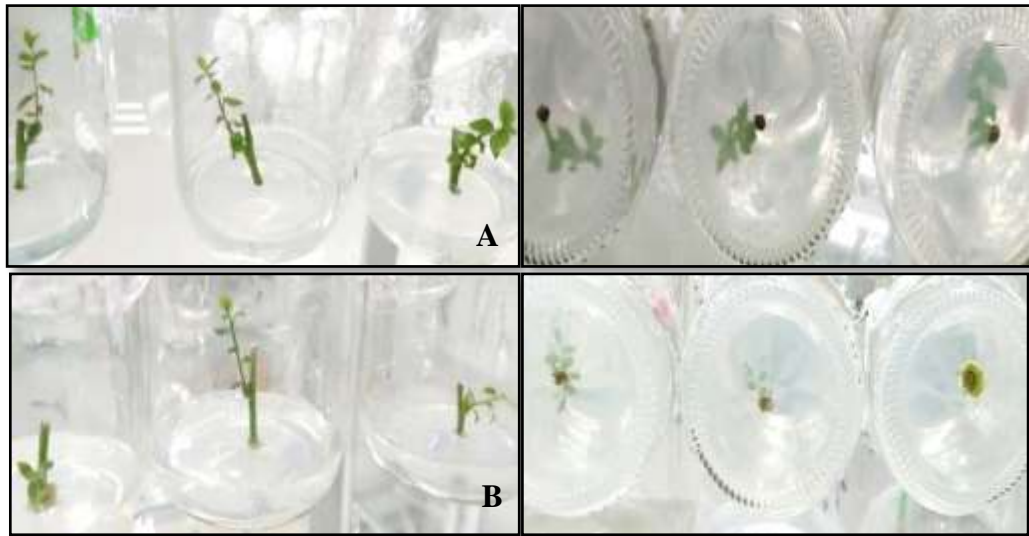
Por otra parte, el uso de TDZ (0,05 ppm) permitió el desarrollo de una mayor longitud del brote con relación con el tratamiento control y resto de tratamientos y sus concentraciones.

En relación con el número de brotes por explante se observó un mayor número de brotes al utilizar 2iP (1,25 ppm) y TDZ (0,05 ppm) con relación al tratamiento testigo.

Entre los tratamientos diseñados se pudo determinar que cuando se añadió 2iP (1,0 ppm) y TDZ (0,05 ppm) se alcanzó un mayor número de hojas por planta y número de yemas por planta comparación con el tratamiento testigo y el resto de los tratamientos y sus concentraciones (**Tabla 29**).

Según estudios realizados por **Torres *et al.* (2010)** mencionaron que al emplear la concentración de 2iP (1 ppm/L), las plantas muestran una elongación y desarrollo normal a diferencia de concentraciones más elevadas donde con 2iP (5 ppm/L) se inhibió el crecimiento, aunque indujeron abundantes ramificaciones.

Con la hormona Thidiazuron **Chamorro *et al* (2007)** lograron una tasa de brotación de 2,6 en cuatro semanas, siendo la tasa más alta obtenida con este regulador a una concentración de TDZ (0,01 ppm), además demostró que con concentraciones más altas de TDZ (0,1 ppm) mostró una tasa de brotación más baja en el primero y segundo ciclo del proceso *in vitro*.



Elaborado por: José Guamán

Figura 32. Brotes de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald establecidos *in vitro* con dos tipos de citoquininas [2iP 1 ppm (A) y TDZ 0,01 ppm (B)] a los 28 días.

Tabla 29. Influencia de tipos y concentraciones en establecimiento en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 28 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
2iP 0,25 ppm	0	22,50	0	22,50	2,50	19,92 bc	8,17	20,83 b	8,17	20,83 b	1,50	22,50 b
2iP 1,0 ppm	0	22,50	0	22,50	3	27,50 b	9,83	29,33 ab	9,83	29,33 ab	1,67	24,25 b
2iP 1,25 ppm	0	22,50	0	22,50	1,83	12,92 c	6,50	18,08 b	6,50	18,08 b	2,17	32,33 a
TDZ 0,005 ppm	0	22,50	0	22,50	2,33	18,42 bc	7,67	21,17 b	7,67	21,17 b	1,17	16,17 b
TDZ 0,01 ppm	0	22,50	0	22,50	2,50	20,00 bc	8,17	20,58 b	8,17	20,58 b	1,67	22,83 b
TDZ 0,05 ppm	0	22,50	0	22,50	3,83	38,25 a	12,17	36,42 a	12,17	36,42 a	2,33	34,08 a
Sin Citoquininas	0,20	27,10	0,20	27,10	2,90	25,90 b	7,20	20,25 b	7,20	20,25 b	1,20	16,80 b

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de Kruskal Wallis, complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.1. CONCLUSIONES

1. El medio de cultivo WPM permitió un mejor establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano (Var. Emerald).
2. Al añadir 10 g de agar por litro se alcanzó una mayor longitud de los brotes obtenidos a partir de segmentos nodales de arándano (Var. Emerald) sin embargo no influyó en el establecimiento *in vitro*.
3. La adición de sacarosa al medio de cultivo WPM no influyó en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales de arándano (Var. Emerald), aunque las concentraciones de 25 y 30 g/L-1 incrementaron el número de hojas y el número de yemas por planta.
4. Al utilizar los agentes de desinfección Tween 20, Povidyn e hipoclorito de sodio no se observaron influencias significativas sobre el porcentaje de contaminación ni el número de brotes por explante.
5. Las condiciones de iluminación ensayadas no influyeron en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales de arándano (Var. Emerald).
6. El tipo de auxina y sus concentraciones no influyeron en el establecimiento *in vitro* de los segmentos nodales de arándano (Var. Emerald) aunque en algunas combinaciones se incrementó la longitud del brote de las plantas establecidas.
7. La presencia de citoquininas y sus concentraciones no determinó el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano, aunque en algunas combinaciones se incrementó la longitud del brote y el número de brotes por explante de las plantas establecidas.

3.2. RECOMENDACIONES

1. Utilizar el medio de cultivo WPM para proseguir con los factores de estudios en la fase de multiplicación de plantas establecidas *in vitro* de arándano (Var. Emerald).
2. Determinar si las concentraciones de 25 y 30 g/L-1 influyen en el contenido de pigmentos clorofílicos de plantas establecidas *in vitro* de arándano (Var. Emerald).
3. Determinar el efecto del medio de cultivo WPM líquido en condiciones de agitación y estáticas sobre la fase de establecimiento *in vitro* y calidad de las plantas establecidas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcantara-Cortes, J. S., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J. D. y Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *SciELO. Nova*, 17(32), 109-129. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
- Aquije Valiente, J. (2020). Establecimiento *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) –variedad Biloxi. [Tesis de titulación, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano]. Carrera de Ingeniería Agronómica. Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6832/1/CPA-2020-T010.pdf>
- Arencibia, A. C. Vergara, K. Quiroz, B. Carrasco, C. Bravo y R. Garcia-Gonzales. (2013). "Un enfoque para la micropropagación de plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) mediada por biorreactores de inmersión temporal (TIB)" *Diario Americano de Ciencias de las Plantas*, 4(5), 1022-1028. Doi: 10.4236/ajps.2013.45126 . Disponible en: https://www.scirp.org/html/9-2600765_32135.htm
- Arista Bustamante, J., Leiva Espinosa, S., Guerrero Abad, J., y Collazos Silva, R. (2019). Efecto de las citoquininas en la multiplicación *in vitro* de cuatro variedades de (*Vaccinium corymbosum*), a partir de segmentos nodales. Ingeniería y Ciencias Agrarias. Perú. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*. 2(2), 55-62.-doi:<http://dx.doi.org/10.25127/ucni.v2i2.520>. <http://181.176.222.66/bitstream/handle/UNTRM/1848/Arista%20Bustamante%20Jessy%20Patricia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bone Bone, E. (2022) Organogénesis *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) variedad Emerald. [Tesis de titulación. Universidad De Guayaquil, Facultad de Ciencias Agrarias. Ecuador]. Carrera de Ingeniería Agronómica. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7298/1/UTC-PIM-000309.pdf>
- Brenes Angulo, Arturo, Castillo Matamoros, Rolbin y Gómez-Alpízar, Luis. (2015). Micropropagación de Cuatro Cultivares de Arándano (*Vaccinium*

spp.) a Partir de Segmentos Foliare de Dos Procedencias. *Agronomía Costarricense*, 39 (1), 7-23.
http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0377-94242015000100001&lng=en&tlng=es.

Caballero Carvajal, J. (2015). Crecimiento y desarrollo vegetativo de dos cultivares de Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) Biloxi y Sharpblue en la Sabana de Bogotá. [Tesis de titulación, Universidad Militar Nueva Granada]. Facultad de Ciencias Básicas y Aplicada Tecnología en Horticultura Cajicá. Bogotá – Colombia. Pág. 1-31.
<https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/6443/TRABAJO%20DE%20GRADO%20ENTREGADO...pdf?sequence=2&isAllowed=y>

Cañal, M. J., Rodríguez, R., Fernández, B., Sánchez, R., Majada, J. (2001). Fisiología del cultivo *in vitro*. *Biotecnología Vegetal*, 1(1) 3-9. Instituto de biotecnología de las Plantas. España. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/59/47>

Casas, V. (2017). Establecimiento preliminar de las condiciones agroclimáticas, zonas de adaptación y cultivares potenciales para el desarrollo del cultivo del Arándano (*Vaccinium corymbosum*) en Colombia. [Tesis de titulación, Universidad de Cundinamarca (UDEEC)]. Ingeniería Agrónoma. Colombia. Pág. 1-67. <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/handle/20.500.12558/546>

Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. Unidad de biotecnología INIA Las Brujas, Uruguay: AR-VITRO, INIA, 1(1) 1-8.
<http://www.ainfo.inia.uy/consulta/busca?b=pc&id=3000&biblioteca=vazio&busca=autoria:%22Castillo,%20A.%22&qFacets=autoria:%22Castillo,%20A.%22&sort=&paginacao=t&paginaAtual=1>

Castrillón, Juan Carlos, Carvajal, Edwin, Ligarreto, Gustavo, y Magnitskiy, Stanislav. (2008). El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. *Agronomía Colombiana*, 26 (1), 16-22.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652008000100003&lng=en&tlng=es.

- Castro, Fernández A. (2016). Mejora de la propagación *in vitro* de *Vaccinium corymbosum* y evaluación de la actividad antioxidante en arándanos comerciales. [Master en biología, Universidad Da Coruña]. Departamento de Biología Animal, Biología Vegetal e Ecología. La Coruña – España. 1(1) 1-40. https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/17519/CastroFernandez_Ana_Maria_TFM_2016.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Castro-Restrepo, Dagoberto, y Álvarez-Guzmán, Jairo A. (2013). Micropropagación clonal de tres genotipos mortiño, *Vaccinium meridionale* SW., por proliferación de yemas axilares. *Actualidades Biológicas*, 35 (99), 145-160. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-35842013000200002&lng=en&tlng=es.
- Castro-Garibay, S. L., Villegas-Monter, A., y Contreras-Maya, R. (2019). Enraizamiento de estacas en tres cultivares de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). *Agro Productividad*. México. 12(3) 1-6. <https://doi.org/10.32854/agrop.v0i0.1328>. <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1328/1115>
- Cayo-Toaquiza, N. y Peralta-Puedmag, E. (2021). Propagación *in vitro* del cultivo de Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en el cantón Cevallos provincia Tungurahua. [Tesis de titulación. Universidad Técnica de Cotopaxi (UTC)]. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ecuador. <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/7298/1/UTC-PIM-000309.pdf>
- Chicaiza-Nacimba, A., Bravo, M., A. y Sierra-Augustinus, A. (2021). Organogénesis directa en arándano (*Vaccinium corymbosum* L.): Revisión de literatura. [Tesis de titulación. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano]. Carrera de Ingeniería Agronómica. Honduras. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/7049/1/CPA-2021-T030.pdf>

- Debnath-Samir C. (2007). Propagation of *Vaccinium in Vitro*, International Journal of Fruit Science, 6:2, 47-71.. DOI: http://dx.doi.org/10.1300/J492v06n02_04
- Fiedler Montero, I. (2015). “Caracterización físico-química y sistema de producción del arándano (*Vaccinium myrtillus* L.) en Jalisco”. [Tesis de licenciatura. Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Guadalajara –México]. 1-55. http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5901/Fiedler_Montero_Ilse.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Forbes, P., Mangas Ramis, E. y Pagano, N. (2009). Producción de Arándanos. Universidad Nacional de la Pampa. Facultad de Agronomía. Diseño y Evaluación de Proyectos Agroindustriales. Argentina. 1-67. <http://www.agro.unlpam.edu.ar/licenciatura/disenio/producciondearandanos.pdf>
- Garay-Arroyo, A., Sánchez María de la Paz, García-Ponce, B., Álvarez-Buylla, E. y Gutiérrez, C. (2014). La Homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. REB. Revista de Educación Bioquímica, 33(1), 13-22. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952014000100003
- García-Rubio, J., García-Gonzales, de Lema y Ciordia-Ara, M. (2008). El injerto en arándano. Operaciones y tiempos de ejecución para el cambio de variedad. Revista Seriedad – *Actualidad*.. 1-5. <http://www.serida.org/pdfs/6701.pdf>
- García-Rubio, J., García-Gonzales, G. y Cordia-Ara, M. (2018). El cultivo de arándano en el norte de España. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Consejo de Desarrollo Rural y Recursos Naturales del Gobierno del Principado de Asturias. Madrid – España. 1-194. <http://www.serida.org/pdfs/7452.pdf>
- Gordó, M. (2008). Guía práctica para el cultivo de Arándanos en la zona norte de la provincia de Buenos Aires. EEA San Pedro INTA. Argentina. 1-15.

<http://age.rus.uy/Gu%C3%ADa%20pr%C3%A1ctica%20para%20el%20cultivo%20de%20Ar%C3%A1ndanos.pdf>

- Gutiérrez-Castillo, M., A. y Linares-Armas, A. (2019). Efecto del 6-bencilaminopurina y del ácido indolbutírico en la micropropagación de *Vaccinium corymbosum* en medio Murashige y Skoog, 1962. [Tesis de titulación. Universidad Nacional de Trujillo. F. de Ciencias Biológicas. Trujillo – Perú]. <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/15242>
- Gutiérrez Castillo, M., Linares Armas, A., López Medina, E., Mostacero León, J., Gil Rivero, A., López Zavaleta, A. y De La Cruz Castillo, A. (2020). Micropropagación de *Vaccinium corymbosum* en medio Murashige y Skoog (1962), suplementado con 6-bencilaminopurina. *Revista Peruana de Innovación Agraria*, 1(1), 106 - 116. <http://200.123.25.14/index.php/REVINIA/article/view/8>
- Hine, A. y Abdelnour A. (2013). Establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). *Revista Tecnología en Marcha*. 26(4), 64–71. <https://doi.org/10.18845/tm.v26i4.1584>.
- Indacochea, B., Parrales, J., Hernández, A., Castro, C., Vera, M., Zhindón, A., y Gabriel, J. (2018). Evaluación de medios de cultivo in vitro para especies forestales nativas en peligro de extinción en Ecuador. *Agronomía Costarricense*, 42(1): 63-28. <https://doi.org/10.15517/RAC.V42I1.32203>
- Jiménez-Bonilla, V. y Abdelnour-Esquivel, A. (2017). Protocolo de micropropagación de arándano nativo de Costa Rica (*Vaccinium consanguineum*). *Tecnología en Marcha*. 31(1):144-159. DOI: 10.18845/tm.v31i1.3504. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v31n1/0379-3982-tem-31-01-144.pdf>
- Jiménez-Bonilla, Vilma. y Abdelnour-Esquivel, A. (2016). Establecimiento in vitro de (*Vaccinium consanguineum*), un arándano nativo de Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha*, 29 (2), 77-84. <https://dx.doi.org/10.18845/tm.v29i2.2692>.

https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0379-39822016000200077&script=sci_arttext

- Lerma Bocanegra, S. L., García, D., Niño Fandiño, W. y Díaz Escobar, W. (2019). Propagación in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) a partir de yemas axilares. *Revista Siembra CBA*, (2), 9–19. <http://revistas.sena.edu.co/index.php/Revsiembracba/article/view/3547>
- López Medina, E., López Zavaleta, A. y De la Cruz Castillo, A. (2017). Efecto del ácido giberélico en la propagación in vitro de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni, "estevia". *Arnaldoa*, 24(2), 599-608. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992017000200011.
- Martin-Gordo, D., Cárdenas-Gonzales, O., y Constantino-Pacheco, J., (2012). Sustancias utilizadas como agente gelificante alternativas al agar en medios de cultivo para propagación in vitro. *Revista de investigación Agraria y Ambiental*. 3(2): 49-62, ISSN 2145-6097. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja. <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5344954.pdf>
- Martínez-Días, L. (2019). Factibilidad para la implementación de un cultivo de arándano (*Vaccinium Corymbosum* L.) en la vereda Llano Verde del municipio de Úmbita, Boyacá. [Tesis de titulación. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia]. Empresas Agropecuarias. Sección DUITAMA. Colombia. 1-131. https://repositorio.uptc.edu.co/bitstream/001/3003/1/TGT_1536.pdf
- Martínez-Villegas, Ylvi M., Andrade-Rodríguez, M., Colinas-León, M. T., Villegas-Torres, Óscar G., Castillo-Gutiérrez, A. y Alia-Tejacal, I. (2015). Efecto de las sales inorgánicas del medio de cultivo en el crecimiento de pascuíta (*Euphorbia leucocephala* Lotsy). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(4), 369-374. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61043041004>

- Mora-Victoriano, H. (2010). Organogénesis *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. [Tesis de titulación. Instituto Politécnico Nacional - Centro Interdisciplinario De Investigación Para El Desarrollo Integral Regional Ciidir-Michoacán. México]. 1-60.
<https://repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/8007/1/Hugo%20Victoriano%20Mora%20-Mar2010.pdf>
- Ormazábal Yony, M., Mena Carlos, A., Cantillana Juan, C. y Lobos Germán, G. (2020). Caracterización de predios productores de arándanos (*Vaccinium corymbosum*), según nivel tecnológico. El caso de la región del Maule-Chile. *Información Tecnológica*, 31(1), 41-52.
https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-07642020000100041&script=sci_arttext&tlng=p
- Perea, M. (2009). Cultivo de tejidos vegetales *in vitro*. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Colombia. 1-160.
http://ciencias.bogota.unal.edu.co/fileadmin/Facultad_de_Ciencias/Publicaciones/Imagenes/Portadas_Libros/Biologia/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro/Cultivo_de_Tejidos_Vegetales_In_Vitro.pdf?fbclid=IwAR2xLhdtU-7yKztpAvuWQjdZYh-ltzcYT6PnzpAErkw__ZozfqclxwYy-Y
- Rache Cardenal, L. y Pacheco Maldonado, J. (2010). Propagación *in vitro* de plantas adultas de *Vaccinium meridionale* (Ericaceae). *Acta Botánica Brasileira*, 24 (4): 1086-1095. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000400024>.
<https://www.scielo.br/j/abb/a/BhzRF7GgQCsjmftrxBQWB3L/?format=pdf&lang=es>
- Ribón Barragán, A. y Bernal Pérez, I. (2020). Protocolo de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano azul (*Vaccinium corymbosum* L.) cv Biloxi. [Tesis de titulación. Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Facultad de Ciencias y Educación. Bogotá D. C. Pp. 102]. Colombia. 1-102.
<https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/25242/Rib%C3%B3nBarraganAnngyYurani%C3%A9rezIngrYJohanna2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Rodríguez Beraud, M. y Morales Ulloa, D. (2015). Efecto de la densidad de explantes y volumen del medio de cultivo en la multiplicación *in vitro* de arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) variedades "Brigitta" y "Legacy". *Scientia Agropecuaria*, 6 (1), 31-40. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172015000100003&script=sci_arttext&tlng=en
- Ružić, D., Vujović, T., Libiakova, G., Cerovic, R. Ostrolucka, MG. y Gajdosova, A. (2012). Micropropagación *in vitro* de Highbush Blueberry (*Vaccinium Corymbosum* L.)'. *Acta Hortica*. 926(36): 97 – 103. DOI: 10.17660/ActaHortic.2012.926.36. <https://content.iospress.com/download/journal-of-berry-research/jbr030?id=journal-of-berry-research%2Fjbr030>
- Sharry, S., Adema, M. y Abedini, W. (2015). Plantas de probeta – Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro*. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de la Plata. Edulp. ISBN 978-950-34-1254-1. Buenos Aires-Argentina. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento_completo___pdf-PDFA.pdf?sequence=1
- Shufang Fan, Dawei Jian, Xiangying Wei, Jianjun Chen, Richard C. Beeson, Zhixiang Zhou, Xueming Wang. (2017). Micropropagation of blueberry 'Bluejay' and 'Pink Lemonade. Through *in vitro* shoot culture, *Scientia Horticulturae*, 226: 277-284, <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.052>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423817305307>
- Tecanhuey-Fernández, L., R. (2012). Cultivo *in vitro* de arándano variedad Biloxi (*Vaccinium corymbosum*): establecimiento aséptico, balance de fitohormonas y nitrógeno. [Tesis de titulación. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Agrobiología. México – Michoacán]. 1-123. http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_U_MICH/2045/FAPJ-M-2012-0007.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Tetsumura T., Matsumoto Y., Sato M., Honsho Ch., Yamashita K., Komatsu H., Sugimoto Y., Kunitake H. (2008). Evaluation of basal media for

micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*.
119(1): 72-74. ISSN 0304-4238.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S030442380800246X>

Trauco Vilcarromero, M. (2017). Efecto de cuatro concentraciones de Citoquininas en la multiplicación “*in vitro*” de Arándano (*Vaccinium corymbosum* L). cv. Biloxy, Trujillo–La Libertad. [Tesis de titulación. Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Ciencias Agropecuarias]. 1-72.
<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9944/Trauco%20Vilcarromero%20Mariela.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Uribe Matilde E, Ulloa J., Delaveau C., Sáez K., Muñoz F., yCartes P. (2012). Influencia de las auxinas sobre el enraizamiento *in vitro* de microtallos de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. *Gayana. Botanica*, 69(1), 105-112.
https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-66432012000100010#:~:text=Se%20concluye%20que%20la%20presencia,especie%20en%20condiciones%20ex%20vitro.

Wampash-Najamtai, G., Nieves Nieves, G. y Barriga Castillo, F. (2011). “Implementación, Adecuación y Valoración De Climatizado, para el área de incubación del laboratorio de micropropagación del campus Juan Lunardi cantón Paute, provincia de Azuay”. [Tesis de titulación. Universidad Politécnica Salesiana. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Cuenca – Ecuador]. 1-80.
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/1097/12/UPS-CT002122.pdf>

Zhao, X., Zhan, L. y Zou, X. (2011). In vitro high-frequency regeneration of halfhighbush ‘Northland’ blueberry. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*. 39(1). 51-59. DOI: 10.1080/01140671.2010.524188.
<https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/01140671.2010.524188?needAccess=true>

ANEXOS

Tabla 30. Efecto del tipo de medio de cultivo en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 7 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Medio MS	0	39,00	0	39,00	1	39,00	0	39,00	0	39,00	1	39,00
Medio WPM	0	39,00	0	39,00	1	39,00	0	39,00	0	39,00	1	39,00

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Tabla 31. Efecto del tipo de medio de cultivo en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 14 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Medio MS	0	39,00	0	39,00	1	39,00	0,33	35,00	0,33	35,00	1	39,00
Medio WPM	0	39,00	0	39,00	1	39,00	1,17	43,00	1,17	43,00	1	39,00

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.

Tabla 32. Efecto del tipo de medio de cultivo en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L. Var. Emerald a los 21 días.

Tratamientos	Porcentaje de contaminación		Porcentaje de establecimiento		Longitud del brote (cm)		Número de hojas por planta		Número de yemas por planta		Número de brotes por explante	
	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio	\bar{X}	Rango promedio
Medio MS	0	6,50	0	6,50	1,33	6,17	4	5,42	4	5,42	1	6,50
Medio WPM	0	6,50	0	6,50	1,33	6,83	5,17	7,58	5,17	7,58	1	6,50

Elaborado por: José Guamán

Rangos promedios que en una misma columna tengan letras no comunes, difieren según la prueba de U de Mann Whitney para $p < 0,05$ con $n=6$.