

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA**

“Obtención de un banco de plantas donantes de arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) para el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales en medio de cultivo semisólido”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO  
REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERA AGRÓNOMA

**AUTORA**

ANDREA ALEJANDRA TOAPANTA NUELA

**TUTOR**

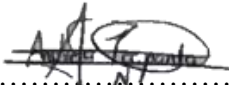
Ing. Michel Leiva Mora Dr.

**AMBATO - ECUADOR**

**2020-2021**

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

La suscrita, TOAPANTA NUELA ANDREA ALEJANDRA, portadora de cedula de identidad número: 1805298054, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “Obtención de un banco de plantas donantes de arándanos (*Vaccinium corymbosum L*) para el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales en medio de cultivo semisólido” es original, autentico 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.



.....

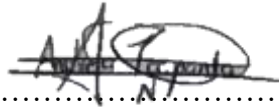
Andrea Alejandra Toapanta Nuela

## DERECHOS DE AUTOR

“Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “OBTENCIÓN DE UN BANCO DE PLANTAS DONANTES DE ARÁNDANOS (*Vaccinium corymbosum* L.) PARA EL ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE SEGMENTOS NODALES EN MEDIO DE CULTIVO SEMISÓLIDO” , como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Ingeniera Agrónoma , 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”.



Andrea Alejandra Toapanta Nuela

**“OBTENCIÓN DE UN BANCO DE PLANTAS DONANTES DE ARÁNDANOS  
(*Vaccinium corymbosum* L.) PARA EL ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE  
SEGMENTOS NODALES EN MEDIO DE CULTIVO SEMISÓLIDO”.**

**REVISADO POR:**



Firmado electrónicamente por:  
**MICHEL LEIVA MORA**

.....  
**Ing. Michel Leiva Mora Dr.**

**TUTOR**

**APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN**

**FECHA**



Firmado electrónicamente por:  
**MANOLO SEBASTIAN  
MUNOZ ESPINOZA**

.....  
**Ing. Mg. Manolo Muñoz, PhD.**

**PRESIDENTE TRIBUNAL**

.....  
**13/09/2021**  
.....

.....  
**Ing. Mg. Marco Pérez, PhD.**

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**



Firmado electrónicamente por:  
**SEGUNDO  
EUCLIDES CURAY  
QUISPE**

.....  
**Ing. Mg. Segundo Curay, PhD.**

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

.....  
**13/09/2021**  
.....

## DEDICATORIA

Primeramente, a Dios por otorgarme la vida y la sabiduría, a mis padres Magali y Juan por ser mi pilar fundamental en cada uno de mis sueños, por siempre estar a mi lado a pesar de cada una de las dificultades que se me ha presentado hasta este momento de mi vida, a ustedes padres este logro les dedico por la paciencia, el amor y por ser exigentes en cada uno de los pasos que he dado y me han permitido ser la mujer que soy hoy fuerte y decidida, ante todo. A ti mamita que con tus consejos y tu amor me alentaste a seguir luchando y a nunca darme por vencida y como no dedicarle este gran trabajo a mi papito que con cada una de sus palabras me impulsaron a culminar este gran objetivo. Como no dedicarle este gran logro a mi Tía Peluquita que, con su apoyo, amor y sus consejos siempre estuvo a mi lado aun cuando los días eran grises.

A mis abuelitos que a pesar que ya no estén a mi lado siempre me brindaron su apoyo, consejos, valores y por siempre ser mi motivación constante la misma que me ha permitido ser una persona de bien.

A mis hermanos y primas que con sus travesuras y ocurrencias alegraban mis días malos y siempre estaban a mi lado brindándome su cariño y apoyo incondicional a pesar de todo. A ti mi compañero de vida Thomas te dedico este gran logro por siempre estar a mi lado.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios y la Virgencita por darme la dicha de tener a mi hermosa familia y por bendecirme al 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 he ir formando mi vida tanto en el ámbito profesional como personal, por cada una de las enseñanzas y anécdotas que me han permitido cumplir con este sueño tan importante que es convertirme en Ingeniera Agrónoma.

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

A todos los docentes que me brindaron nuevos conocimientos que con seguridad serán cimientos firmes para mi futuro profesional. A todos mis compañeros con quienes compartimos buenos y malos momentos durante cada uno de los semestres de estudio.

¡A todos muchas gracias!

**ANDREA ALEJANDRA TOAPANTA NUELA**

## ÍNDICE

|   |           |
|---|-----------|
| <b>CAPÍTULO I.....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>MARCO TEÓRICO .....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>1.1. Introducción.....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>1.2. Antecedentes Investigativos.....</b>                            | <b>3</b>  |
| <b>1.3 Categorías Fundamentales o Marco Conceptual.....</b>             | <b>6</b>  |
| <b>1.3.1 Métodos de propagación .....</b>                               | <b>6</b>  |
| <b>1.3.2 Etapas Del Cultivo <i>in vitro</i> .....</b>                   | <b>11</b> |
| <b>1.3.3 Cultivo De Arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.) .....</b> | <b>15</b> |
| <b>1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>                                  | <b>21</b> |
| <b>1.4.1 Hipótesis.....</b>   | <b>21</b> |
| <b>1.4.2 Objetivos .....</b>  | <b>22</b> |
| <b>CAPÍTULO II .....</b>  | <b>23</b> |
| <b>METODOLOGÍA .....</b>  | <b>23</b> |
| <b>2.1. Ubicación del experimento.....</b>                              | <b>23</b> |
| <b>2.2. Características del lugar .....</b>                             | <b>23</b> |
| <b>2.3. Equipos y materiales .....</b>                                  | <b>23</b> |
| <b>2.3.1. Material experimental .....</b>                               | <b>23</b> |
| <b>2.3.2. Equipos .....</b>   | <b>24</b> |
| <b>2.3.3. Materiales .....</b>  | <b>25</b> |
| <b>2.4. Factores en estudio .....</b>                                   | <b>27</b> |

|  |    |
|--|----|
| 2.5. Tratamientos.....   | 28 |
| 2.6 Diseño experimental .....  | 32 |
| 2.7 Manejo del experimento.....  | 32 |
| 2.7.1. Objetivo N°1 : Establecer un banco de plantas donantes de arándanos var. Biloxi en condiciones semicontroladas <i>ex vitro</i> .....  | 32 |
| 2.7.1.1 Factor composición de sustrato y el tipo y concentración de auxinas en el establecimiento <i>ex vitro</i> de segmentos nodales de arándano (var. Biloxi) en condiciones semicontroladas..... | 32 |
| 2.7.1.2 Influencia de la longitud del esqueje en el enraizamiento de arándano.....   | 33 |
| 2.7.1.3 Influencia del grosor del esqueje en el enraizamiento de arándano. ....  | 34 |
| 2.7.2 Objetivo N° 2 : Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido MS .....  | 34 |
| 2.7.2.1 Influencia de las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio en el establecimiento <i>in vitro</i> .....   | 34 |
| 2.7.2.2 Influencia de la composición del medio ms en el establecimiento <i>in vitro</i> .....  | 35 |
| 2.7.2.3 Factor influencia del tipo de auxina y la concentración para en el establecimiento <i>in vitro</i> de arándano.....  | 35 |
| 2.7.3 Objetivo N° 3: Obtener un banco de plantas juveniles de arándano variedad Biloxi establecidas bajo condiciones <i>in vitro</i> .....   | 36 |
| 2.7.3.1 Influencia de las condiciones de iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de plantas de arándanos.....  | 36 |
| 2.7.3.2 Influencia del tipo de frasco de cultivo en el establecimiento <i>in vitro</i> de plantas de arándanos.....  | 37 |



|   |           |
|---|-----------|
| 2.7.3.3 Influencia de la concentración de Phytigel en el medio semisólido para el establecimiento <i>in vitro</i> de plantas de arándanos.....  | 37        |
| 2.8 Variables Respuesta .....   | 38        |
| 2.8.1 Objetivo N°1 : Establecer un banco de plantas donantes de arándanos var. Biloxi en condiciones semicontroladas <i>ex vitro</i> .....  | 38        |
| 2.8.1.1. Porcentaje de establecimiento.....   | 38        |
| 2.8.2 Objetivo N° 2 : Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido MS. ....   | 39        |
| 2.8.2.1 Porcentaje de contaminación .....   | 39        |
| 2.8.2.2 Vigor.....  | 39        |
| 2.8.3. Objetivo N° 3: Obtener un banco de plantas juveniles de arándano var. Biloxi establecidas bajo condiciones <i>in vitro</i> .....   | 39        |
| 2.8.3.1 Porcentaje de contaminación .....   | 39        |
| 2.8.3.2 Vigor.....  | 40        |
| 2.9 Procesamiento de la información.....  | 40        |
| <b>CAPÍTULO III.....</b>  | <b>41</b> |
| <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>   | <b>41</b> |
| 3.1. Objetivo N°1 : Establecer un banco de plantas donantes de arándanos var. Biloxi en condiciones semicontroladas <i>ex vitro</i> .....   | 41        |
| 3.1.1. Factor composición de sustrato y el tipo y concentración de auxinas en el establecimiento <i>ex vitro</i> de segmentos nodales de arándano (var. biloxi) en condiciones semicontroladas..... | 41        |
| 3.1.2. Influencia de la longitud del esqueje en el enraizamiento de arándano ..   | 43        |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.1.3. Influencia del grosor del esqueje en el enraizamiento de arándano. ....  | 44        |
| 3.2. Objetivo N° 2 : Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido. ....                   | 45        |
| 3.2.1. Influencia de diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio .....   | 45        |
| 3.2.2. Influencia de la composición del medio ms en el establecimiento <i>in vitro</i> . ....   | 48        |
| 3.2.3. Influencia del tipo de auxina y la concentración en el establecimiento <i>in vitro</i> de arándano. ....                               | 50        |
| 3.3. Objetivo N° 3: Obtener un banco de plantas juveniles de arándano var. Biloxi establecidas bajo condiciones <i>in vitro</i> . ....        | 56        |
| 5.3.1. Influencia de condiciones de iluminación en el establecimiento <i>In vitro</i> de plantas de arándanos. ....                           | 56        |
| 3.3.2. Influencia del tipo de frasco de cultivo en el establecimiento <i>in vitro</i> de plantas de arándanos. ....                           | 58        |
| 3.3.3. Influencia de la concentración de Phytigel en el medio semisólido para el establecimiento <i>in vitro</i> de plantas de arándanos..... | 60        |
| <b>CAPÍTULO IV</b> .....  | <b>63</b> |
| <b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....   | <b>63</b> |
| 4.1 CONCLUSIONES .....  | 63        |
| 4.2. RECOMENDACIONES .....  | 64        |
| <b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....   | <b>64</b> |
| <b>ANEXOS</b> .....   | <b>71</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Plantas de arándanos obtenidas de las diferentes concentraciones de auxinas. auxina AIA (A), auxina AIB(B) y auxina ANA (A).....  | 41 |
| <b>Figura 2.</b> Siembra de segmentos nodales de arándano var. Biloxi de diferentes longitudes. 1 cm (A), 1,5 cm (B) y 3 cm (C).....   | 43 |
| <b>Figura 3.</b> Segmentos nodales de arándano var. Biloxi de diferentes grosores. 1 mm (A), 2 mm (B) y 3 mm (C).....  | 44 |
| <b>Figura 4.</b> Establecimiento de segmentos nodales mediante la utilización de diferentes concentraciones de NaClO. A (2%), B (2,5%) y C (3%).....   | 46 |
| <b>Figura 5.</b> Establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano a diferentes composiciones de sales Ms. A (25%), B (50%), C (75%) y D (100%) de su composición estándar. ....  | 48 |
| <b>Figura 6.</b> Enraizamiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano en diferentes concentración y tipo de auxinas. Auxina AIA (A), Auxina AIB (B), Auxina ANA (C) y Control (D)..... | 51 |
| <b>Figura 7.</b> Establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales bajo diferentes condiciones de iluminación. Iluminación solar (A), Iluminación fluorescente (B) y Oscuridad (C).....       | 56 |
| <b>Figura 8.</b> Establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales en diferentes tipos de frasco. Frasco de vidrio (A) y Frasco de plástico hermético (B).....                                | 58 |
| <b>Figura 9.</b> Establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándano en diferentes concentraciones de Phytigel. 0,25 % (A), 0,50 % (B), 0,75% (C), 1,00% (D) y 1,25% (E).....       | 60 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|   |    |
|---|----|
| <b>TABLA N° 1.</b> Taxonomía del arándano.....  | 16 |
| <b>TABLA N° 2.</b> Ciclo del cultivo de arándano .....  | 19 |
| <b>TABLA N°3.</b> Concentraciones de auxinas para el enraizamiento de arándano.....   | 29 |
| <b>TABLA N°4.</b> Concentraciones de Auxinas ensayo <i>in vitro</i> .....   | 31 |
| <b>TABLA N° 5.</b> Concentraciones del sustrato .....   | 33 |
| <b>TABLA N° 7.</b> Preparación de medio de cultivo.....   | 35 |
| <b>TABLA N° 6.</b> Preparación de auxinas a diversas concentraciones.....   | 36 |
| <b>TABLA N°8.</b> Influencia de la composición de sustratos y la concentración de auxinas en el establecimiento <i>ex vitro</i> de segmentos nodales de arándanos.....  | 42 |
| <b>TABLA N°9.</b> Efecto de la longitud de segmentos nodales en el enraizamiento y brotación <i>ex vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) en condiciones semicontroladas.....  | 44 |
| <b>TABLA N°10.</b> Efecto del grosor de los segmentos nodales en el enraizamiento y brotación <i>ex vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) en condiciones semicontroladas.....   | 45 |
| <b>TABLA N°11.</b> Efecto de la concentración del agente de desinfección NaClO en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo ..... | 46 |
| <b>TABLA N°12.</b> Efecto de la concentración del agente de desinfección NaClO en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 30 días de la instalación del ensayo .....      | 47 |

|   |    |
|---|----|
| <b>TABLA N°13.</b> Efecto de la composición de sales MS en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15y 24 días de la instalación del ensayo.....              | 49 |
| <b>TABLA N°14.</b> Efecto de la composición de sales MS en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 30 y 42 días de la instalación del ensayo.....             | 49 |
| <b>TABLA N° 15.</b> Evaluación de la incidencia de contaminantes y del vigor de los segmentos nodales establecidos en el medio de cultivo MS a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo.....                                       | 52 |
| <b>TABLA N° 16.</b> Evaluación de la incidencia de contaminantes y del vigor de los segmentos nodales establecidos en el medio de cultivo MS a los 30 y 42 días de la instalación del ensayo.....                                       | 54 |
| <b>TABLA N°17.</b> Efecto de diferentes condiciones de iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo. .... | 57 |
| <b>TABLA N°18.</b> Efecto de diferentes condiciones de iluminación en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 30 y 45 días de la instalación del ensayo. .... | 57 |
| <b>TABLA N°19.</b> Influencia del tipo de frasco en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo. ....                   | 59 |
| <b>TABLA N°20.</b> Influencia del tipo de frasco en el establecimiento <i>in vitro</i> de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo. ....                   | 59 |

**TABLA N°21.** Influencia de la concentración de Phytigel en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo.....61

**TABLA N°22.** Influencia de la concentración de Phytigel en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo.....61

## RESUMEN

La presente investigación se desarrolló con la finalidad de determinar cómo ciertos factores influyen tanto en el enraizamiento *ex vitro* como en el establecimiento *in vitro* entre los cuales tenemos la composición del sustrato, el tipo y la concentración de auxinas, el agente de desinfección, la composición de sales MS, la iluminación entre otros. Se empleó un diseño completamente al azar. En cuanto al ensayo de composición del sustrato y concentración y tipo de auxina se logró determinar que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos en cuanto a la variable porcentaje de establecimiento además se logró determinar que los segmentos nodales que tenían 3 mm de grosor y una longitud de entre 1 cm y 3 cm son los que tuvieron un porcentaje mayor de enraizamiento por otro lado, se obtuvieron buenos resultados en cuanto a los ensayos *in vitro* entre ellos tenemos la concentración del agente de desinfección (NaClO) consiguiendo así un menor porcentaje de contaminación mediante la utilización del agente de desinfección (NaClO) en una concentración al 3%. En cuanto al factor influencia del tipo y la concentración de auxinas para el establecimiento *in vitro* de arándanos se observó diferencias estadísticas entre los tratamientos analizados en cada una de las variables respuestas. Finalmente, los factores de composición del medio MS, condiciones de iluminación, el tipo de frasco de cultivo y la concentración de Phytigel no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados tanto en la variable porcentaje de contaminación como el vigor de los segmentos nodales.

**Palabras claves:** *Ex vitro*, Erycaceae, Micropropagación, Plantas donantes, Rejuvenecimiento.

## SUMMARY

The present research was developed with the purpose of determining how certain factors influence both *ex vitro* rooting and *in vitro* establishment, among which we have the composition of the substrate, the type and concentration of auxins, the disinfection agent, the composition of MS salts, and illumination, among others. A completely randomized design was used. With regard to the substrate composition and auxin concentration and type, it was determined that there were no statistical differences between the treatments in terms of the percentage of establishment variable, and it was also determined that the nodal segments that were 3 mm thick and between 1 cm and 3 cm long were those that had a higher percentage of rooting, good results were obtained in the *in vitro* tests, among them we have the concentration of the disinfecting agent (NaClO), thus achieving a lower percentage of contamination by using the disinfecting agent (NaClO) at a concentration of 3%. As for the influence of the type and concentration of auxins on the *in vitro* establishment of blueberries, statistical differences were observed among the treatments analyzed for each of the response variables. Finally, the factors of MS medium composition, illumination conditions, type of culture flask and Phytigel concentration did not show significant differences among the treatments evaluated for the variable percentage of contamination and vigor of the nodal segments.

**Key words:** *Ex vitro*, Erycaceae, Micropropagation, Donor plants, Rejuvenation.



# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1. Introducción

El arándano conocido como un arbusto perenne perteneciente a la familia de la Ericáceas y al género *Vaccinium*. Alrededor del 35% de las especies de este cultivo son originarias de América, siendo 25% de Norte América y 10% de Centro y Sur América, por lo tanto, Estados Unidos es conocido como el principal productor y exportador a nivel mundial. Este tipo de cultivo se caracteriza por tener una gran demanda a nivel mundial debido a los altos niveles de antioxidantes y minerales que poseen, lo cual genera un alto valor nutricional y medicinal, siendo así una de las especies de mayor interés económico. En el Ecuador este cultivo ha generado una gran acogida al ser novedoso pero su implementación implica una gran inversión, por lo que es necesario el desarrollo de técnicas propagativas que permitan producir masivamente plantas y reducir los costos **(Brenes et al., 2014)**.

La instalación del cultivo de arándano ha generado un notable crecimiento en los últimos tiempos gracias a los diversos beneficios y propiedades que brinda a la salud, siendo así una fuente rica en nutrientes y minerales tales como antioxidantes (betacaroteno, antocianinas, vitamina C, ácido fólico) y agentes antifúngicos tales como ácido benzoico y antocianósidos. Estudios realizados han dado a conocer que la ingesta de este fruto disminuye notablemente el riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y por su inmenso potencial anticancerígeno **(Jiménez y Agramonte 2013)**.

La conservación de la diversidad genética entre las especies es la base fundamental de todo el mejoramiento genético vegetal, en virtud de lo cual las especies silvestres son consideradas como fuentes de genes de resistencia a enfermedades y plagas, logrando así mejorar la calidad nutricional y la adaptabilidad de los cultivos a ciertos factores tales como: extremas temperaturas, salinidad de los suelos, sequías entre otras, las cuales pueden perturbar de manera directa a la obtención de productos de calidad. **(Castro 2016).**

A consecuencia del aumento en las superficies cultivadas de arándano ha surgido la necesidad de incrementar la obtención de plantas de buena calidad mediante el uso de ciertas herramientas biotecnológicas, con el fin de producir, mejorar y adaptar el cultivo a diversas condiciones edafológicas y climáticas, generando así fuentes de ingreso confiables a los agricultores al implementar dicho cultivo **(Rache y Pacheco 2010).**

Una de las técnicas biotecnológicas más utilizadas es la micropropagación masiva, fundamentada en la toma de ciertos explantes y colocación en condiciones *in vitro* para multiplicar y regenerar nuevas plantas con características similares a las plantas madres **(Jiménez y Abdelnour 2017).**

Se ha demostrado que el cultivo de arándano puede ser propagado de manera *in vitro* estandarizando algunos procesos y garantizando ciertas condiciones. La *micropropagación* de este cultivo genera ventajas pues favorece el crecimiento una mayor brotación, mejor la calidad del fruto, de igual manera el cultivo *in vitro* permite mejorar la producción de clones de arándanos los cuales sean más resistentes a ciertos factores como cambios climáticos, edafológicos, plagas y enfermedades; además el potencial productivo se incrementa y se puede lograr en menor tiempo **(Rodríguez et al., 2015).**

Tomando en cuenta lo anteriormente mencionado, en la presente investigación se propuso obtener un banco de plantas donantes de arándanos variedad Biloxi en condiciones semicontroladas para el establecimiento de explantes en condiciones *in vitro*. Para ello se utilizó el medio de cultivo MS semisólido y un sistema de regeneración vía organogénesis. Los resultados de esta investigación serán de gran importancia en la multiplicación *in vitro* de arándano y el establecimiento de un banco de plantas donantes como prerequisite para introducir material vegetal juvenil de alta calidad fisiológica y fitosanitaria e incrementar el número de plántulas establecidas *in vitro*.

## **1.2. Antecedentes Investigativos**

**Mora (2010)** mediante su investigación titulada “Organogénesis *in vitro* de arándano *vaccinium corymbosum* L.” mencionó que en la actualidad la implementación del cultivo *in vitro* ha generado grandes aspectos positivos tanto a nivel comercial como en la obtención de cultivares de calidad, permitiendo conseguir clones de arándano resistentes a factores abióticos como bióticos garantizando así una producción elevada en menor tiempo.

**Jiménez y Abdelnour (2017)** a través del artículo con el tema “Protocolo de micropropagación de arándano nativo de Costa Rica *Vaccinium consanguineum* K.” demostraron que estudios realizados han generado un aumento significativo en la comercialización de arándanos obteniendo así un nivel de exportaciones altas, lo que ha permitido el incremento de áreas cultivadas a nivel mundial. Con el propósito de satisfacer dichas demandas de plántulas de arándano se ha optado por aplicar la técnica de

*micropropagación* con el propósito de obtener un material de siembra de mejor calidad en un plazo de tiempo más corto.

**Lerma *et al.*, (2019)** a través del artículo con el tema “Propagación *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)” mencionó que la micropropagación de arándano es un método eficiente que ha manifestado que, en esta especie, el proceso *in vitro* no ocasiona variación genética, por lo tanto, la utilización de dicha técnica permite alcanzar una producción abundante de plántulas de alta calidad genética mediante clonación.

**Cardenal y Pacheco (2010)** a través del artículo con el tema “Propagación *in vitro* de plantas adultas de *Vaccinium meridionale* Sw.” señalaron que diversos estudios han revelado indiscutibles valoraciones en relación a la composición de nutrientes, niveles de temperatura, humedad, pH, concentración de fitohormonas entre otros, para un óptimo manejo en la técnica de propagación de diversas especies de *Vaccinium spp.*

**Brenes *et al.*, (2015)** mediante el artículo titulado “Micropropagación de Cuatro Cultivares de Arándano (*Vaccinium spp.*) a partir de segmentos foliares de dos procedencias” señalaron que ciertos estudios acerca de factores del cultivo como: tipo de explantes y dosificación de reguladores de crecimiento para un mejor crecimiento *in vitro* de *V. corymbosum*, generando resultados de gran importancia al obtener plantas mediante el cultivo de tejidos. Demostraron además que las plantas crecieron de manera más compacta, pero con mayor índice de brotación lateral y con un mayor número de yemas florales por planta y por ende mayor número de frutos aumentando así el rendimiento.

**Castillo (2015)** afirmó que la micropropagación es considerada como uno de los recursos más utilizados en cuanto al cultivo *in vitro*, de este modo se ha logrado obtener plantas genéticamente similares debido a que contienen características afines gracias a la técnica implantada como es la clonación. En esta técnica se emplean la utilización de explantes procedentes de yemas vegetativas las mismas que son insertadas en frascos de cultivo previamente esterilizados, y los cuales contienen una porción de sales minerales, ciertas concentraciones de reguladores de crecimiento y vitaminas que aportan los niveles necesarios para el óptimo crecimiento de las plantas.

**Jiménez (2017)** a través de su investigación con el tema “Una opción para la diversificación de la agricultura en zonas altas” señaló que la micropropagación vegetativa de ciertas variedades e híbridos que pertenecen a este género presentan una excelente capacidad de regeneración *in vitro*, la misma que está estrechamente relacionada con el genotipo, motivo por el cual en varias ocasiones requiere realizar ciertas modificaciones a los protocolos utilizados para lograr éxito en la micropropagación.

Sin embargo, **Castro y Álvarez (2013)** en su artículo titulado “Micropropagación clonal de tres genotipos de mortiño, *V. meridionale*, mediante proliferación de yemas axilares” señalaron que existen diversas causas que restringen la utilización de técnicas biotecnológicas en la micropropagación de especies de *Vaccinium* debido a la falta de protocolos de propagación eficaces que permitan obtener material vegetal libres de patógenos y en periodos de tiempo relativamente cortos.

**Rache y Pacheco (2010)** en su artículo titulado “Propagación *in vitro* de plantas adultas de *V. meridionale*” señalaron que para la realización del presente ensayo los segmentos

utilizados fueron los ápices primarios caulinares los mismos que fueron establecidos *in vitro* en medios MS y WP los cuales fueron objeto de estudio además se añadió ciertas fitohormonas. Teniendo como resultados un alto porcentaje de establecimiento entre el 80 y 100 % en el medio MS/3 las cuales fueron obtenidos a los sesenta días de la instalación del mismo observando así la reactivación en el crecimiento.

**Gómez y Esquivel (2013)** en su investigación titulada “Establecimiento *in vitro* de arándano *V. corymbosum* L.” mencionaron que para la instalación del ensayo las estacas fueron desinfectadas mediante cuatro técnicas las mismas que fueron evaluadas y de igual manera se comparó las concentraciones de ciertas fitohormonas que influyen en el establecimiento *in vitro* de esta especie teniendo como resultados que la mejor técnica de desinfección fue mediante la utilización de hipoclorito de sodio en una concentración de 1,5 % adicionalmente 0,1 % de Tween 20 durante un período de tiempo de cuarenta minutos alcanzando así un porcentaje de contaminación mínima sin embargo la mayor longitud en cuanto a brotes se obtuvo mediante la utilización de las citoquininas.

### **1.3 Categorías Fundamentales o Marco Conceptual**

#### **1.3.1 Métodos de propagación**

El arándano es una especie en la cual se pueden emplear dos métodos de propagación: método de propagación sexual o mediante semillas y el método asexual el cual puede ser mediante enraizamiento de estacas, estaquillas o mediante micropropagación. Por consiguiente, el método de propagación sexual es considerada como la manera de reproducción natural la misma que implica la producción de semillas de calidad y el

segundo método es conocido como el método de propagación artificial, la cual consiste en obtener raíces adventicias a partir de segmentos de tallos con el propósito de perpetuar la integridad genética (**Trauco 2017**). Las especies pertenecientes al género *Vaccinium* poseen una característica genética de gran relevancia ya que no reproducen individuos similares a las plantas madres por lo que son considerados como organismos heterocigóticos (**Yamamoto et al., 2017**).

**Palma (2010)** mencionó que estudios realizados han demostrado que en el arándano se han aplicado ciertas técnicas de propagación vegetativa, las cuales tienen como función la conservación del material genético y así garantizar ciertas características que le permitan obtener frutos en menor tiempo y de mejor calidad, por lo que este método se puede realizar ya sea por estacas, segmentos nodales como también mediante micropropagación con fines comerciales.

La técnica de macropropagación de esquejes de arándanos tiene como principal propósito el desarrollo de raíces adventicias en segmentos de tallos, es por este motivo que la presente técnica es la más común para la reproducción de esta especie, misma que tiene como finalidad el mantenimiento de la pureza genética (**Yamamoto et al., 2017**).

**Propagación Por Estaquillas:** Esta técnica consiste en enraizar porciones de ramas ya sea de madera dura o madera verde de 10 a 12 cm de longitud y con grosor superior a 3mm las cuales se obtienen de arbustos que están en producción, sin embargo, es recomendable utilizar plantas madres en las cuales se pueden controlar de mejor manera las plagas y enfermedades. Posteriormente las estaquillas son desinfectadas y colocadas

en una solución de hormonas enraizantes y finalmente son puestas en recipientes que contengan el sustrato (**García et al., 2018**).

**Propagación por injerto:** Esta técnica de injerto es muy común en otros frutales sin embargo la utilización de la misma en arbustos frutales es muy novedosa y compleja ya que se realiza sobre ciertas ramas seleccionadas utilizando los injertos de púa mediante el sistema hendidura cuyo propósito principal es mejorar la calidad del fruto e incluso la posibilidad de manejar el cultivo a un solo tronco facilitando así el uso de maquinaria agrícola para su recolección reducción así los costos de producción (**Trauco 2017**).

### **Cultivo *in vitro***

**Rico (2016)** señaló que esta técnica biotecnología de propagación *in vitro* conocida también como micropropagación tiene diversas ventajas las cuales permiten generar plántulas en cantidad de diversas especies en un periodo de tiempo más reducido, debido a que en esta técnica se puede manipular cualquier órgano y tejido de las plantas y así generar nuevos brotes siendo así utilizados como punto de inicio para la obtención de las mismas, otra ventaja es el incremento masivo en la producción de plantas en un espacio limitado permitiendo de cierta manera obtener plantas no solo en una temporada sino durante todo el año.

### **Antecedentes Sobre Cultivo *in vitro***

**Arista et al., (2019)** señalaron que en la actualidad el incremento de las áreas destinadas para el cultivo ha generado un notable crecimiento en cuanto a la demanda de material



vegetal vigoroso y sano en especial de plantas obtenidas de manera *in vitro* ya que han demostrado no generar variabilidad genética.

La técnica de micropropagación tiene como principal objetivo obtener de forma rápida y masiva plantas provenientes de pequeñas fracciones de células o tejidos cultivadas bajo ciertos parámetros de asepsia. Ciertos órganos y tejidos que son implementados en esta técnica conocidos como explantes se los puede obtener de ciertas fracciones de tallos, raíces, hojas, embriones entre otros (**Mora 2010**).

Según **Castillo (2004)** señaló que esta técnica ha sido implementada con fines comerciales en diversas especies vegetales a nivel mundial, la misma que ha sido utilizada con gran acogida en especies que pertenecen al género *Vaccinium*.

Sin embargo, existen ciertos factores que llegan a limitar el desarrollo de protocolos de micropropagación eficientes entre los cuales podemos encontrar factores internos entre (tipo de explante, calidad del explante, juvenilidad del explante) y de igual manera los factores externos (agentes de desinfección del explante, frasco de cultivo, temperatura de incubación, pH del medio de cultivo, tipos de medios de cultivo, iluminación, tipo de fitohormonas y sus concentraciones, concentración de sales minerales entre otros ) (**Lerma 2019**).

## **Factores Internos**

**Edad del explante:** Según **Jiménez y Abdelnour (2017)** mencionan que la longevidad de la planta de la cual es obtenida el explante, cumple un papel de gran importancia ya que influye en la capacidad regenerativa *in vitro*, de tal manera los explantes que fueron tomados de plantas juveniles tienen mayor eficacia a la hora de enraizar en comparación a los que fueron tomados de plantas adultas.

**Tamaño del explante:** Este factor está relacionado a la porción de tejido que acompaña al meristemo, el mismo que es de gran importancia al desempeñar un papel de protección y nutrición a los tejidos meristemáticos. De tal manera los explantes que tienen mayor tamaño poseen una mejor capacidad de enraizamiento ya que contienen reservas de alimento en mayor cantidad, mientras que los explantes de menor tamaño contienen una superficie de lesión mayor permitiéndoles así la regeneración de tejidos (**Toro 2009**).

## **Factores Externos**

**Palma (2010)** manifestó que la composición química de la solución nutritiva que es utilizada principalmente en la técnica *in vitro* son de gran importancia debido a que su especificidad genotípica permite elegir el más idóneo para el crecimiento adecuado.

Composición de la solución nutritiva

- Fitorreguladores.
- Vitaminas y aminoácidos.

- Sales minerales.
- Entornos físicos y pH.
- Asepsia.
- Condiciones del cultivo.
- Fuente de carbono y nitrógeno.

### **1.3.2 Etapas Del Cultivo *In Vitro***

**Etapa o fase 0:** Selección y preparación de las plantas madres o donantes.

**Etapa o fase I.** Desinfección del material vegetal en esta fase el principal objetivo es obtener explantes libres de agentes contaminantes los mismos que serán colocados en un medio de cultivo previamente esterilizado, sin embargo, existen múltiples factores que restringen el éxito de la misma ya que en ocasiones se decide introducir fragmentos de tejidos directamente de campo en lugar de establecer previamente un banco de plantas donantes en condiciones semicontroladas (**Ribón y Bernal 2020**).

**Etapa o fase II:** Introducción del material vegetal y establecimiento *in vitro*, en esta etapa se procede analizar ciertos factores relacionados al material vegetal con el fin de determinar la liberación de compuestos fenólicos por parte de los explantes y de esta manera colocar ciertos compuestos que nos permitan controlar la oxidación de los mismos (**Ribón y Bernal 2020**).

**Etapa o fase III:** Multiplicación esta fase tiene como propósito obtener microtallos de tamaño manipulable que les permita subsistir bajo ciertas condiciones de enraizamiento ya sea *in vitro* como *ex vitro* (**Nowakowska y Pacholczak 2017**).

**Etapa o fase IV:** En esta fase los microtallos que se obtuvieron con anterioridad son debidamente colocados en la respectiva solución nutritiva la misma que en ciertas ocasiones no debe contener fitohormonas sin embargo en ciertas especies son colocadas a medios de cultivo solo que contengan auxinas (**Ribón y Bernal 2020**).

**Etapa o fase V:** Aclimatización es importante considerar que el fracaso o el éxito de toda investigación está relacionado estrechamente con esta fase debido a que las plantas experimentan cambios que les permitan adaptarse a condiciones del medio que los rodea. (**Nowakowska y Pacholczak 2017**).

## **Fitohormonas**

Las fitohormonas llamadas sustancias orgánicas se encuentran en pequeñas concentraciones, se sintetizan en lugares específicos de las plantas y son trasladados a ciertas zonas en donde actúan. La actividad optima de las plantas se encuentra estrechamente está ligado principalmente a las concentraciones y al contacto con las demás fitohormonas (Sánchez 2013)

## **Clasificación De Las Fitohormonas**

**Auxinas:** Según **Brenes et al., (2015)** señalaron que este tipo de hormonas tienen como función primordial estimular el crecimiento vegetal particularmente en la elongación y división celular, interviniendo de esa manera en la producción de raíces e impiden la caída

de frutos y hojas. Las células ubicadas en los primordios del meristemo apical de las hojas jóvenes son las encargadas de sintetizar este tipo de compuestos.

**Gibberalinas:** Pertenecen al grupo de fitorreguladores cuya estructura es compleja, teniendo como función principal estimular el crecimiento longitudinal de los tallos además estimulan la división celular y formación de frutos y elimina la dormancia en yemas y semillas. Este regulador de crecimiento es sintetizado en los ápices vegetativos y radicales, en pequeños frutos y en semillas además es transportado de manera ascendente (**Sánchez 2013**).

**Citoquininas:** Las citoquininas influyen en el control de la división celular en el desarrollo y crecimiento además intervienen en la dominancia apical y regulan la apertura de estomas, además intervienen en la formación y actividad de los meristemos del ápice caulinar (**Sánchez 2013**).

**Etileno: Brenes *et al.*, (2015)** mencionaron que en la actualidad el etileno es considerado como una hormona que intervienen en la maduración de los frutos, el mismo que es sintetizado en varias partes de la planta en mayor cantidad cuando está en presencia de un estrés físico. Los tejidos y frutos senescentes son los que producen en mayor cantidad de etileno en comparación a los tejidos maduros o jóvenes.

**Ácido Abscísico:** En opinión de **Sánchez (2013)** indicó que esta hormona es producida por las semillas y las hojas maduras y es transportada mediante el xilema y floema, además

beneficia la dormición de semillas y yemas, provoca la caída de frutos y hojas y promueve la síntesis de proteínas.

### **Condiciones *in vitro***

Según **Rico (2016)** mencionó que las condiciones que el explante necesita para su óptimo desarrollo durante el periodo de siembra son de gran importancia ya que provee que los cultivos vegetales logren crecer sin ninguna dificultad debido a que su crecimiento será en un ambiente distinto al que comúnmente se desarrollaría. Entre las principales condiciones se pueden encontrar:

**Esterilidad:** Este tipo de cultivo se debe desarrollar en un ambiente libre de agentes contaminantes y altamente desinfectado en su mayoría ya que de esa manera la tasa de contaminación será menor, por lo que se recomienda que el lugar (laboratorio) en donde se implementará este cultivo debe ser desinfectada y además de monitorear el ambiente (**Mora 2010**).

**Temperatura y humedad relativa:** Para el correcto desarrollo de cultivos vegetales *in vitro* se recomienda que la temperatura oscile entre 25 y 30 °C, mientras que la humedad relativa debe estar en el rango de un 50 a un 80% frente al ambiente para que la planta logre desarrollarse correctamente, tomando en cuenta las necesidades del cultivo que se vaya a utilizar (**Castillo 2004**).

**Ciclo de luz:** Ciertas investigaciones demuestran que las plántulas que se desarrollaron mediante la técnica del cultivo *in vitro* necesitan permanecer un periodo de 18 horas en

luz constante y 6 horas de oscuridad para que puedan realizar el intercambio de luz adecuado para su óptimo desarrollo. Sin embargo, ciertos autores recomiendan tomar en cuenta las horas luz que requieren cada cultivo al momento de utilizar esta técnica (**Lerma 2019**).

## **UNIDAD DE ANÁLISIS**

### **1.3.3 Cultivo De Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)**

#### **Historia**

Los arándanos son originarios de las regiones frías de Norteamérica, perteneciente a la familia de las Ericáceas, son conocidos principalmente como arbustos rastreros, cuyas alturas varían de acuerdo a cada especie (0,3 a 7,0 m), este tipo de cultivo se caracteriza por tener hojas alternas y de alta conservación, al hablar del fruto se logra resaltar que pertenecen a los frutales pequeños conocidos como berries a los cuales también constan las frambuesas, moras y frutilla (**Vilaró y Soria 2007**).

**Castro (2016)** indicó que del arándano es de gran importancia a nivel comercial ya que de esta fruta se pueden obtener múltiples productos tales como conservas, pulpas, helados, pasteles, bebidas alcohólicas entre otros. Esta fruta se caracteriza por poseer un sabor ácido y dulce, además de ser succulento. Este cultivo contiene grandes peculiaridades entre una de ellas, es al madurar sus frutos ya que presentan un polvo blanquecino que los recubre en su totalidad y que no se puede retirar con agua permitiéndole así tornar una coloración azul celeste.

## Clasificación taxonómica del arándano

De acuerdo con Vilaró y Soria (2006) el arándano se clasifica taxonómicamente en:

**TABLA N° 1.** Taxonomía del arándano

| Taxonomía          |                            |
|--------------------|----------------------------|
| <b>Reino:</b>      | Plantae                    |
| <b>División:</b>   | Magnoliophyta              |
| <b>Clase:</b>      | Magnoliopsida              |
| <b>Orden:</b>      | Ericales                   |
| <b>Familia:</b>    | Ericaceae                  |
| <b>Subfamilia:</b> | Vaccinioideae              |
| <b>Tribu:</b>      | Vaccinieae                 |
| <b>Género:</b>     | <i>Vaccinium</i>           |
| <b>Especie:</b>    | <i>V. corymbosum</i><br>L. |

**Fuente:** Tomado de Vilaró y Soria (2006).

## Descripción botánica del arándano

El cultivo de arándano perteneciente al género *Vaccinium* de la familia Ericaceae es conocido como un arbusto erecto que dependiendo de la especie varia su altura (0,3 a 7 m). Presenta raíces superficiales muy ramificadas las cuales se caracterizan por no presentar pelos absorbentes teniendo así la dificultad de al momento de absorber el agua del suelo en la mayoría de los casos presentan una asociación simbiótica con ciertos microorganismos benéficos generando así un mayor desarrollo vegetativo (**García et al. 2018**).



Las hojas son de tipo alternas, perennes y longevas, con peciolo de tamaño corto, tiene una tonalidad verde claro a intenso, sin embargo, en la época de otoño adquieren una coloración amarillenta o rojiza dependiendo de la variedad. Sus flores se caracterizan por ser péndulas y solitarias las mismas que se encuentran en las axilas de las hojas en racimos de 6 a 10, poseen sépalos persistentes, una corona blanca de forma de campana, el número de yemas florales que se pueden formar en cada rama está relacionado directamente con el grosor, así como también la utilización de reguladores de crecimiento y en si con las técnicas que se emplean en el cultivar (**García *et al.* 2018**).

El fruto es de forma esférica con un diámetro de 1 a 3 cm que puede variar dependiendo de la variedad, posee un color azul intenso característico de su madurez, además presenta una serosidad que recubre la epidermis del mismo generando así un aspecto atractivo. Una de las características esenciales que debe cumplir el fruto a nivel comercial está relacionada con la cicatriz que se genera al momento de separarlo del pedúnculo la misma que debe tener un tamaño pequeño y seca (**Rache y Pacheco 2010**).

### **Requerimientos edafoclimáticos del arándano**

Este tipo de cultivo requiere de temperaturas que oscilan entre 5 a 18 °C dependiendo de la variedad. Al hablar de la precipitación en este tipo de cultivo se puede mencionar que durante el periodo vegetativo se requiere de 1000 a los 3000 mm anuales por lo que es recomendable que exista un apropiado suministro de agua. El sistema de riego más eficaz para este cultivo es por goteo ya que se puede manejar sus líneas de conducción en la aplicación de fertilizantes solubles, otro requerimiento que es de gran importancia es el viento según **Vilaró y Soria (2007)** mencionaron que para un buen desarrollo del fruto

los vientos moderados son muy favorables, en comparación a los vientos fuertes ya que causan daños de gran importancia como son la mala formación del arbusto, en ciertas ocasiones provocan las caídas de hojas, flores y de frutos (**Palma 2016**). La luz solar es gran importancia para para el correcto desarrollo de este cultivo por lo que es recomendable ubicarlos en zonas en donde reciban la mayor cantidad de luz para así garantizar frutos con un sabor y color de calidad, en cuanto, a la humedad relativa que este cultivo necesita es de 75 % (**Vilaró y Soria 2007**).

Este tipo de cultivo es muy riguroso en cuanto a los requerimientos del tipo de suelo debido a que sus raíces son poco profundas por lo tanto necesitan que el suelo tenga la capacidad de retener la humedad y con un buen drenaje ya que sus raíces son muy exigentes en cuanto al oxígeno debido a que está estrechamente ligado al crecimiento y productividad, por lo que necesita de suelos franco arenoso con un porcentaje de arcilla no superior al 20 % y con un bajo contenido de limo y con un pH ácido de 4,5 – 5,5 para obtener una mayor productibilidad. En cuanto al porcentaje de materia orgánica esta especie requiere niveles superiores al 3%. En relación con la conductividad eléctrica los niveles óptimos no deben excederse a los 0,5 mS/cm debido a que este cultivo es muy sensible a la acumulación de sales (**García *et al.*, 2018**).

### **Ciclo del cultivo**

Según Rache y Pacheco (2010) señalaron que el ciclo del cultivo de arándano tiene dos fases de gran importancia las mismas que son:

**TABLA N° 2.** Ciclo del cultivo de arándano

| <b>Años</b>          | <b>Fase</b>                      |
|----------------------|----------------------------------|
| <b>6 a 8 semanas</b> | Periodo de cosecha               |
| <b>1 a 2 años</b>    | Fase de crecimiento y desarrollo |
| <b>3 a 4 años</b>    | Primeras cosechas                |
| <b>7 años</b>        | Estabilización de la cosecha     |
| <b>8 a 30 años</b>   | Adulto productivo                |

Fuente: Tomado de Rache y Pacheco (2010).

## **Plagas y enfermedades**

### **Plagas**

**Aves:** Ingieren de forma ansiosa los frutos, sin embargo, se los puede controlar a través de métodos ahuyentadores o a su vez empleando la misma malla antigranizo o serán (**González *et al.* 2017**).

**Liebres:** Tienden a roer la parte leñosa utilizando sus incisivos, por lo que es recomendable la instalación de alambrado en el perímetro de la plantación (**González *et al.* 2017**).

### **Enfermedades**

**Atizonamiento de tallos y pudrición de frutos** causada por *Botrytis cinerea* Pers: **González *et al.*, (2017)** señalaron que, bajo condiciones de humedad elevada y periodos de lluvias próximos a la cosecha esta enfermedad se la considera como un importante

problema debido a que generalmente tiende a atacar a las partes jóvenes de los tallos, flores y frutos. Entre los principales síntomas que se presentan se encuentran: atizonamiento a nivel de los brotes, necrosis sumada a la marchitez en hojas y flores, además de pudrición de los frutos.

**Podredumbre del cuello y raíz** causada por *Phytophthora sp.*: Esta enfermedad puede desarrollarse en suelos pesados, que dificultan el drenaje del excedente de agua o de una sobreirrigación. El estrés provocado por una fertilización excesiva y daños por el uso de herbicidas tienden a acelerar el proceso de muerte en las plantas afectadas (**González et al., 2017**).

**Manchas en hojas, tallos y frutos causado por *Alternaria tenuissima*** (Kunze) Wiltshire: **González et al. (2017)** señalaron que las primaveras frías y húmedas son un factor predisponente para la aparición de esta enfermedad. Se presentan manchas rojizas sobre ambas caras de las hojas. En los tallos estas manchas se transforman en “chancros” de un tamaño reducido. A nivel de los frutos se puede apreciar manchas oscuras con un reblandecimiento, estas alteraciones, aparecen luego de la cosecha.

**Roya.** Causada por *Pucciniastrum vaccinii* Jørst: **González et al. (2017)** menciona que este tipo de lesiones se desarrollan en el haz de la hoja y que comienzan como áreas cloróticas, que posteriormente se transforman en manchas de una tonalidad castaña oscuro, con una forma variable, aisladas, las cuales pueden agruparse para abarcar grandes dimensiones. En el envés se pueden apreciar pústulas de un color amarillo-naranja.

**Tizón de tallos, manchas foliares y pudrición de frutos:** Causado por *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. **González et al. (2017)** señalaron que este tipo de infección es producida por un hongo, el cual ingresa a través de heridas o atacando a plantas que se encuentren debilitadas. A nivel de las hojas se pueden apreciar pequeñas manchas circulares de color marrón, en los tallos se observa una muerte progresiva que va desde los ápices hacia abajo y un atizonamiento en las flores. En los frutos, los síntomas se desarrollan luego de la cosecha apreciándose en estos un ablandamiento.

**Agalla de corona** (*Agrobacterium tumefaciens* Smith & Townsend): **González et al. (2017)** señala que este hongo se caracteriza por desarrollar tumores en la base de los tallos y raíces principales, con una presentación poco frecuente en las raíces secundarias. Las agallas jóvenes, son de consistencia blanda, de color claro, que progresivamente se tornan rugosas, leñosas y con un color marrón oscuro. Por lo general, todas las variedades de arándanos presentan una elevada susceptibilidad ante esta enfermedad.

## **1.4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **1.4.1 Hipótesis**

El establecimiento *ex vitro* de un banco de plantas donantes de arándano variedad Biloxi en condiciones semicontroladas podría facilitar la obtención de un banco de plantas juveniles que incrementen las posibilidades de establecer explantes *in vitro* como material de partida para la micropropagación.

## **1.4.2 Objetivos**

### **Objetivo general**

Obtener un banco de plantas donantes de arándanos variedad Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro* mediante el enraizamiento de esquejes para el establecimiento de explantes *in vitro* en un medio de cultivo semisólido utilizando como sistema de regeneración la organogénesis.

### **Objetivos específicos**

1. Establecer un banco de plantas donantes de arándanos variedad Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro*.
2. Determinar las características de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido.
3. Obtener un banco de plantas juveniles de arándano variedad Biloxi establecidas bajo condiciones *in vitro*

## **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 catón Cevallos, situado en la provincia de Tungurahua.

#### **2.2. Características del lugar**

Para la obtención de un banco de plantas donantes de arándano variedad Biloxi se utilizará el laboratorio de Biotecnología Vegetal el cual está instalado en Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato

#### **2.3. Equipos y materiales**

##### **2.3.1. Material experimental**

El material experimental está constituido por plantas de arándano (*Vaccinium corymbosum* L), variedad Biloxi.

### **2.3.2. Equipos**

**2.3.2.1** Establecer un banco de plantas donantes de arándanos variedad Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro*.

- Balanza de precisión.
- Destilador de agua.

**2.3.2.2** Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido.

- Autoclave.
- Balanza de precisión.
- Cabina de flujo laminar.
- Agitador magnético.
- Estufa.
- Incubadora.
- Refrigeradora.
- pH metro.
- Destilador de agua.

**2.3.2.3** Obtener un banco de plantas juveniles de arándano var. Biloxi establecidas bajo condiciones *in vitro*.

- Autoclave.
- Balanza de precisión.
- Cabina de flujo laminar.
- Agitador magnético.
- Estufa.



- Incubadora.
- Refrigeradora.
- pH metro.
- Destilador de agua.

### **2.3.3. Materiales**

**2.3.3.1.** Establecer un banco de plantas donantes de arándanos variedad Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro*.

- Bandejas.
- Vasos plásticos de 7 onzas.
- Sustrato (fibra de coco, turba, pomina).
- Estiletes.
- Tijeras.
- Fitohormona vegetal.
- Pinzas.
- Alcohol.
- Bisturí.
- Probetas.
- Vaso de precipitado.
- Agua desionizada.
- Mangos de bisturí.
- Cinta adhesiva.
- Marcadores permanentes.

**2.3.3.2** Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido.

- Estiletes.
- Tijeras.
- Fitohormona vegetal.
- Pinzas.
- Alcohol.
- Bisturí.
- Probetas.
- Phytigel.
- Vaso de precipitado.
- Erlenmeyer.
- Agua desionizada estéril.
- Mangos de bisturí.
- Cinta adhesiva.
- Marcadores permanentes.
- Hipoclorito de sodio 1-3 %.
- Lámpara de alcohol.

**2.3.3.3.** Obtener un banco de plantas juveniles de arándano var. Biloxi establecidas bajo condiciones *in vitro*.

- Estiletes.
- Tijeras.
- Fitohormona vegetal.
- Pinzas.
- Alcohol.

- Bisturí.
- Probetas.
- Vaso de precipitado.
- Erlenmeyer.
- Agua desionizada estéril.
- Mangos de bisturí.
- Cinta adhesiva.
- Marcadores permanentes.
- Hipoclorito de sodio 1-3 %.
- Phytigel.
- Varillas de agitación.
- Lámpara de alcohol.

## 2.4. Factores en estudio

**2.4.1. Objetivo N°1 :** Establecer un banco de plantas donantes de arándanos variedad Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro*.

- **Factor N°1.** Efecto de diferentes sustratos en el establecimiento de un banco de plantas *Vaccinum corymbosum* var. Biloxi (% de concentración Fibra de coco – Pomina – Turba).
- **Factor N°2.** Influencia del tipo de auxina y la concentración para enraizamiento de arándano.
- **Factor N°3.** Influencia de la longitud del esqueje en el enraizamiento de arándano.
- **Factor N° 4.** Influencia del grosor del esqueje en el enraizamiento de arándano.

**2.4.2 Objetivo N° 2 :** Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido MS.

- **Factor 1.** Influencia de las diferentes concentraciones de Hipoclorito de sodio en el establecimiento *in vitro*.
- **Factor 2.** Influencia de la composición del medio MS en el establecimiento *in vitro*.
- **Factor 3.** Influencia del tipo de auxina y la concentración para el establecimiento *in vitro* de arándano.

**2.4.3. Objetivo N° 3:** Obtener un banco de plantas juveniles de arándano var. Biloxi establecidas bajo condiciones *in vitro*.

- **Factor 1.** Influencia de las condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.
- **Factor 2.** Influencia del tipo de frasco de cultivo en el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.
- **Factor 3.** Influencia de la concentración de Phytigel en el medio semisólido para el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.

## **2.5. Tratamientos**

**2.5.1. Objetivo N°1 :** Establecer un banco de plantas donantes de arándanos var. Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro*.

**Factor N°1.** Efecto de diferentes sustratos en el establecimiento de un banco de plantas *Vaccinum corymbosum* var. Biloxi (% de concentración Fibra de coco – Pomina – Turba).

- T1 (40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba).
- T2 (50% de fibra de coco +20% de pomina + 30 % turba).
- T3 (60% fibra de coco + 20% de pomina + 20 de turba).
- T4 (30 % fibra de coco + 20 % de pomina + 50 % turba).
- T5 (20 % de fibra de coco + 20% de pomina + 60 % de turba).

**Factor N°2.** Influencia del tipo de auxina y la concentración para enraizamiento de arándano.

**TABLA N°3.** Concentraciones de auxinas para el enraizamiento de arándano.

| <b>CONCENTRACIONES DE AUXINAS</b>  |  |  |
|--|--|--|
| <b>ANA</b>   | <b>AIA</b>   | <b>AIB</b>   |
| <b>SUMERGIR EL EXPLANTE DURANTE 15 MINUTOS</b>   |  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• T1 100 ppm ANA</li> <li>• T2 200 ppm ANA</li> <li>• T3 250 ppm ANA</li> <li>• T4 300 ppm ANA</li> <li>• T5 350 ppm ANA</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• T1 100 ppm AIA</li> <li>• T2 150 ppm AIA</li> <li>• T3 200 ppm AIA</li> <li>• T4 250 ppm AIA</li> <li>• T5 300 ppm AIA</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• T1 300 ppm AIB</li> <li>• T2 400 ppm AIB</li> <li>• T3 500 ppm AIB</li> <li>• T4 600 ppm AIB</li> <li>• T5 700 ppm AIB</li> </ul> |

**Factor N° 3.** Influencia de la longitud del esqueje en el enraizamiento de arándano.

- T1. Segmento nodal de 1cm.
- T2. Segmento nodal de 1,5 cm.
- T3. Segmento nodal de 3 cm.

**Factor N° 4.** Influencia del grosor del esqueje en el enraizamiento de arándano.

- T1. Grosor del esqueje 1 mm.

- T2. Grosor del esqueje 2 mm.
- T3. Grosor del esqueje 4 mm.

**2.5.2. Objetivo N° 2 :** Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido MS.

**Factor N°1.** Influencia de las diferentes concentraciones de Hipoclorito de sodio en el establecimiento *in vitro*.

- T1. Desinfección con NaClO al 0.5% durante 5 minutos.
- T2. Desinfección con NaClO al 1% durante 5 minutos.
- T3. Desinfección con NaClO al 1.5% durante 5 minutos.
- T4. Desinfección con NaClO al 2% durante 5 minutos.
- T5. Desinfección con NaClO 2.5% durante 5 minutos.
- T6. Desinfección con NaClO al 3% durante 5 minutos.
- Control: Agua desionizada estéril.

**Factor N°2.** Influencia de la composición del medio MS en el establecimiento *in vitro*.

- T1. Medio MS con un 25% de su composición estándar.
- T2. Medio MS con un 50% de su composición estándar.
- T3. Medio MS con un 75% de su composición estándar.
- T4. Medio MS con un 100% de su composición estándar.

**Factor N°3.** Influencia del tipo de auxina y la concentración en el establecimiento *in vitro* de arándano

**TABLA N°4.** Concentraciones de Auxinas ensayo *In vitro*.

| <b>CONCENTRACIONES DE AUXINAS</b> |                |                |                |
|-----------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>ANA</b>                        | <b>AIA</b>     | <b>AIB</b>     | <b>CONTROL</b> |
| T1 100 ppm ANA                    | T1 100 ppm AIA | T1 300 ppm AIB | SIN<br>AUXINAS |
| T2 200 ppm ANA                    | T2 150 ppm AIA | T2 400 ppm AIB |                |
| T3 250 ppm ANA                    | T3 200 ppm AIA | T3 500 ppm AIB |                |
| T4 300 ppm ANA                    | T4 250 ppm AIA | T4 600 ppm AIB |                |
| T5 350 ppm ANA                    | T5 300 ppm AIA | T5 700 ppm AIB |                |

**2.5.3. Objetivo N° 3:** Obtener un banco de plantas juveniles de arándano variedad Biloxi establecidas bajo condiciones *in vitro*.

**Factor N° 1.** Influencia de las condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.

- T1. Plantas en condiciones de iluminación solar.
- T2. Plantas en condiciones de iluminación de luz blanca fluorescente.
- T3. Plantas en condiciones de oscuridad.

**Factor N° 2.** Influencia del tipo de frasco de cultivo en el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.

- T1. Frasco de vidrio herméticos.

- T3. Frascos de plástico transparentes herméticos.

**Factor N° 3.** Influencia de la concentración de Phytigel en el medio semisólido para el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.

- T1- MS + Phytigel al 0.25 %.
- T2- MS + Phytigel al 0.50 %.
- T3- MS + Phytigel al 0.75 %.
- T4- MS + Phytigel al 1 %.
- T5- MS + Phytigel al 1.25%.

## **2.6 Diseño experimental**

Se utilizó un diseño completamente al azar.

## **2.7 Manejo del experimento**

**2.7.1. Objetivo N°1 :** Establecer un banco de plantas donantes de arándanos var. Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro*.

**2.7.1.1 Factor composición de sustrato y el tipo y concentración de auxinas en el establecimiento *ex vitro* de segmentos nodales de arándano (var. Biloxi) en condiciones semicontroladas**

Se procedió a recolectar el material vegetal (explantes) de arándano var. Biloxi los mismos que fueron cortados en pequeñas proporciones. En el laboratorio se procedió a preparar las soluciones madres (10x) de ácido naftalenacético (ANA), ácido indoacético (AIA) y de ácido indolbutírico (AIB) con el propósito de facilitar la preparación de las soluciones



a diferentes concentraciones de auxinas posteriormente se procedieron a sumergir dichos explantes en las diferentes concentraciones de auxinas durante 15 minutos para luego ser colocados en los recipientes que contienen los sustratos a diferentes concentraciones de fibra de coco, pomina y turba los mismos que fueron regados con anterioridad. Una vez ya colocados los explantes en cada recipiente se procedió a colocar los vasos plásticos de tapa con el propósito de mantener la humedad.

**TABLA N° 5.** Concentraciones del sustrato

| <b>DIFERENTES CONCENTRACIONES DEL SUSTRATO</b>   |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• T1 (40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba)</li> <li>• T2 (50% de fibra de coco +20% de pomina + 30 % turba)</li> <li>• T3 (60% fibra de coco + 20% de pomina + 20 de turba)</li> <li>• T4 (30 % fibra de coco + 20 % de pomina + 50 % turba)</li> <li>• T5 (20 % de fibra de coco + 20% de pomina + 60 % de turba)</li> </ul> |

### **2.7.1.2 Influencia de la longitud del esqueje en el enraizamiento de arándano.**

Se procedió a recolectar el material vegetal (explantes) de arándano var. Biloxi los mismos que fueron cortados en proporciones de tamaño (1cm, 1,5cm y 3cm). En el laboratorio se procedió a preparar la solución de ANA a una concentración de 100 ppm la misma que dio buenos resultados en el ensayo anterior posteriormente se procedieron a sumergir dichos explantes en la auxina durante 15 minutos para luego ser colocados en los recipientes que contienen el sustrato con la composición (40% fibra de coco, 20% pomina y 40% turba) los mismos que fueron regados con anterioridad. Una vez ya colocados los explantes en cada recipiente se procedió a colocar los vasos plásticos de tapa con el propósito de mantener la humedad junto con una pequeña porción de algodón.

### **2.7.1.3 Influencia del grosor del esqueje en el enraizamiento de arándano.**

Se procedió a recolectar el material vegetal (explantes) de arándano var. Biloxi los mismos que fueron seleccionados dependiendo el grosor del tallo (1 mm, 2 mm y 4 mm) y cortados en pequeñas proporciones, se procedió a preparar la solución de ANA a una concentración de 100 ppm para así ser sumergidos los explantes en la auxina durante 15 minutos posteriormente fueron colocados en los recipientes que contienen el sustrato con la composición (40% fibra de coco, 20% pomina y 40 % turba). Una vez ya colocados los explantes en cada recipiente se procedió a colocar los vasos plásticos de tapa con el propósito de mantener la humedad junto con una pequeña porción de algodón.

**2.7.2 Objetivo N° 2 :** Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido MS

#### **2.7.2.1 Influencia de las diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio en el establecimiento *in vitro*.**

Se preparó las diferentes soluciones de hipoclorito de sodio a diferentes concentraciones (0,5%- 1%-1,5%-2%-2,5%-3%) las cuales servirán para la desinfección de los explantes de arándanos que serán sumergidos durante un periodo de cinco minutos para posteriormente colocarlos en agua des ionizada estéril y procederlos a sembrar en los frascos de vidrio que contienen el medio de cultivo a base de sales Ms, auxinas en una concentración de 100 ppm de ANA, sacarosa y Phytigel todo este procedimiento se realizó en la cámara de flujo laminar que fue desinfectada con anterioridad con alcohol al 70% . Además, se tuvo un control el mismo que fue sumergido por cinco minutos en agua des ionizada estéril y sembrados en los frascos de vidrio. Para cada concentración de hipoclorito de sodio se tuvo cinco repeticiones

### **2.7.2.2 Influencia de la composición del medio ms en el establecimiento *in vitro*.**

Para el levantamiento del presente ensayo se procedió a preparar los medios de cultivo a diferentes concentraciones de sales Ms (25%, 50 %, 75 % y 100 %) 3.6 g , Phytigel 0.9 y agua des ionizada estéril para aforar los Erlenmeyer a un volumen de 120 ml , posteriormente se autoclavo los medios de cultivo y se procedió a dispensar en los frascos de vidrio que fueron esterilizados con anterioridad este proceso fue realizado en la cámara de flujo laminar manteniendo todas las medidas de asepsia. Para la siembra de los segmentos nodales se procedió a recoger el material vegetal el cual fue lavado y cortado para ser sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 3 % durante 5 minutos y así colocarlos en cajas Petri que contengan agua des ionizada estéril para proceder a sembrarlos en los frascos de vidrio que contienen los medios de cultivo mencionados con anterioridad.

**TABLA N° 7.** Preparación de medio de cultivo

| <b>Sales Ms</b> | <b>Sacarosa</b> | <b>Phytigel</b> |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| 0,53 g          | 3.6 g           | 0.9 g           |

### **2.7.2.3 Factor influencia del tipo de auxina y la concentración para en el establecimiento *in vitro* de arándano**

En el laboratorio se procedió a preparar las soluciones madres (10x) de ANA, AIA y de AIB con el propósito de facilitar la preparación de las soluciones a diferentes concentraciones de auxinas para proceder a preparar el medio de cultivo el mismo que contiene sales Ms, auxinas las soluciones preparadas con anterioridad, sacarosa y Phytigel posteriormente se llevó dicho medio de cultivo al autoclave durante 40 minutos para proceder a dispensar 20 ml de dicha solución en los frascos de vidrio esterilizados con anterioridad todo este proceso se realizó en la cámara de flujo laminar previamente

desinfectada. El material vegetal utilizado en este ensayo fue lavado y cortado para ser sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 3 % durante 5 minutos y así colocarlos en cajas Petri que contengan agua des ionizada estéril para proceder a sembrarlos en los frascos de vidrio que contienen los medios de cultivo además para este ensayo se tiene un control el cual el medio de cultivo no contiene ninguna auxina en su composición. Dicho proceso se realizó manteniendo las medidas de asepsia.

**TABLA N° 6.** Preparación de auxinas a diversas concentraciones

| ANA            |       | AIA            |       | AIB            |       | Preparar un volumen de 100 ml                                   |
|----------------|-------|----------------|-------|----------------|-------|---|
| SOLUCIÓN MADRE | AGUA  | SOLUCIÓN MADRE | AGUA  | SOLUCIÓN MADRE | AGUA  |   |
| 10 ml          | 90ml  | 10 ml          | 90 ml | 30 ml          | 70 ml | -3 g de sacarosa<br>-0,44 g de sales Ms<br>-0,75 g de Phytigel. |
| 20 ml          | 80 ml | 15 ml          | 85 ml | 40 ml          | 60 ml |   |
| 25 ml          | 75 ml | 20 ml          | 80 ml | 50 ml          | 50 ml |   |
| 30 ml          | 70 ml | 25 ml          | 75 ml | 60 ml          | 40 ml |   |
| 35 ml          | 65 ml | 30 ml          | 70 ml | 70 ml          | 30 ml |   |

**2.7.3 Objetivo N° 3:** Obtener un banco de plantas juveniles de arándano variedad Biloxi establecidas bajo condiciones *in vitro*.

**2.7.3.1 Influencia de las condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.**

Para el levantamiento del presente ensayo se procedió a preparar el medio de cultivo a una composición estándar al 100 % véase en la TABLA N° 5, el mismo que fue autoclavado

para luego ser dispensado en los frascos de vidrio, posteriormente se procedió a sembrar para lo cual se recogió material vegetal, el mismo que fue lavado y cortado para ser sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 3 % durante 5 minutos y así colocarlos en cajas Petri que contengan agua des ionizada estéril para proceder a sembrarlos en los frascos de vidrio todo este proceso fue realizado en la cámara de flujo laminar manteniendo todas las medidas de asepsia. Una vez ya realizada la siembra los frascos fueron colocados en estanterías las cuales están ubicadas en iluminación solar, luz blanca fluorescente y otra en la oscuridad.

### **2.7.3.2 Influencia del tipo de frasco de cultivo en el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.**

En el presente ensayo se procedió a preparar el medio de cultivo a una composición estándar al 100 % véase en la TABLA N° 5, el mismo que fue autoclavado y dispensado en los diferentes frascos de vidrio y los frascos herméticos transparentes los mismos que fueron esterilizados con anterioridad. Para la siembra se procedió a realizar de igual manera que los anteriores ensayos manteniendo siempre las medidas de asepsia. Una vez ya terminado dicho proceso los frascos fueron colocados en estanterías con iluminación blanca fluorescente.

### **2.7.3.3 Influencia de la concentración de Phytigel en el medio semisólido para el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.**

Para el levantamiento del presente ensayo se procedió a preparar los medios de cultivo a diferentes concentraciones de Phytigel (0.25% , 0.50 % , 0.75 % , 1% y 1.25 % ) , Sales

Ms 0,53 g , sacarosa 3.6 g y agua des ionizada estéril para aforar los erlenmeyer a un volumen de 120 ml , posteriormente se autoclavó los medios de cultivo y se procedió a dispensar en los frascos de vidrio que fueron esterilizados con anterioridad este proceso fue realizado en la cámara de flujo laminar manteniendo todas las medidas de asepsia. Para la siembra de los segmentos nodales se procedió a recoger el material vegetal el cual fue lavado y cortado para ser sumergidos en una solución de hipoclorito de sodio al 3 % durante 5 minutos y así colocarlos en cajas Petri que contengan agua des ionizada estéril para proceder a sembrarlos en los frascos de vidrio que contienen los medios de cultivo mencionados con anterioridad, una vez, finalizado dicho proceso los frascos fueron colocados en estanterías con iluminación de luz blanca fluorescente.

## **2.8 Variables Respuesta**

**2.8.1 Objetivo N°1 :** Establecer un banco de plantas donantes de arándanos var. Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro*.

### **2.8.1.1. PORCENTAJE DE ESTABLECIMIENTO**

Esta variable fue medida mediante los siguientes rangos

- **1** = Esquejes sin establecer
- **1,5**= Esquejes verdes
- **2**= Esquejes establecidos

$$\% \text{ de establecimiento} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de segmentos nodales prendidos}}{\text{n}^\circ \text{ de segmentos nodales por tratamiento}} \times 100$$

**2.8.2 Objetivo N° 2 : Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido MS.**

### **2.8.2.1 PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN**

Esta variable fue medida mediante los siguientes rangos

- 2 = presencia de contaminantes
- 1= Ausencia de contaminantes

$$\% \text{ de contaminación} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de segmentos nodales contaminados}}{\text{n}^\circ \text{ de segmentos nodales por tratamiento}} \times 100$$

### **2.8.2.2 VIGOR**

Esta variable fue medida mediante los siguientes rangos

- 2 = Segmento nodal verde
- 1= Segmento nodal marchito

**2.8.3. Objetivo N° 3: Obtener un banco de plantas juveniles de arándano var. Biloxi establecidas bajo condiciones *in vitro*.**

### **2.8.3.1 PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN**

Esta variable fue medida mediante los siguientes rangos

- 2 = presencia de contaminantes.
- 1= Ausencia de contaminantes.

$$\% \text{ de contaminación} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de segmentos nodales contaminados}}{\text{n}^\circ \text{ de segmentos nodales por tratamiento}} \times 100$$

### **2.8.3.2 VIGOR**

Esta variable fue medida mediante los siguientes rangos

- **2** = Segmento nodal verde.
- **1** = Segmento nodal marchito.

## **2.9 Procesamiento de la información**

Los datos registrados serán analizados mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0. Para ello se evaluarán los criterios de distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov Smirnov y para determinar la homogeneidad de varianza se utilizará la prueba de Levene. Para aquellas variables cuyos datos cumplan con ambos requerimientos se realizará un ANOVA de clasificación simple. Para separar las medias se utilizará la prueba de Tuckey. Para las variables cuyos datos no cumplan los requerimientos de normalidad y homogeneidad de varianza se utilizará la prueba de Kruskal Wallis completado con una prueba de U Mann Whitney. Para un nivel de significación de un 95 %.

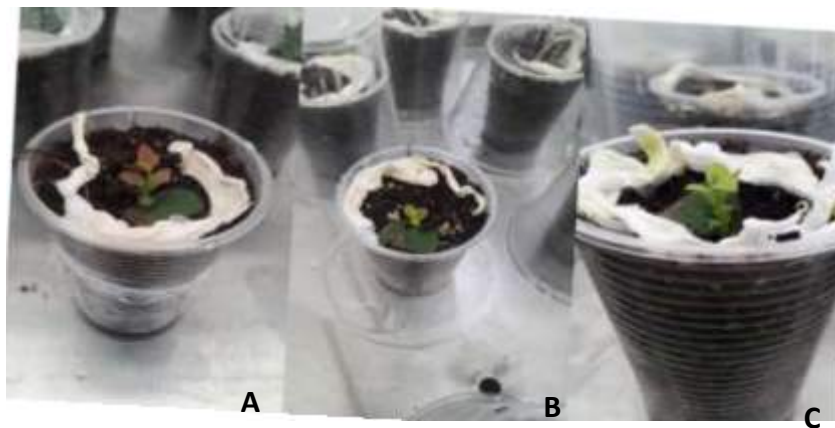


### CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Objetivo N°1 : Establecer un banco de plantas donantes de arándanos var. Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro*.

##### 3.1.1. Factor composición de sustrato y el tipo y concentración de auxinas en el establecimiento *ex vitro* de segmentos nodales de arándano (var. biloxi) en condiciones semicontroladas.

En relación al factor composición de sustrato y el tipo y concentración de auxinas se logró observar que no existen diferencias estadísticas entre ellos en cuanto al porcentaje de establecimiento. (TABLA N°8). Según **Castrillón *et al.*, (2008)** señala que el uso de sustratos que tengan en su composición mayor cantidad de turba no son recomendables para el enraizamiento del género *vaccinum* ya que la retención del agua es muy baja y de esa manera no se puede controlar la humedad. En relación a la concentración de auxinas **Hartmann *et al.*, (2002)** señala que los mejores resultados en cuanto al porcentaje de establecimiento lo tuvieron con la auxina AIB en una concentración de 200 ppm.



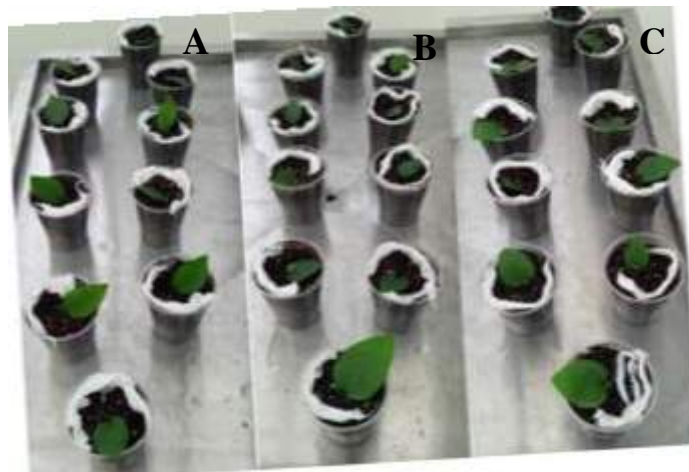
**Figura 1.** Plantas de arándanos obtenidas de las diferentes concentraciones de auxinas. auxina AIA (A), auxina AIB(B) y auxina ANA (A).

**TABLA N°8.** Influencia de la composición de sustratos y la concentración de auxinas en el establecimiento ex vitro de segmentos nodales de arándanos.

| Tratamiento | Evaluación 1<br>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 2<br>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 3<br>Tomada a los 30 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 4<br>Tomada a los 42 días de haber instalado el ensayo |               |
|-------------|---|---------------|---|---------------|---|---------------|---|---------------|
|             | <b>PORCENTAJE DE ESTABLECIMIENTO</b>                              |               |   |               |   |               |   |               |
|             | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales |
| <b>T1</b>   | 99,35   | 1,55          | 101,20  | 1,55          | 103,70  | 1,55          | 103,95  | 1,55          |
| <b>T2</b>   | 90,45   | 1,35          | 68,85   | 1,15          | 73,85   | 1,15          | 74,35   | 1,15          |
| <b>T3</b>   | 60,60   | 1,05          | 62,40   | 1,1           | 67,40   | 1,1           | 67,90   | 1,1           |
| <b>T4</b>   | 77,75   | 1,25          | 75,30   | 1,2           | 80,30   | 1,2           | 80,80   | 1,2           |
| <b>T5</b>   | 73,30   | 1,15          | 62,40   | 1,1           | 67,40   | 1,1           | 67,90   | 1,1           |
| <b>T6</b>   | 74,45   | 1,25          | 77,90   | 1,25          | 69,50   | 1,15          | 69,95   | 1,15          |
| <b>T7</b>   | 68,10   | 1,2           | 71,45   | 1,2           | 69,50   | 1,15          | 69,95   | 1,15          |
| <b>T8</b>   | 74,45   | 1,25          | 77,90   | 1,25          | 69,50   | 1,15          | 69,95   | 1,15          |
| <b>T9</b>   | 83,85   | 1,35          | 86,95   | 1,35          | 71,60   | 1,2           | 72,00   | 1,2           |
| <b>T10</b>  | 71,15   | 1,25          | 74,05   | 1,25          | 78,05   | 1,25          | 78,45   | 1,25          |
| <b>T11</b>  | 61,75   | 1,15          | 65,00   | 1,15          | 69,50   | 1,15          | 69,95   | 1,15          |
| <b>T12</b>  | 77,50   | 1,3           | 80,50   | 1,3           | 84,50   | 1,3           | 78,45   | 1,25          |
| <b>T13</b>  | 86,90   | 1,4           | 89,55   | 1,4           | 86,60   | 1,35          | 86,95   | 1,35          |
| <b>T14</b>  | 74,20   | 1,3           | 76,65   | 1,3           | 80,15   | 1,3           | 80,50   | 1,3           |
| <b>T15</b>  | 58,70   | 1,1           | 62,40   | 1,1           | 60,95   | 1,05          | 61,45   | 1,05          |

### 3.1.2. Influencia de la longitud del esqueje en el enraizamiento de arándano

En relación con el factor longitud de los segmentos nodales si tuvieron diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados a los 15, 24, 30 y 42 días de la instalación del ensayo (TABLA N°9). Según **Castro *et al.* (2019)** mencionó que la capacidad de establecimiento de segmentos nodales se ve ligada a ciertos factores entre uno de ellos la longitud por lo que en sus investigaciones recomienda una longitud de entre 2 a 7 cm, mientras que **Rodríguez (2017)** señaló que para obtener un buen porcentaje de enraizamiento los esquejes deben tener una longitud de 8 cm con el propósito de que contengan alrededor de 4 a 5 yemas y que el corte que se debe efectuar es en forma de bisel.



**Figura 2.** Siembra de segmentos nodales de arándano var. Biloxi de diferentes longitudes. 1 cm (A), 1,5 cm (B) y 3 cm (C)

**TABLA N°9.** Efecto de la longitud de segmentos nodales en el enraizamiento y brotación ex vitro de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) en condiciones semicontroladas.

| Tratamiento        | Evaluación 1<br>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 2<br>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 3<br>Tomada a los 30 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 4<br>Tomada a los 42 días de haber instalado el ensayo |               |
|--------------------|---|---------------|---|---------------|---|---------------|---|---------------|
|                    | <b>PORCENTAJE DE ESTABLECIMIENTO</b>                              |               |   |               |   |               |   |               |
|                    | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales |
| <b>T1 (1 cm)</b>   | 12,50 b   | 1,5           | 12,50 b   | 1,5           | 12,50 b   | 1,5           | 11,10 b   | 1,5           |
| <b>T2 (1,5 cm)</b> | 12,50 b   | 1,5           | 12,50 b   | 1,5           | 12,50 b   | 1,5           | 13,50 b   | 1,5           |
| <b>T3 (3 cm)</b>   | 21,50 a   | 1,8           | 21,50 a   | 1,8           | 21,50 a   | 1,8           | 21,90 a   | 1,8           |

### 3.1.3. Influencia del grosor del esqueje en el enraizamiento de arándano.

En relación con el factor grosor de los segmentos nodales se observó que aquellos que poseían 4mm o más de grosor fueron los que mayor porcentaje de enraizamiento mostraron (TABLA N°10). Además, los segmentos nodales de 2 mm y de 1mm no tuvieron diferencias estadísticas entre ellos. **Jiménez y Abdelnour (2017)** señalaron que en los ensayos de propagación vegetativa tradicional de arándano se utilizaron estacas semileñosas con un grosor de 5 mm de diámetro teniendo, así como resultado un 80 % de estacas que enraizaron en un tiempo de 5 meses que fueron sembradas.



**Figura 3.** Segmentos nodales de arándano var. Biloxi de diferentes grosores. 1 mm (A), 2 mm (B) y 3 mm (C)

**TABLA N°10.** Efecto del grosor de los segmentos nodales en el enraizamiento y brotación ex vitro de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) en condiciones semicontroladas

| Tratamiento       | Evaluación 1<br>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 2<br>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 3<br>Tomada a los 30 días de haber instalado el ensayo |               | Evaluación 4<br>Tomada a los 42 días de haber instalado el ensayo |               |
|-------------------|---|---------------|---|---------------|---|---------------|---|---------------|
|                   | <b>PORCENTAJE DE ESTABLECIMIENTO</b>                              |               |   |               |   |               |   |               |
|                   | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales |
| <b>T1 (1mm)</b>   | 13,50   | 1,5           | 13,50   | 1,5           | 13,50   | 1,5           | 14,00   | 1,5           |
| <b>T2 ( 2 mm)</b> | 16,50   | 1,5           | 16,50   | 1,6           | 16,50   | 1,6           | 16,90   | 1,6           |
| <b>T3 (3mm)</b>   | 16,50   | 1,5           | 16,50   | 1,6           | 16,50   | 1,6           | 15,60   | 1,6           |

**3.2. Objetivo N° 2 :** Determinar el tipo de explantes que se establecen con mayor éxito en medio de cultivo semisólido.

### **3.2.1. Influencia de diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio**

En relación con el factor agente de desinfección NaClO se observó que las concentraciones de hipoclorito de sodio al 2,5 y 3 % tuvieron un menor porcentaje de contaminación en relación a las demás concentraciones, existiendo así diferencias significativas entre los tratamientos en estudio (TABLA N° 11-12). En cuanto a la variable respuesta vigor de los segmentos nodales en la evaluación realizada a los 15 de la instalación del ensayo existen diferencias estadísticas (TABLA N°11) mientras en las evaluaciones realizadas a los 24 y 30 días no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos (TABLA N° 11-12). Estudios realizados por **Quispe (2019)** señaló que no obtuvieron ningún tipo de contaminación al realizar un protocolo similar al del estudio

con la diferencia de que se llevó a cabo un lavado adicional con Tween20, el mismo que elimina cualquier contaminante físico.



**Figura 4.** Establecimiento de segmentos nodales mediante la utilización de diferentes concentraciones de NaClO. A (2%), B (2,5%) y C (3%)

**TABLA N°11.** Efecto de la concentración del agente de desinfección NaClO en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo

| TRATAMIENTOS | Evaluación 1<br>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo |               |                |               | Evaluación 2<br>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo |               |                |               |
|--------------|---|---------------|----------------|---------------|---|---------------|----------------|---------------|
|              | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               |
|              | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales |
| NaClO-C1     | 24,50 a   | 2             | 9,50 b         | 1,2           | 23,00 a   | 2             | 12,00          | 1,2           |

|                 |          |     |          |     |         |     |       |     |
|-----------------|----------|-----|----------|-----|---------|-----|-------|-----|
| <b>NaClO-C2</b> | 21,00 a  | 1,8 | 20,00 a  | 1,8 | 23,00 a | 2   | 19,00 | 1,6 |
| <b>NaClO-C3</b> | 17,50 a  | 1,6 | 23,50 a  | 2   | 16,00 a | 1,6 | 19,00 | 1,6 |
| <b>NaClO-C4</b> | 17,50 a  | 1,6 | 13,00 ab | 1,4 | 19,50 a | 1,8 | 12,00 | 1,2 |
| <b>NaClO-C5</b> | 14,00 ab | 1,4 | 20,00 a  | 1,8 | 16,00 a | 1,6 | 19,00 | 1,6 |
| <b>NaClO-C6</b> | 7,00 b   | 1   | 23,50 a  | 2   | 5,50 b  | 1   | 26,00 | 2   |
| <b>CONTROL</b>  | 24,50 a  | 2   | 16,50 ab | 1,6 | 23,00 a | 2   | 19,00 | 1,6 |

**TABLA N°12.** Efecto de la concentración del agente de desinfección NaClO en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 30 días de la instalación del ensayo

| <b>TRATAMIENTOS</b> | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b> |                      | <b>VIGOR</b>          |                       |
|---------------------|------------------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
|                     | <b>RANGO PROMEDIO</b>              | <b>MEDIAS REALES</b> | <b>RANGO PROMEDIO</b> | <b>RANGO PROMEDIO</b> |
| <b>NaClO-C1</b>     | 21,50 a                            | 2                    | 12,00                 | 1,2                   |
| <b>NaClO-C2</b>     | 21,50 a                            | 2                    | 19,00                 | 1,6                   |
| <b>NaClO-C3</b>     | 21,50 a                            | 2                    | 19,00                 | 1,6                   |
| <b>NaClO-C4</b>     | 21,50 a                            | 2                    | 12,00                 | 1,2                   |
| <b>NaClO-C5</b>     | 14,50 a                            | 1,6                  | 19,00                 | 1,6                   |
| <b>NaClO-C6</b>     | 4,00 b                             | 1                    | 26,00                 | 2                     |
| <b>CONTROL</b>      | 21,50 a                            | 2                    | 19,00                 | 1,6                   |

### 3.2.2. Influencia de la composición del medio ms en el establecimiento *in vitro*.

En relación al factor Influencia de la composición del medio MS en el establecimiento *in vitro* se observó que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos tanto para la variable porcentaje de contaminación como vigor de los segmentos nodales (TABLA N°13 y 14). **Jiménez y Abdelnour (2017)** mencionaron que para el establecimiento de segmentos nodales *in vitro* la composición de sales Ms que tuvo mejores resultados fue la del 50% acompañada de concentraciones bajas de Zeatina  $0,1 \text{ mgL}^{-1}$  y  $120 \text{ gL}^{-1}$  de sacarosa logrando así obtener un 11,5% de establecimiento.



**Figura 5.** Establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano a diferentes composiciones de sales Ms. A (25%), B (50%), C (75%) y D (100%) de su composición estándar.



**TABLA N°13.** Efecto de la composición de sales MS en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15y 24 días de la instalación del ensayo.

| TRATAMIENTOS | Evaluación 1<br>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo |               |                |               | Evaluación 2<br>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo |               |                |               |
|--------------|---|---------------|----------------|---------------|---|---------------|----------------|---------------|
|              | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               |
|              | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales |
| MS- 25 %     | 10,50   | 1             | 10,50          | 2             | 10,50   | 1             | 10,50          | 2             |
| MS- 50%      | 10,50   | 1             | 10,50          | 2             | 10,50   | 1             | 10,50          | 2             |
| MS-75 %      | 10,50   | 1             | 10,50          | 2             | 10,50   | 1             | 10,50          | 2             |
| MS- 100 %    | 10,50   | 1             | 10,50          | 2             | 10,50   | 1             | 10,50          | 2             |

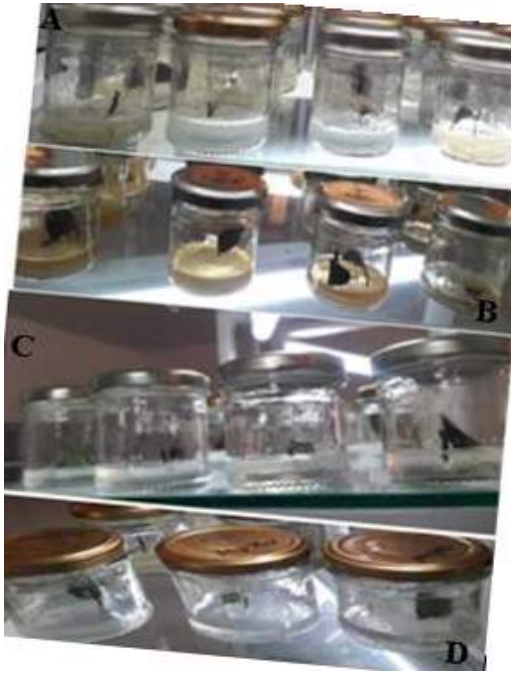
**TABLA N°14.** Efecto de la composición de sales MS en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 30 y 42 días de la instalación del ensayo.

| TRATAMIENTOS | Evaluación 3<br>Tomada a los 30 días de haber instalado el ensayo |               |                |               | Evaluación 4<br>Tomada a los 42 días de haber instalado el ensayo |               |                |               |
|--------------|---|---------------|----------------|---------------|---|---------------|----------------|---------------|
|              | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               |
|              | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales |
| MS- 25 %     | 8,50  | 1             | 10,50          | 2             | 8,50  | 1             | 11,00          | 2             |
| MS- 50%      | 8,50  | 1             | 10,50          | 2             | 8,50  | 1             | 11,00          | 2             |

|           |       |     |       |   |       |     |       |   |
|-----------|-------|-----|-------|---|-------|-----|-------|---|
| MS-75 %   | 12,50 | 1,4 | 10,50 | 2 | 12,50 | 1,4 | 11,00 | 2 |
| MS- 100 % | 12,50 | 1,4 | 10,50 | 2 | 12,50 | 1,4 | 11,00 | 2 |

### 3.2.3. Influencia del tipo de auxina y la concentración en el establecimiento *in vitro* de arándano.

En relación al factor influencia del tipo de auxina y la concentración para el enraizamiento *in vitro* de arándano se logró observar que el tratamiento sin auxinas fue el que tuvo mejores resultados en cuanto a las variables porcentaje de contaminación y vigor de los segmentos nodales en comparación a los demás tratamientos existiendo así diferencias estadísticas por lo tanto se puede mencionar que las variedades influyen de cierta manera en las respuestas al uso de fitohormonas para el desarrollo de brotes y nudos (Aquiye 2020). En cuanto a la variable vigor de los segmentos nodales en las evaluaciones realizadas a los 15,24 ,30 y 42 días de la instalación del mismo se observó que con el paso del tiempo empezaron a oxidarse y por lo tanto el vigor se vio afectado (TABLA N°15 y 16). Investigaciones realizadas por Ružić *et al.*, (2012) señalaron que la tasa de establecimiento más alta la obtuvieron mediante la utilización de concentraciones más bajas de auxinas complementado con la adición de carbón activado 4 g/l.



**Figura 6.** Enraizamiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano en diferentes concentración y tipo de auxinas. Auxina AIA (A), Auxina AIB (B), Auxina ANA (C) y Control (D).

**TABLA N° 15.** Evaluación de la incidencia de contaminantes y del vigor de los segmentos nodales establecidos en el medio de cultivo MS a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo.

| <b>TRATAMIENTOS</b> | <b>Evaluación 1</b>                                      |                      |                       |                      | <b>Evaluación 2</b>                                      |                      |                       |                      |
|---------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------|
|                     | <b>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo</b> |                      |                       |                      | <b>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo</b> |                      |                       |                      |
|                     | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b>                       |                      | <b>VIGOR</b>          |                      | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b>                       |                      | <b>VIGOR</b>          |                      |
|                     | <b>Rango promedio</b>                                    | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b> | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b>                                    | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b> | <b>Medias Reales</b> |
| AIA-C1              | 45,50 a  | 1,5                  | 41,50 abc             | 1,5                  | 45,50 ab   | 1,5                  | 41,50 ab              | 1,5                  |
| AIA-C2              | 53,50 a  | 1,75                 | 49,50 ab              | 1,75                 | 53,50 a  | 1,75                 | 49,50 a               | 1,75                 |
| AIA-C3              | 29,50 b  | 1                    | 57,50 a               | 2                    | 29,50 b  | 1                    | 57,50 a               | 2                    |
| AIA-C4              | 37,50 a  | 1,25                 | 25,50 c               | 1                    | 37,50 ab   | 1,25                 | 25,50 b               | 1                    |
| AIA-C5              | 29,50 b  | 1                    | 33,50 bc              | 1,25                 | 29,50 b  | 1                    | 33,50 b               | 1,25                 |
| AIB-C1              | 29,50 b  | 1                    | 25,50 c               | 1                    | 29,50 b  | 1                    | 25,50 b               | 1                    |

|                |         |   |         |   |         |   |         |   |
|----------------|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|
| AIB-C2         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| AIB-C3         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| AIB-C4         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| AIB-C5         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| ANA-C1         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| ANA-C2         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| ANA-C3         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| ANA-C4         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| ANA-C5         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 25,50 b | 1 |
| <b>CONTROL</b> | 29,50 b | 1 | 57,50 c | 2 | 29,50 b | 1 | 57,50 b | 2 |

**TABLA N° 16.** Evaluación de la incidencia de contaminantes y del vigor de los segmentos nodales establecidos en el medio de cultivo MS a los 30 y 42 días de la instalación del ensayo.

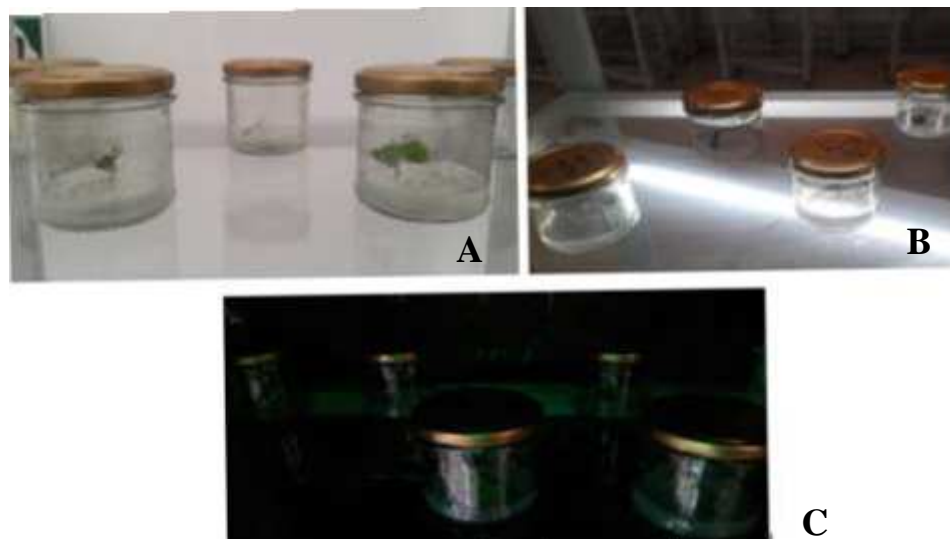
| <b>TRATAMIENTOS</b> | <b>Evaluación 3</b><br>Tomada a los 30 días de haber instalado el ensayo |                      |                       |                      | <b>Evaluación 4</b><br>Tomada a los 42 días de haber instalado el ensayo |                      |                       |                      |
|---------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------|
|                     | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b>                                       |                      | <b>VIGOR</b>          |                      | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b>                                       |                      | <b>VIGOR</b>          |                      |
|                     | <b>Rango promedio</b>  | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b> | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b>  | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b> | <b>Medias Reales</b> |
| AIA-C1              | 45,50 ab   | 1,5                  | 43,50 ab              | 1,5                  | 45,50 ab   | 1,5                  | 30,50 b               | 1                    |
| AIA-C2              | 53,50 a  | 1,75                 | 27,50 b               | 1                    | 53,50 a  | 1,75                 | 30,50 b               | 1                    |
| AIA-C3              | 29,50 b  | 1                    | 59,50 a               | 2                    | 29,50 b  | 1                    | 30,50 b               | 1                    |
| AIA-C4              | 37,50 ab   | 1,25                 | 27,50 b               | 1                    | 37,50 ab   | 1,25                 | 30,50 b               | 1                    |

|                |         |   |         |   |         |   |         |   |
|----------------|---------|---|---------|---|---------|---|---------|---|
| AIA-C5         | 29,50 b | 1 | 27,50 b | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| AIB-C1         | 29,50 b | 1 | 27,50 b | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| AIB-C2         | 29,50 b | 1 | 27,50 b | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| AIB-C3         | 29,50 b | 1 | 27,50 b | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| AIB-C4         | 29,50 b | 1 | 27,50 b | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| AIB-C5         | 29,50 b | 1 | 27,50 b | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| ANA-C1         | 29,50 b | 1 | 27,50 b | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| ANA-C2         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| ANA-C3         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| ANA-C4         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| ANA-C5         | 29,50 b | 1 | 25,50 c | 1 | 29,50 b | 1 | 30,50 b | 1 |
| <b>CONTROL</b> | 29,50 b | 1 | 57,50 c | 2 | 29,50 b | 1 | 62,50 a | 2 |

**3.3. Objetivo N° 3: Obtener un banco de plantas juveniles de arándano var. Biloxi establecidas bajo condiciones *in vitro*.**

**5.3.1. Influencia de condiciones de iluminación en el establecimiento *In vitro* de plantas de arándanos.**

En relación con el factor influencia de condiciones de iluminación se pudo observar que durante los primeros 24 días de haber instalado el ensayo no mostraron diferencias estadísticas en las variables de estudio (TABLA N°17) mientras que a los 30 y 42 días de la instalación del mismo se determinó que los mejores resultados en cuanto al vigor de los segmentos nodales se los obtuvo en el tratamiento de oscuridad (TABLA N°18). En cuanto a la iluminación solar y luz fluorescente no mostraron diferencias estadísticas, en cuanto al porcentaje de contaminación. **Mora (2010)** señaló que los ensayos instalados en su investigación tuvieron mejores resultados al ser almacenados en el cuarto de incubación con un fotoperiodo de 16 horas con luz blanca fría fluorescente de 75 W.



**Figura 7.** Establecimiento *in vitro* de segmentos nodales bajo diferentes condiciones de iluminación. Iluminación solar (A), Iluminación fluorescente (B) y Oscuridad (C).



**TABLA N°17.** Efecto de diferentes condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo.

| TRATAMIENTOS      | Evaluación 1<br>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo |               |                |               | Evaluación 2<br>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo |               |                |               |
|-------------------|---|---------------|----------------|---------------|---|---------------|----------------|---------------|
|                   | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               |
|                   | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales |
| Iluminación solar | 8,00  | 1,2           | 6,00           | 1,6           | 9,00  | 1,4           | 6,00           | 1,6           |
| Luz fluorescente  | 8,00  | 1,2           | 9,00           | 2             | 7,50  | 1,2           | 9,00           | 2             |
| Oscuridad         | 8,00  | 1,2           | 9,00           | 2             | 7,50  | 1,2           | 9,00           | 2             |

**TABLA N°18.** Efecto de diferentes condiciones de iluminación en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 30 y 42 días de la instalación del ensayo.

| TRATAMIENTOS      | Evaluación 3<br>Tomada a los 30 días de haber instalado el ensayo |               |                |               | Evaluación 4<br>Tomada a los 42 días de haber instalado el ensayo |               |                |               |
|-------------------|---|---------------|----------------|---------------|---|---------------|----------------|---------------|
|                   | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               |
|                   | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales |
| Iluminación solar | 7,50  | 1,4           | 5,00 b         | 1,2           | 8,00  | 1,4           | 5,00 b         | 1,2           |
| Luz fluorescente  | 9,00  | 1,6           | 8,00 b         | 1,6           | 8,00  | 1,4           | 8,00 b         | 1,6           |
| Oscuridad         | 7,50  | 1,4           | 11,00 a        | 2             | 8,00  | 1,4           | 11,00 b        | 2             |

### 3.3.2. Influencia del tipo de frasco de cultivo en el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.

En relación con el factor tipo de frasco de cultivo se pudo observó que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados durante los 42 días que se instaló el presente ensayo (TABLA N°19 y 20). **Brenes *et al.*, (2014)** en su investigación señalaron que para el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales utilizaron tubos de ensayos de 25 mm de diámetro y que cada uno de ellos contenía 10 ml de medio de cultivo Murashige y Skoog suplementados con  $2.0 \text{ mgL}^{-1}$  (BAP),  $3 \text{ gL}^{-1}$  de sacarosa y  $2 \text{ gL}^{-1}$  de Phytigel obteniendo así un porcentaje de establecimiento del 18 % en la variedad Sharplue en cambio para la variedad Woodard un porcentaje del 54% generando así excelentes resultados mediante la utilización del protocolo antes mencionado.



**Figura 8.** Establecimiento *in vitro* de segmentos nodales en diferentes tipos de frasco. Frasco de vidrio (A) y Frasco de plástico hermético (B).

**TABLA N°19.** Influencia del tipo de frasco en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo.

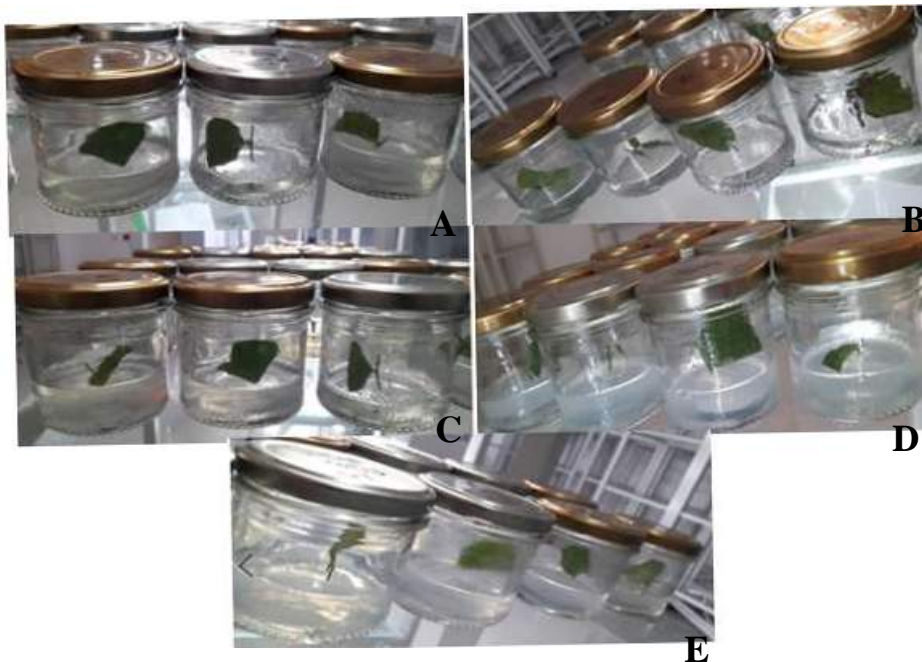
| <b>TRATAMIENTOS</b> | <b>Evaluación 1</b><br>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo |                      |                       |                      | <b>Evaluación 2</b><br>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo |                      |                       |                      |
|---------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------|
|                     | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b>                                       |                      | <b>VIGOR</b>          |                      | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b>                                       |                      | <b>VIGOR</b>          |                      |
|                     | <b>Rango promedio</b>  | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b> | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b>  | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b> | <b>Medias Reales</b> |
| Frasco de vidrio    | 5,50   | 1                    | 5,50                  | 2                    | 5,50   | 1                    | 5,50                  | 2                    |
| Frasco de plástico  | 5,50   | 1                    | 5,50                  | 2                    | 5,50   | 1                    | 5,50                  | 2                    |

**TABLA N°20.** Influencia del tipo de frasco en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 30 y 42 días de la instalación del ensayo.

| <b>TRATAMIENTOS</b> | <b>Evaluación 3</b><br>Tomada a los 30 días de haber instalado el ensayo |                      |                       |                      | <b>Evaluación 4</b><br>Tomada a los 42 días de haber instalado el ensayo |                      |                       |                      |
|---------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------|--|----------------------|-----------------------|----------------------|
|                     | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b>                                       |                      | <b>VIGOR</b>          |                      | <b>PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN</b>                                       |                      | <b>VIGOR</b>          |                      |
|                     | <b>Rango promedio</b>  | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b> | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b>  | <b>Medias Reales</b> | <b>Rango promedio</b> | <b>Medias Reales</b> |
| Frasco de vidrio    | 5,50   | 1                    | 5,50                  | 2                    | 5,50   | 1                    | 5,50                  | 2                    |
| Frasco de plástico  | 5,50   | 1                    | 5,50                  | 2                    | 5,50   | 1                    | 5,50                  | 2                    |

### 3.3.3. Influencia de la concentración de Phytigel en el medio semisólido para el establecimiento *in vitro* de plantas de arándanos.

En relación con el factor concentración de Phytigel se pudo observar que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos evaluados tanto en la variable porcentaje de contaminación como en la variable vigor de los segmentos nodales durante los 42 días que se evaluó el ensayo (TABLA N°21 y 22). **Brenes *et al.*, (2014)** mencionó en su investigación que al momento de preparar los medios de cultivo es recomendable utilizar  $2 \text{ gL}^{-1}$  de Phytigel para obtener un porcentaje significativo de establecimiento *in vitro* de segmentos nodales señalando también que dicha cantidad es que viene recomendada en los diferentes envases del producto antes mencionado.



**Figura 9.** Establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándano en diferentes concentraciones de Phytigel. 0,25 % (A), 0,50 % (B), 0,75% (C), 1,00% (D) y 1,25% (E).

**TABLA N°21.** Influencia de la concentración de Phytigel en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 15 y 24 días de la instalación del ensayo.

| TRATAMIENTOS        | Evaluación 1<br>Tomada a los 15 días de haber instalado el ensayo |               |                |               | Evaluación 2<br>Tomada a los 24 días de haber instalado el ensayo |               |                |               |
|---------------------|---|---------------|----------------|---------------|---|---------------|----------------|---------------|
|                     | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               |
|                     | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales |
| C1-PHYTAGEL (0,25%) | 25,50   | 1             | 25,50          | 2             | 18,00   | 1,1           | 26,00          | 2             |
| C2-PHYTAGEL (0,50%) | 25,50   | 1             | 25,50          | 2             | 25,50   | 1,4           | 26,00          | 2             |
| C3-PHYTAGEL (0,75%) | 25,50   | 1             | 25,50          | 2             | 25,50   | 1,4           | 26,00          | 2             |
| C4-PHYTAGEL (1,00%) | 25,50   | 1             | 25,50          | 2             | 33,00   | 1,7           | 26,00          | 2             |
| C5-PHYTAGEL (1,25%) | 25,50   | 1             | 25,50          | 2             | 25,50   | 1,4           | 23,50          | 1,9           |

**TABLA N°22.** Influencia de la concentración de Phytigel en el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos (var. Biloxi) y el vigor de los brotes a los 30 y 42 días de la instalación del ensayo.

| TRATAMIENTOS        | Evaluación 3<br>Tomada a los 30 días de haber instalado el ensayo |               |                |               | Evaluación 4<br>Tomada a los 42 días de haber instalado el ensayo |               |                |               |
|---------------------|---|---------------|----------------|---------------|---|---------------|----------------|---------------|
|                     | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               | PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN                                       |               | VIGOR          |               |
|                     | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales | Rango promedio  | Medias Reales | Rango promedio | Medias Reales |
| C1-PHYTAGEL (0,25%) | 19,00   | 1,3           | 26,00          | 2             | 19,00   | 1,3           | 26,00          | 2             |
| C2-PHYTAGEL (0,50%) | 21,50   | 1,4           | 26,00          | 2             | 21,50   | 1,4           | 26,00          | 2             |

|                        |       |     |       |     |       |     |       |     |
|------------------------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
| C3-PHYTAGEL<br>(0,75%) | 29,00 | 1,7 | 26,00 | 2   | 29,00 | 1,7 | 26,00 | 2   |
| C4-PHYTAGEL<br>(1,00%) | 31,50 | 1,8 | 26,00 | 2   | 31,50 | 1,8 | 26,00 | 2   |
| C5-PHYTAGEL<br>(1,25%) | 26,50 | 1,6 | 23,50 | 1,9 | 26,50 | 1,6 | 23,50 | 1,9 |

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 CONCLUSIONES

Se obtuvo un banco de plantas donantes de arándanos variedad Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro* mediante el enraizamiento de esquejes para el establecimiento de explantes *in vitro* en un medio de cultivo semisólido utilizando como sistema de regeneración la organogénesis directa con el propósito de mantener la conservación de la diversidad genética, logrando así mejorar la calidad nutricional y la adaptabilidad de los cultivos a ciertos factores tales como: extremas temperaturas, salinidad de los suelos, sequías entre otras, las cuales pueden perturbar de manera directa a la obtención de productos de calidad.

Se estableció un banco de plantas donantes de arándanos variedad Biloxi en condiciones semicontroladas *ex vitro* como punto de partida para el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales.

El sustrato compuesto por 40% fibra de coco + 20 % pomina + 40% turba, el grosor del tallo de 3mm, la longitud de 3 cm del segmento nodal, la auxina ANA y el hipoclorito al 2,5-3% como desinfectante, fueron las características que favorecieron un mayor éxito en el establecimiento *in vitro* de los explantes en el medio de cultivo semisólido MS.

Se establecieron plantas *in vitro* las cuales conformarán un banco de plantas donantes con características juveniles, que permitirán desarrollar a futuro la fase de multiplicación de la variedad Biloxi.

## 4.2. RECOMENDACIONES

Evaluar el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos variedad Biloxi en el medio de cultivo WPM.

Determinar la influencia de antioxidantes para evaluar el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales de arándanos variedad Biloxi.

Desarrollar la fase de multiplicación a partir del banco de plantas donantes *in vitro* establecido.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aquije, J. 2020. Establecimiento *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) - variedad Biloxi. (en línea). Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero Agrónomo en el Grado Académico de Licenciatura. Zamorano- Honduras, 22pp. Consultado 09 jun. 2021. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6832/1/CPA-2020-T010.pdf>
- Arista, J; Leiva, S; Guerrero, J y Collazos, R. 2019. Efecto de las citoquininas en la multiplicación *in vitro* de cuatro variedades de *Vaccinium corymbosum*, a partir de segmentos nodales. (en línea). Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería 1(2): 55-62. Consultado el 30 de jun. de 2021. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.25127/ucni.v2i2.520>.
- Brenes, A; Castillo, R; Gómez. 2014. MICROPROPAGACIÓN DE CUATRO CULTIVARES DE ARÁNDANO (*Vaccinium spp.*) A PARTIR DE SEGMENTOS FOLIARES DE DOS PROCEDENCIAS. (En línea). Agronomía Costarricense 39(1): 7-23. Consultado 08 febrero 2021. Disponible en: [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v39n01\\_007.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v39n01_007.pdf)



- Cardenal, L; Pacheco, J. 2010. Propagación *in vitro* de plantas adultas de *Vaccinium meridionale* (Ericaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 24(4), 1086-1095. Consultado 08 febrero 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062010000400024>
- Castillo, A. (2004). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo. *Las Brujas, Uruguay: AR-VITRO, INIA*, 8. Consultado 03 febrero 2021. Disponible en: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/410/1/111219220807102417.pdf>.
- Castro, A. 2016. “Mejora de la propagación *in vitro* de *Vaccinium corymbosum* y evaluación de la actividad antioxidante en arándanos comerciales”. (En línea). UNIVERSIDAD DA CORUÑA. Tesis. Master de Biología Molecular, Celular y Genética. La Coruña – España. p. 30-35. Consultado 03 febrero 2021. Disponible en: [https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/17519/CastroFernandez\\_AnaMaria\\_TFM\\_2016.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/17519/CastroFernandez_AnaMaria_TFM_2016.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Castrillón, J; Carvajal, E; Ligarreto, G; Magnitskiy, S. 2008. El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. (en línea). *Agronomía Colombiana*, 26(1),16-22. Consultado: 06 jun. 2021. ISSN: 0120-9965. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180314729003>
- Castro, D.; Álvarez, J. 2013. Micropropagación clonal de tres genotipos mortiño, *Vaccinium meridionale sw.*, por proliferación de yemas axilares. *Actualidades Biológicas*, 35(99), 135-144. Consultado 05 de febrero 2021. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/329114>
- Castro, S; Villegas, A; Contreras, R. 2019. Enraizamiento de estacas en tres cultivares de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). (en línea). Colegio de Postgraduados,

Campus Montecillo, Programa Fisiología Vegetal. Texcoco, Estado de México, México. 6 pp. Consultado 9 de jun. 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.32854/agrop.v0i0.1328>

García, J; García, G; Ciordia, M. 2018. El cultivo del arándano en el norte de España (en línea). Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIA). Consejería de Desarrollo Rural y Recursos Naturales del Principado de Asturias. Madrid – España. Pp. 194. Consultado 02 de jul. 2021. Disponible en: <http://www.serida.org/pdfs/7452.pdf>.

Gómez, H; Esquivel, A. 2013. Establecimiento in vitro de arándano *V. corymbosum* L. (en línea). Tecnología en Marcha. Vol. 26. N° 4. Costa Rica. Pp. 64- 71. Consultado: 21 de may. Del 2021. Disponible en: <file:///C:/Users/hp/Downloads/Dialnet-EstablecimientoInVitroDeArandanoVacciniumCorymbosu-4835416.pdf>

González, A; Morales, C; Riquelme, J; Hirzel, J; France, A; Pedreros; A; Uribe, h; Robledo, P y Becerra, A. 2017. Manual de manejo agronómico del arándano. (en línea). Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Santiago- Chile. Pp. 1-98. Consultado: 17 de May. 2021. Disponible en: <https://www.indap.gob.cl/docs/default-source/default-document-library/manual-arandanos.pdf?sfvrsn=0>

Hartmann, H; Kester, J; Davies, F; Genève, R. 2002. Plant propagation principles and practices. (en línea). 7th Edition. Prentice Hall. 710 p. Consultado: 06 jun. 2021. Disponible en: <https://journals.ashs.org/hortsci/view/journals/hortsci/53/5/article-p741.xml>.

Jiménez, V; Abdelnour, A. 2017. Protocolo de micropropagación de arándano nativo de Costa Rica (*Vaccinium consanguineum*). (En línea). Tecnología en Marcha.

31(1):144-159. Disponible en: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/tem/v31n1/0379-3982-tem-31-01-144.pdf>.

Jiménez; A. 2013. Cultivo *in vitro* y macropropagación como vía de sostenibilidad de la propagación de especies forestales. *Biotecnología Vegetal*, 13(1). Disponible en: <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/89/456>.

Lerma, S; García, D; Niño, W; Díaz W. 2019. Propagación *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) a partir de yemas axilares. *Revista Siembra CBA*, (2), 9-19. Consultado 03 de febrero 2021. Disponible en <http://revistas.sena.edu.co/index.php/Revsiembracba/article/view/3547>

Lostanau, G. 2015. Efecto De Diferentes Concentraciones De Ácido Giberélico En La Multiplicación De Arándano (*Vaccinium Corwnbosum* Cv. *Biloxi*), En La Provincia De Huaraz. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela Académico Profesional de Agronomía. Consultado 06 de febrero 2021. Disponible en: <http://repositorio.unasam.edu.pe/bitstream/handle/UNASAM/1092/T%20877%202015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Mora, H. 2010. "Organogénesis *in vitro* de arándano *vaccinium corymbosum* L." Instituto Politécnico Nacional Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional. Jiquilpan- Michoacán. Pp. 1-60. Consultado en línea. 03 febrero 2021. Disponible en: [https://repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/8007/1/Hugo%20Victoria no%20Mora%20-Mar2010.pdf](https://repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/8007/1/Hugo%20Victoria%20Mora%20-Mar2010.pdf)

Nowakowska, K; Pacholczak, A. 2017. Analysis of genetic stability in the ex vitro rooted microcuttings of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta Scientiarum Polonorum-Hortorum Cultus*, 16(5), Pp. 19-27. Consultado: 10 febrero 2021. Disponible en:

<http://www.acta.media.pl/pl/full/7/2017/000070201700016000050001900028.pdf>

- Palma, I. 2010. Evaluación Del Efecto De Diferentes Tipos Y Dosis De Auxinas Sobre El Enraizamiento Ex Vitro De Microtallos De Arándano (*Vaccinium Corymbosum L.*) Variedades Brigitta Y Legacy. Universidad De La Frontera Facultad De Ciencias Agropecuarias Y Forestales. Temuco – Chile. Pp. 58. Consultado 08 febrero 2021. Disponible en: <file:///C:/Users/Dell-pc/Downloads/tesis%20arandano%20marco%20teorico.pdf>
- Rache, L; Pacheco, José. 2010. Propagación *in vitro* de plantas adultas de *Vaccinium meridionale* (Ericaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 24(4), 1086-1095. Consultado 03 de febrero 2021. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062010000400024>
- Ribón, A; Bernal, I. 2020. PROTOCOLO DE ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE SEGMENTOS NODALES DE ARÁNDANO AZUL (*Vaccinium corymbosum L.*) CV BILOXI. Universidad Distrital Francisco José De Caldas. Facultad De Ciencias Y Educación. Licenciatura En Biología. Bogotá D. C. Pp. 102. Consultado 09 febrero 2021. Disponible en: <https://repository.udistrital.edu.co/bitstream/handle/11349/25242/Rib%C3%B3nBarraganAnngyYurani%26BernalP%C3%A9rezIngryJohanna2020.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Rico, M. 2016. Efecto del nitroprusiato de sodio en la regeneración *in vitro* de un híbrido del género *Polianthes*. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco, A.C. Pp. 128. Consultado 09 de febrero 2021. Disponible en: <https://ciatej.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1023/93/1/Margarita%20Elizabeth%20Rico%20Lemus.pdf>

- Rodríguez, B; Marcelo, M. y Morales, U. (2015). Efecto de la densidad de explantes y el volumen de medio de cultivo sobre la multiplicación *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) variedades Brigitta y Legacy. *Scientia Agropecuaria*, 6(1), 31-40. Consultado: 03 febrero 2021. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2015.01.03>
- Rodríguez, M .2017. Propagación de arándanos. (en línea). Escuela de Agronomía. Facultad de Recursos Naturales. Universidad Católica de Temuco. Chile .8 pp. Consultado 09 de jun. 2021. Disponible en: <https://docplayer.es/36915643-Propagacion-de-arandanos.html>
- Ružić, D; Tatjana, V; Libiakova, G; Cerovic, R; Gajdosova, A. 2012. Micropropagation *in vitro* of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). (en línea). Institute of Plant Genetics and Biotechnology SAS, Nitra, Slovak Republic. Fruit Research Institute, Cacak, Serbia. 2 (2012) 97–103. Consultado 09 jun. 2021. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/286417286\\_MICROPROPAGATION\\_IN\\_VITRO\\_OF\\_Highbush\\_BLUEBERRY\\_VACCINIUM\\_CORYMBOSUM\\_L](https://www.researchgate.net/publication/286417286_MICROPROPAGATION_IN_VITRO_OF_Highbush_BLUEBERRY_VACCINIUM_CORYMBOSUM_L)
- Sánchez, E. 2013. Reguladores de crecimiento empleados en la fruticultura. (en línea). Rompecabezas Tecnológico. no. 39: 15-22. Consultado 13 ago. 2020. Disponible en [http://www.inta.gov.ar/altovalle/info/biblo/rompecabezas/pdfs/rompe39\\_sanchez.pdf](http://www.inta.gov.ar/altovalle/info/biblo/rompecabezas/pdfs/rompe39_sanchez.pdf)
- Trauco, M. 2017. Efecto de cuatro concentraciones de Citoquininas en la multiplicación “*in vitro*” de Arándano (*Vaccinium corymbosum*. L). cv. Biloxy, Trujillo–La Libertad. Pp. 72. Consultado: 08 febrero 2021. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/9944/Trauco%20Vilcarromero%20Mariela.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Toro, M. 2009. Mejoramiento Del Proceso De Propagación *In Vitro* De Plantas De Arándano Para Las Variedades Bluecrop, Duke Y Misty. Santiago – Chile. Pp. 38. Consultado 10 febrero 2021. Disponible en: [http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112441/Memoria\\_marisol.pdf?sequence=1](http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112441/Memoria_marisol.pdf?sequence=1)
- Vilaró, F; Soria, J. 2006. El cultivo de arándanos. (En línea). Anuarios OPYPA 2006: s.p. Consultado 13 ago. 2020. Disponible en [http://www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario06/docs/20%20%20A RANDANO%20VILARO.pdf](http://www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario06/docs/20%20%20A%20RANDANO%20VILARO.pdf)
- Yamamoto, L; Assis, A; Koyama, R; Borges, W; Favetta, V; Antunes, L; Roberto, S. R. 2017. Substrates and IBA concentrations on rooting of herbaceous cuttings of blueberry ‘Woodard’. *Agronomy Science and Biotechnology*, 3(2), 113-113. Consultado 09 febrero 2021. Disponible en: <https://doi.org/10.33158/ASB.2017v3i2p113>

## ANEXOS

### Anexo 1. Obtención del material vegetal



Selección de material vegetal para la instalación de los ensayos *in vitro* y *ex vitro*



Obtención de plantas de arándano

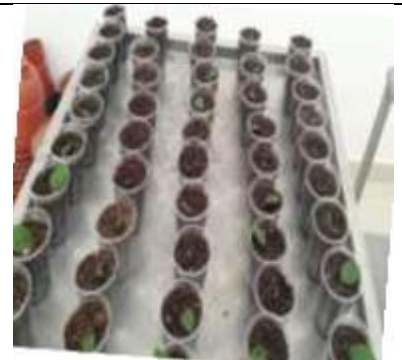
### Anexo 2. Instalación de ensayos *ex vitro*



Colocación del sustrato en los vasos plásticos



Explantes de arándanos sumergidos en auxina ANA



Siembra de explantes de arándano

|   |  |   |
|---|--|---|
|  |  |  |
| <p>Colocación de pequeñas porciones de algodón alrededor de los vasos</p>         | <p>Colocación de vasos plásticos en la parte superior de los contenedores.</p>     | <p>Planta de arándano obtenida de los ensayos <i>ex vitro</i></p>                   |

**Anexo N°3.** Instalación de ensayos *in vitro*

|  |   |  |
|--|---|--|
|  |  |  |
| <p>Preparación de medios de cultivo</p>  | <p>Preparación de disoluciones de hipoclorito de sodio</p>                          | <p>Siembra de segmentos nodales para ensayos <i>in vitro</i></p>                     |





**Anexo N° 4.** Plantas de arándano var. Biloxi obtenidas de la siembra masiva



**Anexo N° 5 Análisis estadístico**

**Factor Grosor del tallo**

| Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup> |              |              |              |              |
|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                                       | Evaluación 1 | Evaluación 2 | Evaluación 3 | Evaluación 4 |
| H de Kruskal-Wallis                   | 14,500       | 14,500       | 14,500       | 13,879       |
| gl                                    | 2            | 2            | 2            | 2            |
| Sig. asintótica                       | 0,001        | 0,001        | 0,001        | 0,001        |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

**Factor longitud del esqueje**

| <b>Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup></b> |                 |                 |                 |                 |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|   | Evaluación<br>1 | Evaluación<br>2 | Evaluación<br>3 | Evaluación<br>4 |
| H de Kruskal-Wallis                         | 2,231           | 2,231           | 2,231           | 1,298           |
| gl  | 2               | 2               | 2               | 2               |
| Sig. asintótica                             | ,328            | ,328            | ,328            | ,522            |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

**Factor Agente de desinfección**

| <b>Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup></b> |                                  |            |                                  |           |                                  |           |
|---|----------------------------------|------------|----------------------------------|-----------|----------------------------------|-----------|
|   | Porcentaje de<br>establecimiento | Vigor      | Porcentaje de<br>establecimiento | Vigor     | Porcentaje de<br>establecimiento | Vigor     |
| H de<br>Kruskal-<br>Wallis                  | 15,692                           | 12,3<br>64 | 18,768                           | 8,94<br>7 | 26,714                           | 8,9<br>47 |
| gl  | 6                                | 6          | 6                                | 6         | 6                                | 6         |
| Sig.<br>asintótica                          | ,016                             | ,050       | ,005                             | ,177      | ,000                             | ,17<br>7  |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

## Factor composición de sales Ms

|                     | Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup> |       |                               |       |                               |       |                               |       |
|---------------------|---------------------------------------|-------|-------------------------------|-------|-------------------------------|-------|-------------------------------|-------|
|                     | Porcentaje de establecimiento         | Vigor | Porcentaje de establecimiento | Vigor | Porcentaje de establecimiento | Vigor | Porcentaje de establecimiento | Vigor |
| H de Kruskal-Wallis | ,000                                  | 4,750 | ,000                          | ,000  | ,000                          | ,000  | 4,750                         | 3,000 |
| gl                  | 3                                     | 3     | 3                             | 3     | 3                             | 3     | 3                             | 3     |
| Sig. asintótica     | 1,000                                 | ,191  | 1,000                         | 1,000 | 1,000                         | 1,000 | ,191                          | ,392  |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

## Factor iluminación

|                     | Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup> |       |                               |       |                               |       |                               |       |
|---------------------|---------------------------------------|-------|-------------------------------|-------|-------------------------------|-------|-------------------------------|-------|
|                     | Porcentaje de establecimiento         | Vigor | Porcentaje de establecimiento | Vigor | Porcentaje de establecimiento | Vigor | Porcentaje de establecimiento | Vigor |
| H de Kruskal-Wallis | ,000                                  | 4,308 | ,636                          | 4,308 | ,500                          | 6,222 | ,000                          | 6,222 |
| gl                  | 2                                     | 2     | 2                             | 2     | 2                             | 2     | 2                             | 2     |
| Sig. asintótica     | 1,000                                 | ,116  | ,727                          | ,116  | ,779                          | ,045  | 1,000                         | ,045  |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001

## Factor tipo de Frasco

|  | Estadísticos de prueba <sup>a</sup> |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
|--|-------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|  | Porcenta<br>je de                   | Vigor              | Porcenta<br>je de  | Vigor              | Porcenta<br>je de  | Vigor              | Porcenta<br>je de  | Vigor              |
| U de Mann-Whitney                                | 12,500                              | 12,500             | 12,500             | 12,500             | 12,500             | 12,500             | 12,500             | 12,500             |
| W de Wilcoxon                                    | 27,500                              | 27,500             | 27,500             | 27,500             | 27,500             | 27,500             | 27,500             | 27,500             |
| Z  | ,000                                | ,000               | ,000               | ,000               | ,000               | ,000               | ,000               | ,000               |
| Sig.<br>asintótica(bilateral)                    | 1,000                               | 1,000              | 1,000              | 1,000              | 1,000              | 1,000              | 1,000              | 1,000              |
| Significación<br>exacta [2*(sig.<br>unilateral)] | 1,000 <sup>b</sup>                  | 1,000 <sup>b</sup> | 1,000 <sup>b</sup> | 1,000 <sup>b</sup> | 1,000 <sup>b</sup> | 1,000 <sup>b</sup> | 1,000 <sup>b</sup> | 1,000 <sup>b</sup> |

a. Variable de agrupación: VAR00001

b. No corregido para empates.

## Factor concentración de Phytigel

|                            | Estadísticos de prueba <sup>a,b</sup> |       |                                  |       |                                  |       |                                  |       |
|----------------------------|---------------------------------------|-------|----------------------------------|-------|----------------------------------|-------|----------------------------------|-------|
|                            | Porcentaje de<br>establecimiento      | Vigor | Porcentaje de<br>establecimiento | Vigor | Porcentaje de<br>establecimiento | Vigor | Porcentaje de<br>establecimiento | Vigor |
| H de<br>Kruskal-<br>Wallis | ,000                                  | ,000  | 7,350                            | 4,000 | 6,841                            | 4,000 | 6,841                            | 4,000 |
| gl                         | 4                                     | 4     | 4                                | 4     | 4                                | 4     | 4                                | 4     |
| Sig.<br>asintótica         | 1,000                                 | 1,000 | ,119                             | ,406  | ,145                             | ,406  | ,145                             | ,406  |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: VAR00001