

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
“SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO”**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA  
AGRONÓMICA**



**“EFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DE 6-  
BENCILADENINA EN LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE DOS  
VARIETADES DE ARÁNDANOS (*Vaccinium corymbosum* L.),  
HUARAZ, ANCASH, 2023”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. JONATHAN JOEL MINAYA ROSALES**

**ASESORA:**

**Dra. XANDRA AMADA SAAVEDRA CONTRERAS**

**HUARAZ – ANCASH – PERÚ**

**2023**





UNIVERSIDAD NACIONAL  
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO

"Una Nueva Universidad para el Desarrollo"

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
UNIVERSITARIA DE SHANCAYÁN TELEFAX 043 426 588 - HUARAZ - ANCASH - PERÚ



### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los miembros del Jurado de Tesis que suscriben, reunidos para escuchar y evaluar la sustentación de la Tesis presentado por el Bachiller en Ciencias Agronomía **JONATHAN JOEL MINAYA ROSALES**, denominada: "EFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DE 6 - BENCILADENINA EN LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE DOS VARIEDADES DE ARÁNDANOS (*Vaccinium corymbosum* L.), HUARAZ, ANCASH, 2023", asesorado por la Dra. **XANDRA AMADA SAAVEDRA CONTRERAS**. Escuchada la sustentación, las respuestas a las preguntas y observaciones formuladas, la declaramos:

APROBADO CON DISTINCIÓN

CON EL CALIFICATIVO (\*)

DIECIOCHO (18)

En consecuencia, queda en condición de ser calificada APTO por el Consejo de Facultad de Ciencias Agrarias y por el Consejo Universitario de la Universidad Nacional "Santiago Antúnez de Mayolo" y recibir el Título de **INGENIERO AGRONOMO**, de conformidad con la Ley Universitaria y el Estatuto de la Universidad.

Huaraz, 12 de enero de 2024.

Dra. **NELLY PILAR CAYCHO MEDRANO**  
PRESIDENTE

Dr. **ALEJANDRO ZOROBABEL TOSCANO LEXVA**  
SECRETARIO

M.Sc. **SANDRA ELIZABETH SORIA ALBINAGORTA**  
VOCAL

Dra. **XANDRA AMADA SAAVEDRA CONTRERAS**  
ASESOR

(\*) De acuerdo con el Reglamento de Tesis, éstas deben ser calificadas con términos de: APROBADO CON EXCELENCIA (19 - 20), APROBADO CON DISTINCIÓN (17 - 18), APROBADO (14 - 16), DESAPROBADO (00 - 13).



UNIVERSIDAD NACIONAL  
SANTIAGO ANTÚNEZ DE MAYOLO

“Una Nueva Universidad para el Desarrollo”

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

CIUDAD UNIVERSITARIA DE SHANCAYAN TELEFAX 043 426 588 - HUARAZ - ANCASH - PERÚ



## ACTA DE CONFORMIDAD DE TESIS

Los miembros del jurado, luego de evaluar la tesis denominada “EFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DE 6 - BENCILADENINA EN LA MULTIPLICACIÓN *IN VITRO* DE DOS VARIEDADES DE ARÁNDANOS (*Vaccinium corymbosum* L.), HUARAZ, ANCASH, 2023”, presentada por el Bachiller en Ciencias Agronomía JONATHAN JOEL MINAYA ROSALES, y sustentada el día 12 de ENERO del 2024, con Resolución Decanatural N° 007-2024 - UNASAM - FCA, la declaramos CONFORME.

Huaraz, 12 de enero de 2024.

Dra. NELLY PILAR CAYCHO MEDRANO

**PRESIDENTE**

Dr. ALEJANDRO ZOROBABEL TOSCANO  
LEYVA

**SECRETARIO**

M.Sc. SANDRA ELIZABETH SORIA  
ALBINAGORTA

**VOCAL**

Dra. XANDRA AMADA SAAVEDRA  
CONTRERAS

**ASESOR**



Anexo de la R.C.U N° 126 -2022 -UNASAM  
ANEXO 1  
INFORME DE SIMILITUD.

El que suscribe (asesor) del trabajo de investigación titulado:

EFFECTO DE CUATRO CONCENTRACIONES DE 6-BENCILADENINA EN LA  
MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE DOS VARIEDADES DE ARÁNDANOS (*Vaccinium  
corymbosum* L.), HUARAZ, ANCASH, 2023

Presentado por: Minaya Rosales Jonathan Joel

con DNI N°: 76532194

para optar el Título Profesional de:

Ingeniero Agrónomo

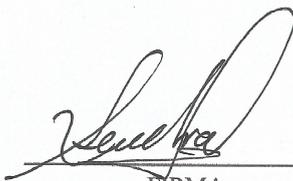
Informo que el documento del trabajo anteriormente indicado ha sido sometido a revisión, mediante la plataforma de evaluación de similitud, conforme al Artículo 11° del presente reglamento y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de : .....14%..... de similitud.

**Evaluación y acciones del reporte de similitud de los trabajos de los estudiantes/ tesis de pre grado (Art. 11, inc. 1).**

Porcentaje			
Trabajos de estudiantes	Tesis de pregrado	Evaluación y acciones	Seleccione donde corresponda
			<input type="radio"/>
Del 1 al 30%	Del 1 al 25%	Esta dentro del rango aceptable de similitud y podrá pasar al siguiente paso según sea el caso.	<input checked="" type="radio"/>
Del 31 al 50%	Del 26 al 50%	Se debe devolver al estudiante o egresado para las correcciones con las sugerencias que amerita y que se presente nuevamente el trabajo.	<input type="radio"/>
Mayores a 51%	Mayores a 51%	El docente o asesor que es el responsable de la revisión del documento emite un informe y el autor recibe una observación en un primer momento y si persistiese el trabajo es invalidado.	<input type="radio"/>

Por tanto, en mi condición de Asesor/ Jefe de Grados y Títulos de la EPG UNASAM/ Director o Editor responsable, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto la primera hoja del reporte del software anti-plagio.

Huaraz, 01/02/2024

  
FIRMA

Apellidos y Nombres: Saavedra Contreras Xandra Amada

DNI N°: 31665424

Se adjunta:

1. Reporte completo Generado por la plataforma de evaluación de similitud

## DEDICATORIA

La presente tesis de investigación, la dedico con profundo amor, cariño y respeto a mi madre Yolanda B. Rosales Guerrero y a mi padre político Pompeyo N. Sifuentes Ríos, por sus consejos y enseñanzas que me guiaron al camino de la verdad e integridad, que hicieron realidad mis sueños y anhelos en este sendero de la vida.

A mi hermano Ángel por las alegrías, los momentos vividos, su compañía y apoyo en todo momento.

A mis amigos y personas con las que conté con su apoyo, compartí experiencias y aprendizajes.

A ustedes va dedicada la presente.

## AGRADECIMIENTO

En primer lugar, dar gracias a Dios, por protegerme y guiarme en el sendero del bien y superación profesional, por darme fortaleza y salud.

A mi alma mater la “Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo” y a todos los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias, que forman parte fundamental de mi formación profesional, por los conocimientos adquiridos y por sus orientaciones acertadas.

Expreso mi más sincera gratitud a mi asesora de tesis la Dra. Xandra Amada, Saavedra Contreras, por su orientación en mi trabajo de tesis, por sus enseñanzas y guiarme de la mejor manera con su amplio conocimiento.

A mis familiares y amigos por todo el apoyo brindado, con los que pude salir adelante y mejorar como persona.



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales *In vitro* de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo, Huaraz – Ancash. Con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes concentraciones de 6 – benciladenina (BAP) en la fase de multiplicación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald, tomándose explantes provenientes de plantas jóvenes. La investigación realizada es de tipo experimental y aplicada realizándose en dos fases, en la Fase 1 se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 2 tratamientos y 20 repeticiones, en la Fase 2 se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial (2x5), 10 tratamientos y 4 repeticiones. Los parámetros evaluados fueron altura de vitroplanta, número de hojas, número de brotes y presencia de raíces. Para el establecimiento *in vitro* (Fase 1) las estacas fueron desinfectadas con benomil, hipoclorito de sodio, Tween 20 y alcohol de 70°, cultivadas en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) (1962) complementadas con sacarosa, phytigel y carbón activado. La fase de multiplicación *in vitro* (Fase 2) se realizó en el día 45, cultivadas en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) (1962) complementadas con sacarosa, phytigel, carbón activado y diferentes concentraciones de 6 – benciladenina (BAP): 0 mgL<sup>-1</sup>, 1 mgL<sup>-1</sup>, 3 mgL<sup>-1</sup>, 6 mgL<sup>-1</sup> y 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP, respectivamente, para ambas variedades. La investigación se realizó a 16 horas luz con 700 lux de intensidad lumínica y 25 °C, 8 horas de oscuridad a 21 °C y una humedad constante del 70%. Se encontró que en la Fase 1 (establecimiento) ambas variedades al día 45 alcanzaron tamaños de hasta 5.61 cm de altura, la variedad Biloxi presentó vitroplantas de un solo brote y la variedad Emerald presentó vitroplantas de un solo brote y vitroplantas con varios brotes, aumentando el número de hojas para esta variedad. En la Fase 2 (multiplicación *in vitro*) se encontró que los tratamientos con 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP presentaron muerte de todas las vitroplantas para ambas variedades, además, para la variedad Emerald la adición 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP indujo una mayor altura de vitroplanta con 4.125 cm, número de hojas de 27.75 y brotes de 3.75, para la variedad Biloxi la adición de 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP indujo una mayor altura de vitroplanta con 4 cm, número de hojas de 12 y 1 solo brote. Al no encontrar presencia de raíces se realizaron ensayos combinando BAP más concentraciones de AIB (1 mgL<sup>-1</sup>, 3 mgL<sup>-1</sup> y 9 mgL<sup>-1</sup>), encontrándose una formación acelerada de callos.

**Palabras clave:** Arándano, *in vitro*, 6 – benciladenina, multiplicación, vitroplanta.

## ABSTRACT

The present research work was carried out in the *In vitro* Plant Tissue Culture Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences, of the Santiago Antúnez de Mayolo National University, Huaraz – Ancash. With the objective of evaluating the effect of different concentrations of 6-benzyladenine (BAP) in the *in vitro* multiplication phase of blueberry *Vaccinium corymbosum* L. of the Biloxi and Emerald varieties, taking explants from young plants. The research carried out is experimental and applied, carried out in two phases, in Phase 1 a Completely Random Design (CRD) was used with 2 treatments and 20 repetitions, in Phase 2 a Completely Random Design (CRD) was used with factorial arrangement (2x5), 10 treatments and 4 repetitions. The parameters evaluated were vitroplant height, number of leaves, number of shoots and presence of roots. For *in vitro* establishment (Phase 1), the cuttings were disinfected with benomyl, sodium hypochlorite, Tween 20 and 70° alcohol, cultured in Murashige and Skoog (MS) (1962) culture medium supplemented with sucrose, phytigel and activated carbon. The *in vitro* multiplication phase (Phase 2) was carried out on day 45, cultured in Murashige and Skoog (MS) (1962) culture medium supplemented with sucrose, phytigel, activated carbon and different concentrations of 6-benzyladenine (BAP): 0 mgL<sup>-1</sup>, 1 mgL<sup>-1</sup>, 3 mgL<sup>-1</sup>, 6 mgL<sup>-1</sup> and 9 mgL<sup>-1</sup> of BAP, respectively, for both varieties. The research was carried out at 16 hours of light with 700 lux of light intensity and 25 °C, 8 hours of darkness at 21 °C and a constant humidity of 70%. It was found that in Phase 1 (establishment) both varieties at day 45 reached sizes of up to 5.61 cm in height, the Biloxi variety presented vitroplants with a single shoot and the Emerald variety presented vitroplants with a single shoot and vitroplants with several shoots, increasing the number of leaves for this variety. In Phase 2 (*in vitro* multiplication) it was found that treatments with 0 mgL<sup>-1</sup> of BAP showed death of all the vitroplants for both varieties. Furthermore, for the Emerald variety the addition of 6 mgL<sup>-1</sup> of BAP induced a greater height of vitroplant with 4.125 cm, number of leaves of 27.75 and sprouts of 3.75, for the Biloxi variety the addition of 3 mgL<sup>-1</sup> of BAP induced a greater height of the vitroplant with 4 cm, number of leaves of 12 and 1 single sprout. As no presence of roots was found, tests were carried out combining BAP plus concentrations of AIB (1 mgL<sup>-1</sup>, 3 mgL<sup>-1</sup> and 9 mgL<sup>-1</sup>), finding accelerated callus formation.

**Keywords:** Blueberry, *in vitro*, 6 – benzyladenine, multiplication, vitroplant.

# ÍNDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	ii
RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
ÍNDICE.....	v
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	2
1.3. OBJETIVOS.....	2
1.3.1. Objetivo general.....	2
1.3.2. Objetivos específicos.....	2
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.5. HIPÓTESIS.....	3
II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. ANTECEDENTES.....	4
2.2. BASES TEÓRICAS.....	6
2.2.1. Generalidades.....	6
2.2.2. Origen.....	6
2.2.3. Clasificación taxonómica.....	7
2.2.4. Importancia.....	7
2.2.5. Características morfológicas.....	8
2.2.6. Cultivo <i>in vitro</i> de plantas.....	9
2.2.7. Micropropagación de arándano.....	9
2.2.8. Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS).....	10
2.2.9. Medio de cultivo Lloyd and McCown´s Woody Plant (WPM).....	10
2.2.10. Composición de los medios de cultivo MS y WPM.....	11
2.2.11. Fitohormonas.....	12
2.2.12. BAP (6 – benciladenina).....	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
3.1. UBICACIÓN.....	14

3.1.1. Ubicación política.....	14
3.1.2. Ubicación geográfica.....	14
3.2. MATERIALES Y EQUIPOS.....	14
3.2.1. Material vegetal.....	14
3.2.2. Materiales de laboratorio.....	14
3.2.3. Equipos.....	15
3.2.4. Insumos.....	16
3.2.5. Materiales de escritorio.....	16
3.3. MÉTODOS.....	17
3.3.1. Tipo de investigación.....	17
3.3.2. Población o universo.....	17
3.3.3. Muestra y unidad de análisis.....	17
3.3.4. Instrumento de recopilación de datos.....	17
3.3.5. Diseño estadístico.....	17
3.3.6. Análisis estadístico.....	18
3.3.7. Modelo aditivo lineal.....	18
3.3.8. Esquema del análisis de varianza.....	19
3.3.9. Tratamientos.....	20
3.3.10. Randomización.....	21
3.3.11. Campo experimental.....	22
3.3.12. Parámetros evaluados.....	24
3.4. PROCEDIMIENTOS.....	27
3.4.1. Traslado de las plantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. al invernadero....	27
3.4.2. Preparación de medio de cultivo.....	28
3.4.3. Elección del material vegetativo.....	31
3.4.4. Corte y lavado del material vegetativo.....	32
3.4.5. Desinfección del material vegetativo.....	33
3.4.6. Siembra de los explantes de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	36
3.4.7. Condiciones climáticas.....	38
3.4.8. Revisión de plantas contaminadas.....	39
3.4.9. Preparación de medio de cultivo con fitohormonas.....	39
3.4.10. Fase de multiplicación <i>in vitro</i> de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	42
3.4.11. Revisión de plantas contaminadas.....	47
3.4.12. Evaluación final.....	47
3.4.13. Ensayos con BAP (6 – benciladenina) + AIB (Ácido indolbutírico).....	48

3.4.14. Revisión de plantas contaminadas .....	49
3.4.15. Evaluación de BAP (6 – benciladenina) + AIB (Ácido indolbutírico).....	49
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	50
4.1. RESULTADOS DE LA FASE 1 .....	50
4.1.1. Altura de vitroplanta en la F1 en ausencia de fitohormonas .....	50
4.1.2. Número de hojas en la F1 en ausencia de fitohormonas .....	52
4.1.3. Número de brotes en la F1 en ausencia de fitohormonas .....	54
4.2. RESULTADOS DE LA FASE 2 .....	58
4.2.1. Altura de vitroplanta en la F2 con concentraciones de BAP (6 – benciladenina) ...	58
4.2.2. Número de hojas en la F2 con concentraciones de BAP (6 – benciladenina) .....	64
4.2.3. Número de brotes en la F2 con concentraciones de BAP (6 – benciladenina).....	68
4.3. RESULTADOS DE LOS ENSAYOS ADICIONALES .....	73
4.3.1. Días a la formación de callos.....	73
4.4. DISCUSIÓN .....	80
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	86
5.1. CONCLUSIONES .....	86
5.2. RECOMENDACIONES .....	86
VI. BIBLIOGRAFÍA.....	88
VII. ANEXOS .....	92

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Composición de los medios basales MS y WPM.....	11
<b>Tabla 2:</b> Análisis de varianza para un Diseño Completamente al Azar. ....	19
<b>Tabla 3:</b> Análisis de varianza para un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial (AxB).....	19
<b>Tabla 4:</b> Tratamientos en estudio de la Fase 1. ....	20
<b>Tabla 5:</b> Interacción de los factores de la Fase 2.....	20
<b>Tabla 6:</b> Tratamientos en estudio de la Fase 2. ....	21
<b>Tabla 7:</b> Randomización de los tratamientos de la Fase 1. ....	21
<b>Tabla 8:</b> Randomización de los tratamientos de la Fase 2. ....	22
<b>Tabla 9:</b> Análisis de varianza de altura de vitroplanta a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	50
<b>Tabla 10:</b> Análisis de varianza de número de hojas a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	52
<b>Tabla 11:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para variedad en la variable número de hojas a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	53
<b>Tabla 12:</b> Análisis de varianza de número de brotes a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	54
<b>Tabla 13:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para variedad en la variable número de brotes a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	54
<b>Tabla 14:</b> Análisis de varianza de altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	58
<b>Tabla 15:</b> Análisis de varianza de los efectos simples para altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	58
<b>Tabla 16:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para concentración de BAP (6 – benciladenina) en la variable altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	59
<b>Tabla 17:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción variedad * concentración de BAP (6 – benciladenina), en la variable altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	60
<b>Tabla 18:</b> Análisis de varianza de número de hojas a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	64
<b>Tabla 19:</b> Análisis de varianza de los efectos simples para número de hojas a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	64
<b>Tabla 20:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para concentración de BAP (6 – benciladenina) en la variable número de hojas a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.....	65

<b>Tabla 21:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción variedad * concentración de BAP (6 – benciladenina), en la variable número de hojas a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	66
<b>Tabla 22:</b> Análisis de varianza de número de brotes a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	68
<b>Tabla 23:</b> Análisis de varianza de los efectos simples para número de brotes a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	68
<b>Tabla 24:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para concentración de BAP (6 – benciladenina) en la variable número de brotes a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	69
<b>Tabla 25:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción variedad * concentración de BAP (6 – benciladenina), en la variable número de brotes a los 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	70
<b>Tabla 26:</b> Análisis de varianza de número de días a la formación de callos de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	73
<b>Tabla 27:</b> Análisis de varianza de los efectos simples de número de días a la formación de callos de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	73
<b>Tabla 28:</b> Prueba de comparación de medias de Tukey para concentración fitohormona en la variable días a la formación de callos de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	74

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Estructura de la Benciladenina. ....	12
<b>Figura 2:</b> Esquema del campo experimental de la Fase 1. ....	22
<b>Figura 3:</b> Esquema del campo experimental de la Fase 2. ....	23
<b>Figura 4:</b> Medición de altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la fase de multiplicación <i>in vitro</i> de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	24
<b>Figura 5:</b> Conteo de número de hojas a los 60 días posterior a la fase de multiplicación <i>in vitro</i> de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	25
<b>Figura 6:</b> Conteo de número de brotes a los 60 días posterior a la fase de multiplicación <i>in vitro</i> de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	26
<b>Figura 7:</b> Evaluación de presencia de raíces a los 60 días posterior a la fase de multiplicación <i>in vitro</i> de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	27
<b>Figura 8:</b> Plantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en el Invernadero de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNASAM. ....	28
<b>Figura 9:</b> Insumos usados para la preparación de medio de cultivo.....	29
<b>Figura 10:</b> Selección y corte de explantes de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	31
<b>Figura 11:</b> Lavado con agua y detergente de los explantes de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	32
<b>Figura 12:</b> Representación de las estacas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. después de haber realizado los cortes.....	33
<b>Figura 13:</b> Insumos usados para la desinfección del material vegetativo. ....	34
<b>Figura 14:</b> Micropropagación de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	37
<b>Figura 15:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en el fitotron después de la siembra. ....	37
<b>Figura 16:</b> Pantalla principal del fitotron en horas luz. ....	38
<b>Figura 17:</b> Pantalla principal del fitotron en horas de oscuridad.....	39
<b>Figura 18:</b> Materiales de laboratorio esterilizados en autoclave y el BAP (6 – benciladenina).....	40
<b>Figura 19:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. de las variedades Emerald y Biloxi de 45 días de edad usadas para la fase de multiplicación <i>in vitro</i> . ....	43
<b>Figura 20:</b> Fase de multiplicación <i>in vitro</i> de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. ....	45
<b>Figura 21:</b> Extracción de la vitroplanta de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. del tubo de ensayo. ....	45
<b>Figura 22:</b> Vitroplanta de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. de un solo brote en la placa Petri.....	46
<b>Figura 23:</b> Vitroplanta de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. con varios brotes en la placa Petri.....	46

<b>Figura 24:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en el fitotron después de la fase multiplicación <i>in vitro</i> .	47
<b>Figura 25:</b> Evaluación final y recolección de datos.	48
<b>Figura 26:</b> BAP (6 – benciladenina) y AIB (Ácido indolbutírico) usadas en el ensayo. ...	49
<b>Figura 27:</b> Efecto de la siembra en la F1 en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, en la altura de vitroplanta de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	50
<b>Figura 28:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en la F1 a 45 días posteriores a la siembra, variedad Biloxi.	51
<b>Figura 29:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en la F1 a 45 días posteriores a la siembra, variedad Emerald.	52
<b>Figura 30:</b> Efecto de la siembra en la F1 en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, en el número de hojas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	53
<b>Figura 31:</b> Efecto de la siembra en la F1 en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, en el número de brotes de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	55
<b>Figura 32:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en la F1 a 45 días posteriores a la siembra, variedad Biloxi con un solo brote.	56
<b>Figura 33:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en la F1 a 45 días posteriores a la siembra, variedad Emerald con uno y varios brotes.	57
<b>Figura 34:</b> Efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 para altura de vitroplanta de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	61
<b>Figura 35:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en la F2 a 60 días posteriores a la multiplicación <i>in vitro</i> , variedad Emerald con 0 mgL <sup>-1</sup> de BAP (T1).	62
<b>Figura 36:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en la F2 a 60 días posteriores a la multiplicación <i>in vitro</i> , variedad Biloxi con 0 mgL <sup>-1</sup> de BAP (T6).	62
<b>Figura 37:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en la F2 a 60 días posteriores a la multiplicación <i>in vitro</i> , variedad Emerald con 6 mgL <sup>-1</sup> de BAP (T4).	63
<b>Figura 38:</b> Vitroplantas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. en la F2 a 60 días posteriores a la multiplicación <i>in vitro</i> , variedad Biloxi con 3 mgL <sup>-1</sup> de BAP (T8).	63
<b>Figura 39:</b> Efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 para número de hojas de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	67
<b>Figura 40:</b> Efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 para número de brotes de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	71
<b>Figura 41:</b> Vitroplanta de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L. variedad Emerald con 9 mgL <sup>-1</sup> de BAP (T5), a 60 días posterior a la multiplicación <i>in vitro</i> en la F2 con un exceso de brotes y hojas.	72
<b>Figura 42:</b> Efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en los días a la formación de callos de arándano <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	75

**Figura 43:** Vitroplantas cultivadas solo con AIB ( $3 \text{ mgL}^{-1}$  de AIB) presentaron tamaños pequeños. .... 76

**Figura 44:** Variedad Emerald cultivada con  $6 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP +  $9 \text{ mgL}^{-1}$  de AIB de 41 días, con callos de mayor tamaño. .... 77

**Figura 45:** Vitroplantas cultivadas solo con BAP (para Biloxi  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP y para Emerald  $6 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP) presentaron callos pequeños a los 65 días, la figura muestra a una vitroplanta variedad Biloxi cultivada con  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP. .... 78

**Figura 46:** La adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de AIB indujo a la formación de callos pequeños al día 54... .... 79



# I. INTRODUCCIÓN

El arándano es un fruto muy apreciado por su valor nutricional, elevado contenido de antioxidantes y vitaminas, pertenece a la familia de los berries presentando altas perspectivas de crecimiento en el mercado internacional, el mercado de los berries es altamente competitivo enfocándose en lograr un abastecimiento global durante todo el año (Armando, 2016).

La agroexportación del arándano peruano ha registrado un crecimiento sostenido en los últimos años, desde el 2018 el Perú se ha posicionado como el principal agroexportador mundial de arándano. En la campaña 2021 – 2022 se llegaron a exportar 220 toneladas (Gómez, 2023).

El cultivo *in vitro* de plantas proporciona ventajas comparadas a técnicas tradicionales de propagación como una mayor tasa de multiplicación en periodos de tiempo y espacios más eficientes, se obtienen plantas con alto grado de uniformidad genética y fenotípica, reducción de costos y la posibilidad de adicionar un valor agregado a las plantas producidas (Suárez, 2020).

El presente trabajo de tesis pretende brindar información precisa sobre el cultivo *in vitro* del arándano *Vaccinium corymbosum* L. así como también, el efecto de distintas concentraciones 6 – benciladenina (BAP) en la fase de multiplicación *in vitro*, permitiendo hacer un uso eficiente de dicha fitohormona.

## 1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las áreas cultivadas de arándanos *Vaccinium corymbosum* L. en la región Ancash, así como también las exportaciones de arándanos frescos van en aumento, ya que para el 2020 se registra el envío de más de 5000 toneladas de esta fruta que es destinada a diversos mercados internacionales, las principales variedades de exportación en la región Ancash vienen siendo Biloxi y Emerald (SENASA, 2020).

Debido a la creciente demanda del arándano en los últimos años a nivel nacional y mundial la propagación vegetativa utilizada tradicionalmente ya no es una opción viable para la producción en masa de material de siembra ya que sería necesario una gran cantidad de plantas madres, debido a que el arándano posee una pobre habilidad de enraizamiento al usarse estaquillas, con el fin de satisfacer esta demanda de plántulas de arándano, una alternativa es la propagación *in vitro* que permite obtener plántulas en masa y gran calidad.

Sin embargo, en la propagación *in vitro* del arándano, con la finalidad de promover la inducción y proliferación de yemas axilares se recurre al uso de citoquininas, siendo de gran importancia determinar el tipo de citoquinina que se debe usar y las concentraciones más adecuadas.

## 1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Qué concentración de la fitohormona BAP (6 – benciladenina) es la que muestra mejor resultado en la propagación *in vitro* de dos variedades de arándano?

## 1.3. OBJETIVOS

### 1.3.1. *Objetivo general*

Evaluar el efecto de cuatro concentraciones de 6 – benciladenina en la fase de multiplicación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald.

### 1.3.2. *Objetivos específicos*

- Detallar la desinfección de los fragmentos del material vegetal en la fase de iniciación o establecimiento.
- Evaluar el efecto de las diferentes concentraciones de 6 – benciladenina en altura de vitropianta, número de hojas, número de brotes y presencia de raíces; en la fase de multiplicación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald.
- Determinar la concentración óptima de 6 – benciladenina para la multiplicación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald.

## 1.4. JUSTIFICACIÓN

Los frutos del arándano *Vaccinium corymbosum* L. al poseer un alto valor medicinal y nutricional son consideradas de interés económico y una alternativa de producción para agricultores y productores a gran escala. La sostenibilidad económica que presenta este cultivo permite que la producción aumente llegando a tener en la región Ancash un total de 830 hectáreas en plena producción, principalmente en las provincias de Huarmey y Huaylas. El crecimiento de la agroexportación destaca principalmente por la condición climatológica

presente en algunas provincias de la región, permitiendo buena adaptabilidad y además el clima permite una producción de todo el año (SENASA, 2020). El Perú pasó de no comerciar arándanos en el 2012 a ser el primer agroexportador a escala mundial para el 2021, atendiendo cerca del 25% de la demanda global (IPE-El Comercio, 2022). Para el 2022 se logró exportar tanto arándano fresco como congelado alcanzando ventas mundiales de hasta por US\$ 164 millones, mostrando un crecimiento de más del 118% (Grupo IFS Perú, 2023).

La siembra de arándano puede ser realizada en bolsas plásticas o macetas rígidas con un volumen entre los 25 a 50 litros en sustratos mezclados, permitiendo en una sola hectárea alcanzar una densidad de siembra de 9000 a 10 000 plantas (ENSAN, 2023). Además, otra oportunidad en la oferta exportable del país es la posibilidad de ingresar en los mercados internacionales en contra estación, en los meses de agosto-setiembre y abril-mayo, estos meses son periodos importantes ya que desciende el abastecimiento de esta fruta en los mercados internacionales. Con la demanda que presenta este cultivo y gracias a las condiciones climáticas es viable el cultivo de arándano teniendo acogida en mercados nacionales e internacionales (Armando, 2016).

El cultivo *in vitro* es una alternativa eficaz para la producción de plántulas de arándano *Vaccinium corymbosum* L., en masa y libre de enfermedades, con un adecuado manejo se podrán obtener plántulas de mejor calidad, tamaño y en corto tiempo. Los resultados del presente trabajo de investigación permitirán ser utilizados por todos los investigadores y productores para mejorar la siembra de arándano *Vaccinium corymbosum* L. bajo condiciones *in vitro*.

## 1.5. HIPÓTESIS

**H<sub>0</sub>** = Todas las concentraciones de la fitohormona BAP (6 – benciladenina), muestran los mismos resultados en la multiplicación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald.

H<sub>0</sub>: T1 = T2 = T3 = T4 = T5 = T6 = T7 = T8 = T9 = T10

**H<sub>a</sub>** = Al menos una de las concentraciones de la fitohormona BAP (6 – benciladenina), muestra mayor resultado en la multiplicación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald.

H<sub>a</sub>: T1 ≠ T2 ≠ T3 ≠ T4 ≠ T5 ≠ T6 ≠ T7 ≠ T8 ≠ T9 ≠ T10

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. ANTECEDENTES

#### A nivel internacional

Hine y Abdelnour (2013), en la investigación desarrollada en Costa Rica, con el objetivo de desarrollar una metodología de propagación masiva *in vitro*, tomaron explantes provenientes de plantas adultas de arándano (variedad Avonblue) de la Estación Experimental Fraijanes de la Universidad de Costa Rica, en Alajuela. Para el establecimiento *in vitro* las estacas fueron sometidas a cuatro distintas desinfecciones, de igual manera se evaluó y se comparó el efecto sobre la brotación de yemas de las citoquininas 2iP (N<sup>6</sup>[2-isopentenil]adenina, isopenteniladenina), BAP (6-(benzilamino)-9-(2-tetrahidropiranyl)-9H-purina, bencilaminopurina) y CPPU (N-(2-cloro-4-piridil)- N'-fenilurea, Forclorofenurón) en una concentración de 2,5 mg L<sup>-1</sup>. Concluida la investigación las autoras afirman que la utilización de brotes tiernos de las plantas maduras y la desinfección, que consistió de hipoclorito de sodio al 1.5% y 0.1% de Tween 20 por 40 minutos, permitió el mayor porcentaje de explantes asépticos y que la adición de CPPU indujo el mayor número de brotes a partir del explante inicial, sin embargo, el 2ip promovió la mayor longitud de los brotes.

Cabrera y Guamán (2020), mencionan que, en su investigación desarrollada en Ecuador, con el objetivo de evaluar el efecto de diferentes concentraciones de 6-Bencilaminopurina (BAP) y 2-isoPentiladenina (2ip) en la multiplicación *in vitro* de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) cvs. Biloxi y Emerald. Las autoras concluyen que se obtuvo como resultado que el hipoclorito de sodio (5%) durante 5 minutos presentó menor contaminación de los explantes, por otra parte, las diferentes concentraciones de los biorreguladores utilizados no promovieron la multiplicación de brotes, pero indujeron crecimiento y desarrollo de la yema. El 2ip a una concentración de 0.5% presentó mayor número de explantes desarrollados y número de hojas en los dos cultivares y presentó una mayor longitud de yema solo en el cv. Biloxi.

#### A nivel nacional

Bazan (2023), en su investigación desarrollada en Barranca – Perú, con el objetivo de evaluar el medio de cultivo para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de microestacas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. variedad “Biloxi” y “Emerald”. La

variedad Biloxi y Emerald no registraron diferencias estadísticas significativas en la etapa de desinfección. Además, la autora al finalizar su investigación concluyó que en la etapa de multiplicación el medio de cultivo WPM con la adición de Bencilaminopurina a  $2.5 \text{ mg L}^{-1}$  mostró plántulas con mayor N° de hojas y brotes (8.55 y 1.08 unidades), con la adición de 2-ip a  $2.5 \text{ mg L}^{-1}$  obtuvo para N° de hojas y brotes (7.22 y 0.97 unidades). Así como también encontró que la interacción del medio de cultivo de BAP\*tipo de yema, mostró que,  $2.5 \text{ mg L}^{-1}$  de (BAP)\*yemas axilares, obtuvo mayor N° de hojas (10 unidades), N° de brotes (1.03 unidades) y longitud de explante (21.48 mm), obteniéndose mejores resultados que la variedad Emerald.

Palacios (2022), desarrolló su investigación en Huancavelica – Perú, con el objetivo de evaluar diferentes medios de cultivo MS y reguladores de crecimiento para el establecimiento y micro propagación *in vitro* del cultivo de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de la variedad Biloxi. Realizó la preparación Murashige & Skoog más reguladores de crecimiento de 5 tratamientos ajustando un pH de 5.0. La autora concluye que el mejor resultado se obtuvo del T2 que consistió de medio base (MS+BAP) seguido a ellos el T0 solo del medio base de (MS), trabajándose a una temperatura máxima de  $17^{\circ}\text{C}$ .

#### **A nivel local**

Lostanau (2015), desarrolló su investigación en Huaraz, Ancash, con el objetivo de determinar el efecto de diferentes concentraciones de Ácido Giberélico en la fase de multiplicación de arándano *Vaccinium corymbosum* cv. Biloxi. Se utilizaron explantes provenientes de plantas traídas desde la ciudad de Cañete, Fundo Perú Viveros Internacionales. Las concentraciones usadas de Ácido Giberélico T0 (0 ppm), T1 (50 ppm), T2 (100 ppm), T3 (150 ppm) y T4 (200 ppm). Al finalizar la investigación la autora obtuvo como mejor tratamiento el T2 (100 ppm) con 15 brotes en promedio, en altura de planta obtuvo que el T2 (100 ppm) con 3.70 cm fue la dosis óptima.

Vargas (2014), en su investigación desarrollada en Huaraz, Ancash, con el objetivo de establecer un protocolo de propagación *in vitro* del arándano *Vaccinium corymbosum* L., se utilizaron frutos de la variedad Mysti cultivadas en el fundo Chingal de la Empresa Exportadora Frutícola del Sur S.A.-Caraz. Los frutos fueron desinfectados con dicloruro de mercurio al 0.1%, alcohol de 70% y enjuagados con agua estéril. Las semillas extraídas de los frutos, luego de la desinfección fueron cultivadas en medio semisólido Murashige & Skoog a mitad de sales, una vez germinadas se cultivaron secciones de tallo con yemas

axilares en medio semisólido Murashige & Skoog a mitad de sales suplementada con sacarosa 2.0% y phytigel 0.3% y un pH de 5.20; para la inducción de brotes se realizaron tres tratamientos con Bencilaminopurina: T1 (3 mg/L), T2 (4.5 mg/L) y T3 (6 mg/L). Finalizada la investigación, la autora encontró la concentración apropiada con el tratamiento T1 (3mg/L de BAP) para la obtención de brotes y la mayor altura de planta se obtuvo con el tratamiento T0 (sin hormona).

## **2.2. BASES TEÓRICAS**

### **2.2.1. Generalidades**

Carrera (2012) menciona que los arándanos *Vaccinium* sp. son un grupo de plantas arbustivas de tamaño mediano y hojas caducifolias. Sus flores son pequeñas, de color blanco o blanco rosáceo y se disponen en racimos. Sus frutos son falsas bayas, redondas, de color negro azulado, su tamaño puede ser de 21 mm de diámetro en algunas variedades y están cubiertas por un polvillo ceroso.

García et al., (2018) señalan que son arbustos erectos o rastreros, variando la altura según la especie (0.3 a 7.0 m), con hojas alternas, caducifolias o perennes, y una longevidad que puede superar los 50 años en muchos casos.

### **2.2.2. Origen**

Según Armando (2016) el arándano es una baya originaria de América de Norte, que crece de forma silvestre. Generalmente se cultivan dos especies: Lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium*, estas comprenden las especies de menor tamaño y Highbush blueberry *Vaccinium corymbosum*, comprende los arbustos más grandes, dentro de las cuales se encuentran muchas variedades comerciales.

Undurraga y Vargas (2013) afirman que Frederick Coville realizó los primeros intentos de selección desde el medio silvestre a través de accesiones promisorias a partir del año 1911, las cuales mejoró notablemente a través de cruzamiento de aquellas accesiones y posterior selección de las progenies obtenidas. Coville inició esta investigación pionera en el Departamento de Agricultura de EE.UU. (USDA) al que posteriormente se agregaron varias Universidades en diferentes estados (Michigan, Nueva Jersey, Wisconsin, Carolina del Norte, Georgia, Florida, Arkansas) así como también otras oficinas del USDA en diferentes estados formando una red que contribuyó a extender el cultivo comercial de arándanos y su adaptación a diferentes ambientes (suelo y clima) a la vez que se

incrementaba su productividad y calidad de fruto. Todos los programas de mejoramiento del USDA, así como los iniciados en los departamentos de Ciencias Hortícolas en las diferentes universidades mencionadas desarrollaron mejoramiento tradicional a través de cruzamientos, incrementando en cada generación los diferentes atributos buscados.

### 2.2.3. Clasificación taxonómica

De acuerdo con Cronquist (1981), taxonómicamente el arándano se clasifica de la siguiente manera:

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

### 2.2.4. Importancia

Jiménez y Abdelnour (2012) mencionan que el arándano es un arbusto del género *Vaccinium* de la familia Ericaceae. Sus frutos son bayas de color oscuro, azulado o rojizo, rico en antocianinas y minerales. Su valor nutricional y propiedades antioxidantes la convierten en una fruta con alto valor medicinal y nutricional. En la alimentación humana, los arándanos son una de las fuentes más importantes de antocianinas y carotenoides, que le confieren su color característico y sus propiedades antioxidantes.

Armando (2016) afirma que el arándano al pertenecer a la familia de los berries, cuenta con un mercado altamente competitivo y se enfoca en lograr un abastecimiento global durante todo el año. El mercado del arándano es diverso, los berries pueden ser utilizados como frutas frescas, productos secos, extractos, alimentos procesados (helados, postres, dulces), jugos y bebidas, aceites y como ingrediente en productos altamente especializados.

### 2.2.5. Características morfológicas

García et al., (2018) describen de la siguiente manera:

**Raíz:** el sistema radicular es superficial, el 80% se encuentra en los primeros 40 cm. Las raíces son finas y fibrosas caracterizadas por la ausencia de pelos absorbentes, por lo que tiene una mayor dificultad a la hora de absorber el agua del suelo, sobre todo cuando está comenzando a escasear, lo que significa un menor crecimiento de la planta. Al mismo tiempo, es muy sensible al encharcamiento en suelos pesados.

Entre las raíces y la parte aérea se encuentra la corona, que tiene la capacidad de emitir brotes desde ella, promoviendo la continua y necesaria renovación de la parte aérea de la planta.

**Hojas:** simples, alternas, cortamente pediceladas, forma elíptico-lanceoladas de unos 5 cm de longitud, caducas, de un color verde pálido a muy intenso según cultivares, ligeramente dentadas y finalmente nervadas por el envés. Es típica la coloración rojiza o amarillenta que adquieren en el otoño según la variedad.

**Flores:** axilares o terminales, en racimos de 6 a 10 en cada yema, sépalos persistentes, corola acampanada blanca con tonos rosas en algunos cultivares, formada por 4 o 5 pétalos fusionados, 8 a 10 estambres con antenas aristadas o no, prolongadas en tubos terminales con una abertura en el ápice, un pistilo simple, ovario ínfero, de 4 a 10 lóculos. El número de yemas de flor que puede desarrollarse en una rama de un arbusto, de 2 a más de 20, parece estar relacionado con el grosor de la rama, con el cultivar, así como por la influencia de varios reguladores de crecimiento y las propias técnicas de cultivo.

**Fruto:** es una falsa baya esférica de 1 a 3 cm de diámetro, con un peso de 0.5 a 4.0 g y varias semillas en su interior, 20 a 100, cuyo número está relacionado de forma positiva con el tamaño del fruto. Los frutos, a medida que maduran, pasan por distintos grados de color, adquiriendo el tono azul característico al finalizar la maduración. A su vez, la epidermis del fruto está cubierta por secreciones cerosas que le dan un aspecto muy atractivo. Los más cercanos a la base de las ramas son más grandes que los distales; su tamaño se ha relacionado también con el número de frutos por rama, así como el vigor de la rama, es decir, ramas más vigorosas generalmente producen frutos mayores. Además, los primeros frutos maduros de un cultivar a menudo son mayores que los que se recogen más tarde. Dos características relevantes del fruto, a nivel comercial, son: la cicatriz que queda al

desprenderse del pedúnculo, que debe ser pequeña y seca a fin de dificultar la acción de los patógenos; y la firmeza, que está muy relacionada con el grosor de la epidermis y la estructura celular de la pulpa.

### **2.2.6. Cultivo *in vitro* de plantas**

Según Chilian (2021), el cultivo *in vitro* de plantas implica cultivar un trozo de tejido, una célula o una planta dentro de un frasco de vidrio, en ambiente artificial, donde se regenerarán una o muchas plantas idénticas. Este método tiene dos propiedades esenciales: la asepsia (ausencia de patógenos) y el control de los parámetros nutricionales y ambientales. Una de las aplicaciones más generalizadas del cultivo *in vitro* es la micropropagación o propagación clonal, donde a partir de tejidos de una planta madre, y utilizando medios de cultivo adecuados, se obtiene una descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones. Esta práctica permite aumentar rápidamente el número de plantas derivadas de un genotipo seleccionado, reducir el tiempo de multiplicación, multiplicar un gran número de plantas en un espacio reducido, controlar su estado sanitario y facilitar el transporte del material propagado. Los tejidos más utilizados para esta estrategia son las yemas vegetativas.

Asimismo, Cruz (2012) menciona que la micropropagación es una de las aplicaciones más importantes dentro del cultivo de tejidos vegetales, se define como la multiplicación asexual, basada en la totipotencia vegetal, realizada en condiciones *in vitro*. La obtención de plantas mediante micropropagación involucra una serie de etapas que abarcan desde los procedimientos previos al establecimiento de los cultivos de forma aséptica, los que se encargan de la selección y manejo de la planta madre, el establecimiento mismo, la proliferación o multiplicación a través de subcultivos periódicos, el enraizamiento, que se puede realizar *in vitro* o *ex vitro* (fuera del tubo de cultivo), hasta la aclimatación del material obtenido y su trasplante a condiciones de campo.

### **2.2.7. Micropropagación de arándano**

La creciente demanda de arándanos y los atractivos precios de mercado han provocado el incremento en el área de cultivo en todo el mundo. Para satisfacer la creciente demanda de plántulas de arándano, se recomienda la micropropagación como el método más apropiado para disponer de altos volúmenes de material de siembra elite, para satisfacer la demanda de los productores y la siembra a gran escala (Litwinczuk, 2013, como se citó en Jiménez y Abdelnour, 2017).

### **2.2.8. Medio de cultivo Murashige y Skoog (MS)**

Escobar et al., (2014) mencionan que un medio de cultivo es una solución que provee los nutrientes esenciales para el correcto desarrollo de las plantas en cultivo. Está conformado básicamente por una solución basal, una fuente energética, un juego de vitaminas y un juego de reguladores de crecimiento. El efecto aditivo de cada uno de estos componentes y la relación entre los reguladores de crecimiento (tipo, dosis y efectos conjuntos) propician la respuesta del explante a través de la organogénesis o por la embriogénesis. Dentro de las soluciones de medio basal, la de mayor uso es la MS desarrollada por Murashige y Skoog en 1962. Este medio provee un balance de macroelementos (N, P, K, S, Ca) y microelementos (B, Mn, Zn, Cu, Fe, Co, etc.) a la planta necesarios para su crecimiento.

Suárez (2020) afirma que Murashige y Skoog (1962) estudiaron de forma detallada los requerimientos minerales de cultivos celulares de tabaco, obteniendo una formulación con mayores cantidades de sales. El alto contenido de  $\text{NO}_3$  y  $\text{NH}_4$  permitió que los tejidos tuvieran tasas de crecimiento hasta 25 veces superiores a las obtenidas hasta ese momento con otras formulaciones. En la actualidad, el medio de Murashige y Skoog es el más utilizado en el cultivo de tejidos vegetales a nivel mundial.

### **2.2.9. Medio de cultivo Lloyd and McCown's Woody Plant (WPM)**

En el medio WPM están presentes los macro y micronutrientes descritos por Lloyd y McCown (1981), este medio fue desarrollado originalmente para el cultivo de puntas de brotes de Mt. Laurel. Desde entonces, el medio se ha convertido en un estándar para el cultivo de muchas especies de plantas leñosas. El nitrato de potasio se eliminó de este medio y se reemplazó con sulfato de potasio (Vitroplantas México, 2022).

El medio WPM es ampliamente usado en especies forestales y tiene como una de las características principales poseer la mitad de concentración de amonio comparado al medio MS, lo que disminuye la toxicidad generada por amonio en plantas. (Phillips y Garda, 2019, como se citó en Robles et al., 2022).

### 2.2.10. Composición de los medios de cultivo MS y WPM

Andrade et al., (2021) describen de la siguiente manera:

**Tabla 1**

*Composición de los medios basales MS y WPM.*

Componente	Reactivo	Composición del medio de cultivo (mg L <sup>-1</sup> )	
		MS	WPM
Macroelementos	Nitrato de Calcio		386,00
	Fosfato de Potasio	170,00	170,00
	Nitrato de Potasio	1900,00	
	Sulfato de Magnesio	180,70	180,70
	Nitrato de Amonio	1650,00	400,00
	Cloruro de Calcio anhidros	332,20	72,50
	Sulfato de Potasio		999,00
Microelementos	Ácido Bórico	6,20	6,20
	Cloruro de Cobalto	0,03	
	Sulfato Cúprico	0,03	0,25
	Sulfato de Manganeso	16,90	22,30
	Yoduro de Potasio	0,83	
	Molibdato de Sodio	0,25	0,25
	Sulfato de Zinc	8,60	8,60
Hierro	Sulfato Ferroso	27,80	27,90
	Etilendiaminotetraacetato de sodio	37,26	
	Etilendiaminotetraacetato férrico sódico		37,30
Vitaminas	Tiamina HCl	0,10	
	Piridoxina HCl	0,50	
	Ácido nicotínico	0,50	
	Myo – Inositol	100,00	
	Glicina	2,00	

*Nota:* MS: Murashige y Skoog; WPM: Lloyd and McCow's Woody Plant.

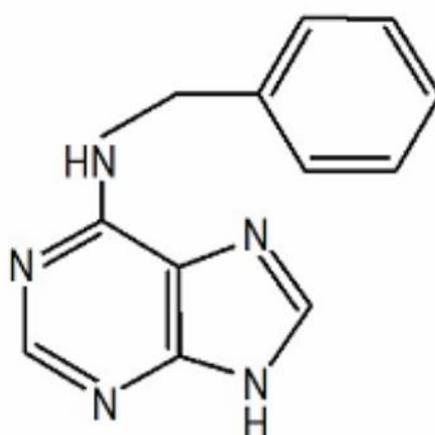
### 2.2.11. Fitohormonas

Alcántara et al., (2019) exponen que una hormona vegetal o fitohormona es un compuesto producido internamente por una planta, que ejerce su función en muy bajas concentraciones y cuyo principal efecto se produce a nivel celular, cambiando los patrones de crecimiento de los vegetales y permitiendo su control. Los reguladores vegetales son compuestos que se sintetizan químicamente o son obtenidos de otros organismos y son, en general, mucho más potentes que los análogos naturales. Es necesario tener en cuenta aspectos importantes como oportunidad de aplicación, dosis, sensibilidad de la variedad, condición de la planta, etc., ya que cada planta requerirá de unas condiciones específicas de crecimiento que pueden afectarse por la concentración de ellos en el medio. Los reguladores vegetales son productos sintéticos que se han convertido en las primeras herramientas capaces de controlar el crecimiento y actividad bioquímica de las plantas por lo que su uso ha incrementado en los últimos años.

### 2.2.12. BAP (6 – benciladenina)

#### Figura 1

Estructura de la Benciladenina.



Benciladenina  
(BA)

Fuente: Jordán y Casaretto (2006). Fisiología vegetal (F.A. Squeo & L. Cardemil, eds.)

La 6-bencilaminopurina (6-BAP) es una hormona vegetal que pertenece al grupo de las citoquininas, que son un tipo de reguladores de crecimiento vegetal. La 6-BAP se encuentra naturalmente en las plantas, pero también se puede sintetizar artificialmente para su uso en aplicaciones de laboratorio. La 6-BAP es una hormona vegetal que regula el crecimiento y desarrollo de las plantas. Se ha demostrado que la 6-BAP tiene una variedad de funciones en las plantas, incluyendo la promoción del crecimiento celular y la división celular, la regulación del tamaño y la forma de las hojas, y la promoción de la formación de brotes y raíces adventicias. La 6-BAP también se utiliza en aplicaciones de biotecnología vegetal, como la micropropagación de plantas y la producción de plantas transgénicas. La micropropagación es una técnica que se utiliza para producir una gran cantidad de plantas idénticas a partir de una sola planta madre. La 6-BAP se utiliza en el medio de cultivo para estimular el crecimiento de brotes y raíces en las plantas en cultivo *in vitro*. La 6-BAP también se utiliza para inducir la formación de callos, que son masas de células vegetales indiferenciadas que se utilizan en la producción de plantas transgénicas (QUIMICOMPANY, 2020).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. UBICACIÓN

El estudio se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales *In vitro* de la Facultad de Ciencias Agrarias, de la Universidad Nacional “Santiago Antúnez de Mayolo”.

##### 3.1.1. Ubicación política

**Departamento** : Ancash  
**Provincia** : Huaraz  
**Distrito** : Independencia

##### 3.1.2. Ubicación geográfica

**Latitud** : -9.5171729° S  
**Longitud** : -77.5251788° W  
**Altitud** : 3080 m.s.n.m.

#### 3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

##### 3.2.1. Material vegetal

Se utilizaron plantas de arándano de la variedad Emerald adquiridas de “Nutriarandanos” ubicada en Calle Los Higos 123, La Molina – Lima, y plantas de arándano de la variedad Biloxi adquiridas de “AGROLUKE” ubicada en jr. Huascarán, Huaraz – Ancash.

##### 3.2.2. Materiales de laboratorio

- Tubos de ensayo con tapa rosca de 10 cm de largo y 1.5 cm de diámetro.
- Vasos de precipitado de 100 ml, 500 ml y 1000 ml.
- Probetas de 100 ml y 500 ml.
- Placas Petri de 150 x 15 mm.
- Pipetas de 1 ml, 2 ml y 5 ml.
- Matraz de 125 ml.

- Mechero de alcohol.
- Fósforos.
- Porta bisturí.
- Hojas de bisturí número 11 y 21.
- Gorro Toca.
- Pinzas de 14 cm de largo.
- Piseta.
- Goteros.
- Guardapolvo.
- Mascarilla.
- Tijera.
- Plástico film.
- Bagueta.
- Gradillas.

### 3.2.3. *Equipos*

- Cámara climática para crecimiento de plantas (Fitotron) – Sanyo (MLR-351H).
- Cámara de flujo laminar – Esco.
- Autoclave vertical.
- pH metro.
- Balanza gramera.
- Balanza analítica.
- Refrigeradora.
- Teléfono inteligente Smartphone.
- Laptop.

- Cocina eléctrica.

#### **3.2.4. Insumos**

- Murashige and Skoog Basal Medium – Sigma.
- Phytigel – thermo scientific.
- D (+) Sucrose pure – H&R Group.
- Carbón activado – J.T.Baker.
- Tween 20 – Sigma.
- Benomil.
- Hipoclorito de Sodio.
- Alcohol Etílico de 70°.
- Alcohol Etílico de 96°.
- Modificadores de pH (NaOH y HCl).
- Agua destilada.
- Agua esterilizada.
- Detergente.
- 6 – benciladenina (BAP) – Caisson Labs.
- Ácido indolbutírico (AIB) – Biolab Reagent.
- Hidróxido de sodio.

#### **3.2.5. Materiales de escritorio**

- Plumón marcador de tinta indeleble.
- Lapicero.
- Cuaderno de apuntes.
- Regla.

### **3.3. MÉTODOS**

#### **3.3.1. Tipo de investigación**

Se trata de una investigación experimental y aplicada debido a que se manipularon las variables estudiadas y los resultados obtenidos permitirán brindar recomendaciones sobre el uso de la fitohormona BAP (6 – benciladenina) en la propagación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald. Además, un experimento implica cambiar el valor de una variable (la variable independiente) y observar su efecto sobre otras variables (la variable dependiente). La investigación se realizó bajo condiciones estrictamente controladas para describir cómo y porque ocurrió una situación o evento en particular (Rus, 2020).

#### **3.3.2. Población o universo**

La población está representada por las plántulas *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald utilizadas en el experimento.

#### **3.3.3. Muestra y unidad de análisis**

La muestra estuvo representada por un tubo de ensayo que en su interior contiene una vitroplanta de arándano *Vaccinium corymbosum* L. y la unidad de análisis estuvo constituida por una vitroplanta de arándano *Vaccinium corymbosum* L., tanto de la variedad Biloxi como de la variedad Emerald, donde se realizaron las observaciones y evaluaciones de los parámetros en estudio, en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales *In vitro* de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNASAM.

#### **3.3.4. Instrumento de recopilación de datos**

El instrumento de recopilación de datos se realizó mediante la observación directa, donde los parámetros evaluados son para determinar el efecto de las distintas concentraciones de la fitohormona BAP (6 – benciladenina) en la propagación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Emerald.

#### **3.3.5. Diseño estadístico**

##### **Fase 1**

Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con 2 tratamientos y 10 repeticiones.

## Fase 2

Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial (2x5) con 10 tratamientos y 4 repeticiones.

### 3.3.6. *Análisis estadístico*

Con la información recopilada se realizó un Análisis de Varianza (ANVA) para determinar el efecto principal de los tratamientos con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ , posteriormente el análisis de varianza de efectos simples solo en la fase 2. Para establecer si existen diferencias estadísticas significativas y para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).

### 3.3.7. *Modelo aditivo lineal*

#### Fase 1

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Es el valor observado en la i-ésima variedad de arándano en la j-ésima repetición.

$\mu$  = Efecto de la media general.

$\tau_i$  = Efecto de la i-ésima variedad de arándano.

$\varepsilon_{ij}$  = Efecto del error experimental en la i-ésima variedad de arándano en la j-ésima repetición.

#### Fase 2

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Es el valor observado en el i-ésimo nivel del factor variedad de arándano, con el j-ésimo nivel del factor concentración de 6-benciladenina, en la k-ésima repetición.

$\mu$  = Efecto de la media general.

$\alpha_i$  = Efecto del i-ésimo nivel del factor variedad de arándano.

$\beta_j$  = Efecto del j-ésimo nivel del factor concentración de 6-benciladenina.

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor variedad de arándano con el j-ésimo nivel del factor concentración de 6-benciladenina.

$\varepsilon_{ijk}$  = Efecto del error experimental en el i-ésimo nivel del factor variedad de arándano, con el j-ésimo nivel del factor concentración de 6-benciladenina, en la k-ésima repetición.

### 3.3.8. Esquema del análisis de varianza

#### Fase 1

**Tabla 2**

*Análisis de varianza para un Diseño Completamente al Azar.*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C.M.</b>	<b>F.C.</b>
Tratamiento	t-1	$\sum X^2_{i.} / r - TC$	$SC_t / t - 1$	$CM_t / CM_e$
Error exp.	t(r-1)	$\sum X^2_{j.} - \sum X^2_{i.} / r * t$	$SC_e / t(r-1)$	
<b>TOTAL</b>	<b>r t - 1</b>	<b><math>\sum X^2_{ij} - TC</math></b>		

#### Fase 2

**Tabla 3**

*Análisis de varianza para un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial (AxB).*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C.M.</b>	<b>F.C.</b>
A	a-1	$\sum X^2_{i.} / b r - Tc$	$SC_A / (a - 1)$	$CM_A / CM_e$
B	b-1	$\sum X^2_{.j} / a r - Tc$	$SC_B / (b - 1)$	$CM_B / CM_e$
AB	(a-1)(b-1)	$\sum X^2_{ij} / r - Tc$	$SC_{AB} / (a - 1)(b - 1)$	$CM_{AB} / CM_e$
Error exp.	(ab-1)(r-1)	Diferencia	$SC_E / (a b - 1)(r - 1)$	
<b>TOTAL</b>	<b>a b r - 1</b>	<b><math>\sum X^2_{ij} - Tc</math></b>		

## Coefficiente de variabilidad

$$CV = \frac{\sqrt{CMerror}}{\bar{y}} \times 100$$

### 3.3.9. Tratamientos

#### Fase 1

Tabla 4

*Tratamientos en estudio de la Fase 1.*

Tratamientos	Descripción
T1	Arándano var. Emerald
T2	Arándano var. Biloxi

#### Fase 2

Tabla 5

*Interacción de los factores de la Fase 2.*

Factor A: variedad	Factor B: Concentración de fitohormona BAP (6 – benciladenina) en mg L <sup>-1</sup>				
	0 mg L <sup>-1</sup>	1 mg L <sup>-1</sup>	3 mg L <sup>-1</sup>	6 mg L <sup>-1</sup>	9 mg L <sup>-1</sup>
	(B1)	(B2)	(B3)	(B4)	(B5)
<b>Emerald (A1)</b>	A1B1	A1B2	A1B3	A1B4	A1B5
<b>Biloxi (A2)</b>	A2B1	A2B2	A2B3	A2B4	A2B5

**Tabla 6***Tratamientos en estudio de la Fase 2.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Combinación clave</b>	<b>Descripción</b>
T1	A1B1	Arándano var. Emerald con 0 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T2	A1B2	Arándano var. Emerald con 1 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T3	A1B3	Arándano var. Emerald con 3 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T4	A1B4	Arándano var. Emerald con 6 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T5	A1B5	Arándano var. Emerald con 9 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T6	A2B1	Arándano var. Biloxi con 0 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T7	A2B2	Arándano var. Biloxi con 1 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T8	A2B3	Arándano var. Biloxi con 3 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T9	A2B4	Arándano var. Biloxi con 6 mg L <sup>-1</sup> de BAP
T10	A2B5	Arándano var. Biloxi con 9 mg L <sup>-1</sup> de BAP

**3.3.10. Randomización****Fase 1****Tabla 7***Randomización de los tratamientos de la Fase 1.*

<b>Repetición</b>	<b>Tratamientos</b>	
<b>R1</b>	T1	T2
<b>R2</b>	T2	T1
<b>R3</b>	T1	T2
<b>R4</b>	T1	T2
<b>R5</b>	T2	T1
<b>R6</b>	T1	T2
<b>R7</b>	T2	T1
<b>R8</b>	T2	T1
<b>R9</b>	T1	T2
<b>R10</b>	T2	T1

## Fase 2

Tabla 8

*Randomización de los tratamientos de la Fase 2.*

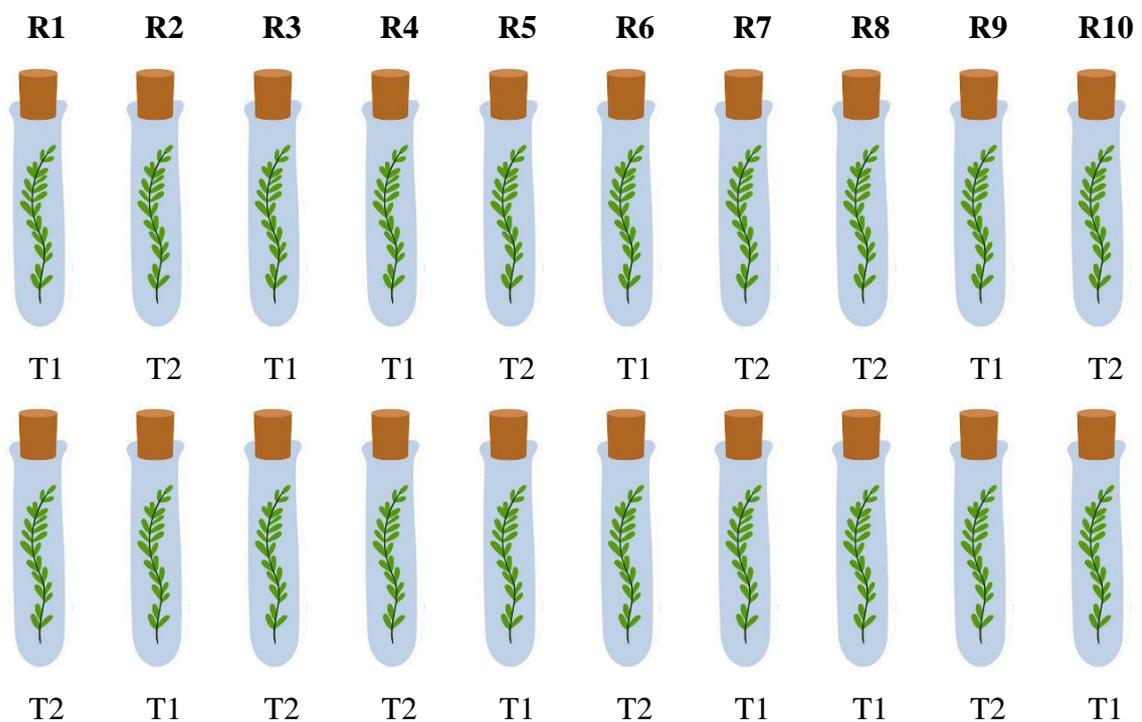
Rep.	Tratamientos									
<b>R1</b>	T2	T4	T3	T7	T9	T10	T1	T5	T6	T8
<b>R2</b>	T5	T1	T2	T3	T10	T9	T8	T7	T4	T6
<b>R3</b>	T1	T4	T5	T10	T8	T9	T2	T3	T6	T7
<b>R4</b>	T3	T5	T6	T9	T1	T2	T4	T10	T7	T8

### 3.3.11. Campo experimental

#### Fase 1

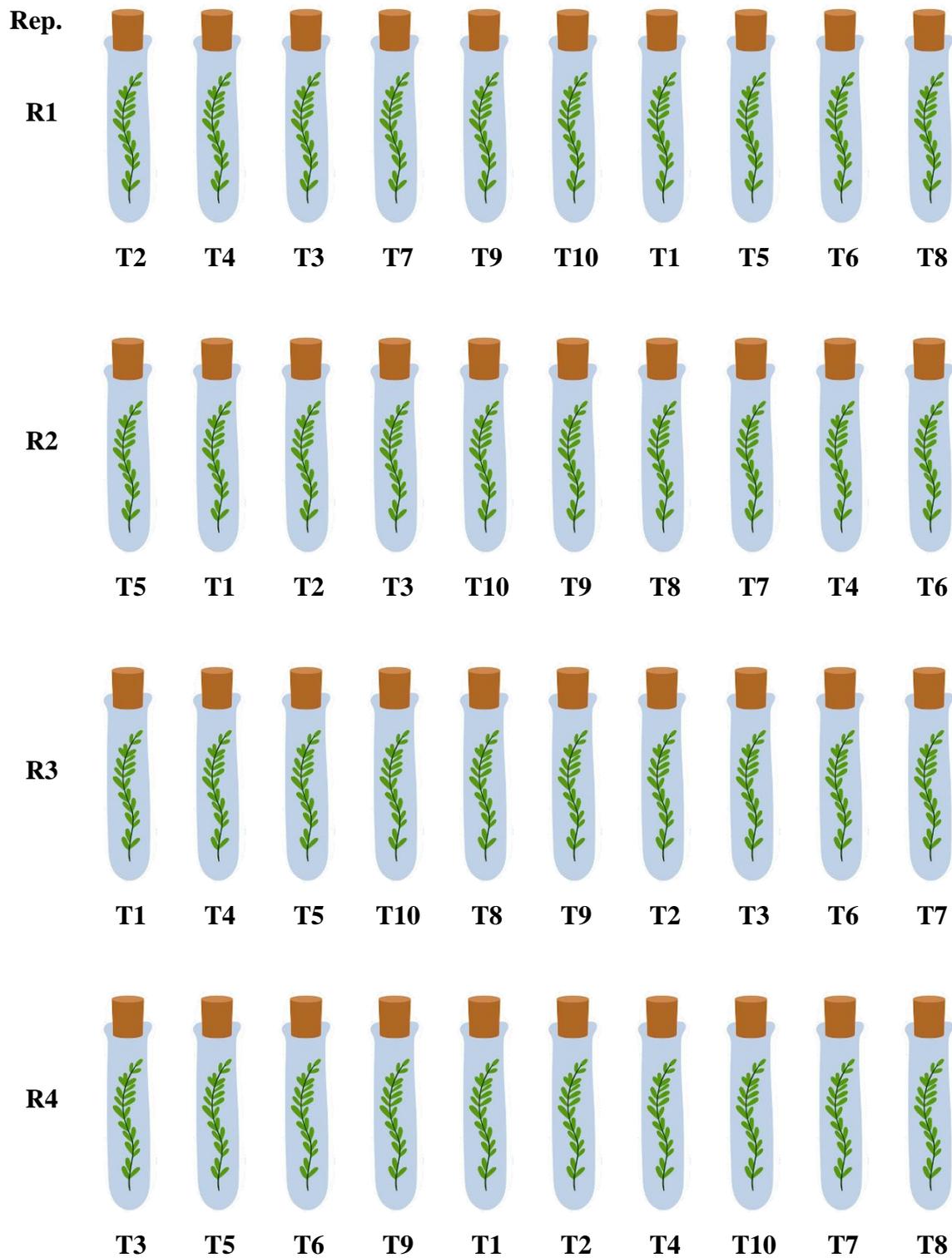
Figura 2

*Esquema del campo experimental de la Fase 1.*



**Figura 3**

*Esquema del campo experimental de la Fase 2.*



### 3.3.12. Parámetros evaluados

La evaluación se realizó a los 60 días posterior a la multiplicación *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. para ambas variedades.

**A. Altura de vitroplanta.** Se retiró el plástico film de todos los tubos de ensayo y se midió la altura de vitroplanta colocándose una regla al costado del tubo de ensayo, se midió desde el cuello hasta el ápice de la vitroplanta registrándose todos los datos obtenidos.

#### Figura 4

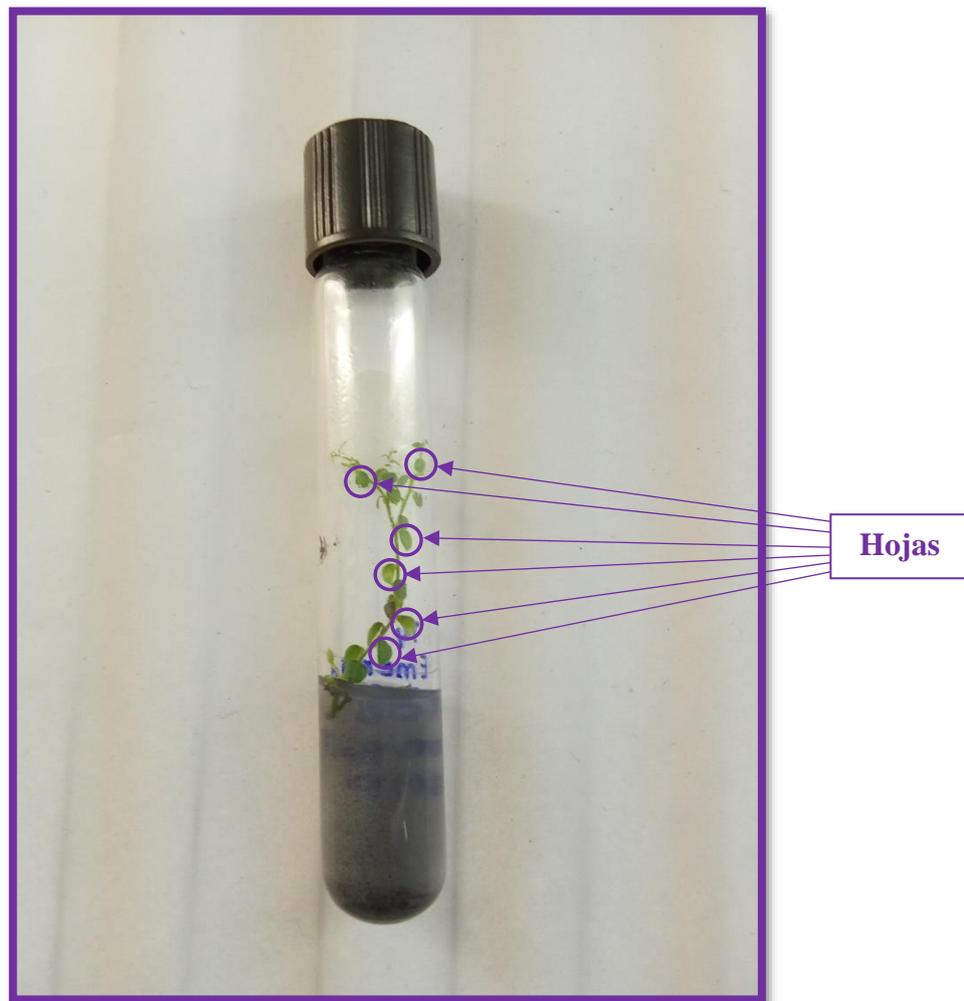
*Medición de altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la fase de multiplicación in vitro de arándano Vaccinium corymbosum L.*



**B. Número de hojas.** Se contó el número de hojas de cada una de las vitroplantas de ambas variedades y se registraron los datos obtenidos.

**Figura 5**

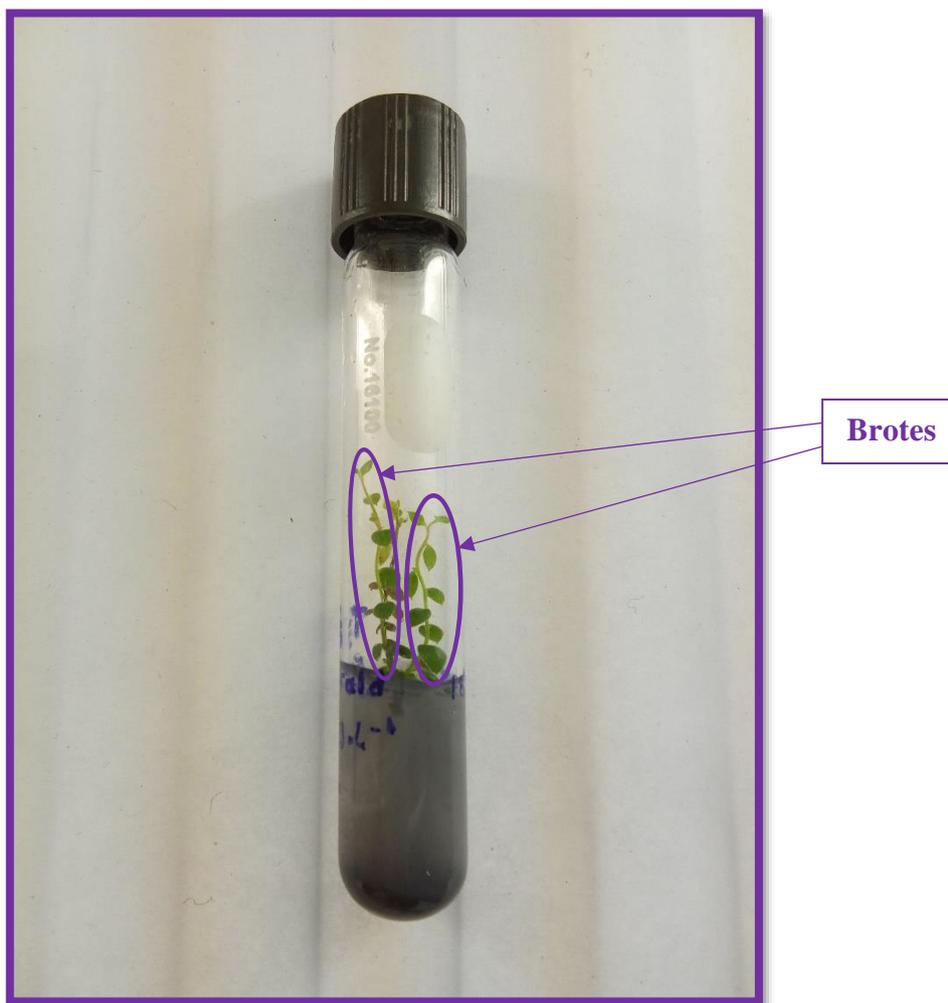
*Conteo de número de hojas a los 60 días posterior a la fase de multiplicación in vitro de arándano Vaccinium corymbosum L.*



C. **Número de brotes.** Se contó el número de brotes de cada una de las vitroplantas de ambas variedades y se registraron los datos obtenidos.

**Figura 6**

*Conteo de número de brotes a los 60 días posterior a la fase de multiplicación in vitro de arándano Vaccinium corymbosum L.*



**D. Raíz.** Se observaron cada una de las vitroplantas de ambas variedades para determinar si hay o no formación de raíces, registrándose los resultados obtenidos.

### Figura 7

*Evaluación de presencia de raíces a los 60 días posterior a la fase de multiplicación in vitro de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*



## 3.4. PROCEDIMIENTOS

### 3.4.1. *Traslado de las plantas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. al invernadero*

Una vez fueron adquiridas las plantas de arándano de las variedades Biloxi y Emerald fueron trasladadas al Invernadero de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNASAM, durante un periodo mínimo de un mes con el fin de observar alguna reacción patológica.

## Figura 8

*Plantas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. en el Invernadero de la Facultad de Ciencias Agrarias – UNASAM.*



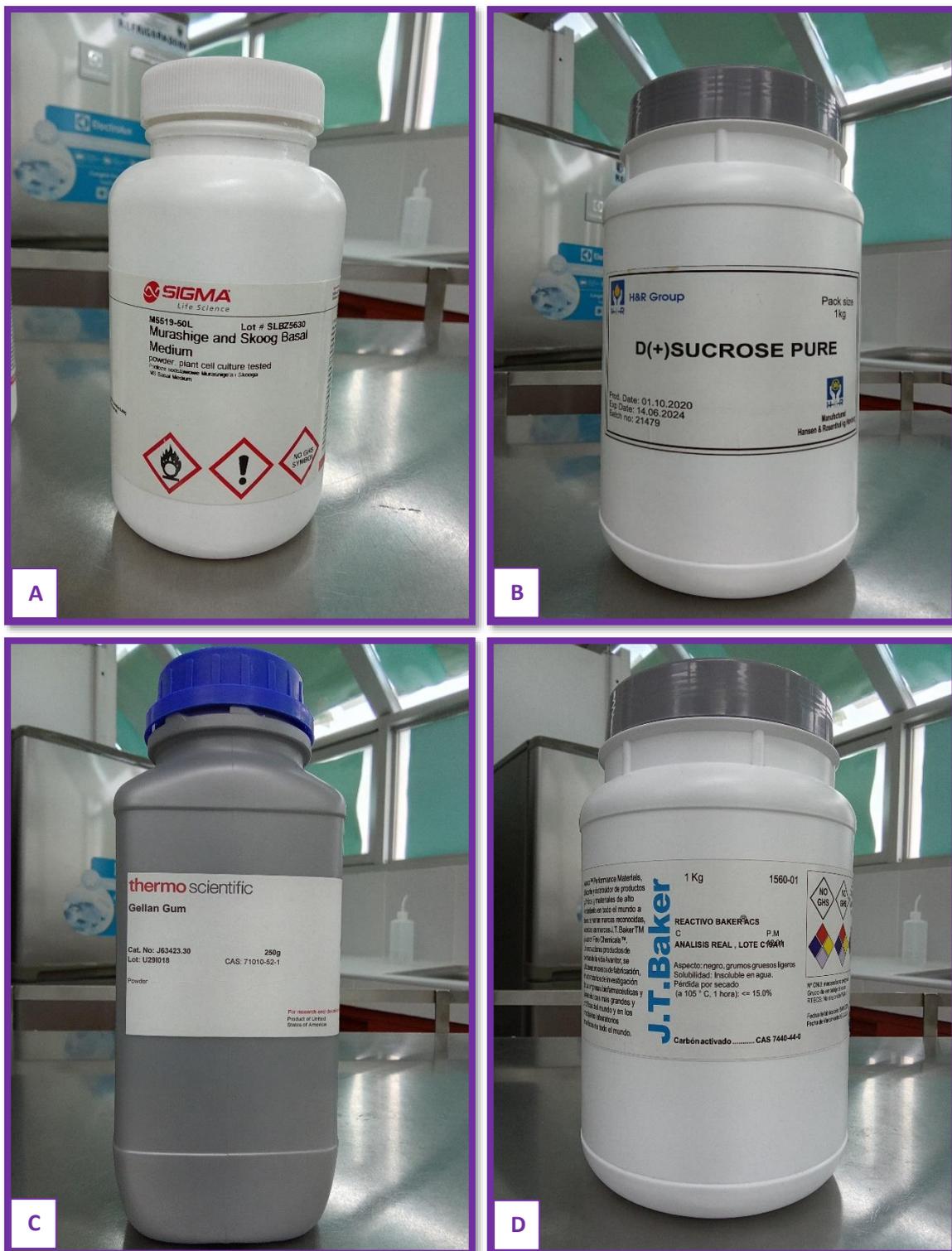
### 3.4.2. Preparación de medio de cultivo

El medio de cultivo fue preparado unos días antes de la siembra y conservadas en la refrigeradora, el medio de cultivo usado fue el descrito por Murashige y Skoog (MS) (1962), complementada con sacarosa, phytigel y carbón activado, con la siguiente composición:

- **MS:** 4 gL<sup>-1</sup>
- **Sacarosa:** 30 gL<sup>-1</sup>
- **Phytigel:** 3.5 gL<sup>-1</sup>
- **Carbón activado:** 2 gL<sup>-1</sup>

**Figura 9**

*Insumos usados para la preparación de medio de cultivo.*



*Nota:* Murashige and Skoog Basal Medium (A), D(+)-Sucrose pure (B), Phytigel (C) y Carbón Activado (D).

Para 320 ml de medio de cultivo se siguió el siguiente procedimiento:

- En un vaso de precipitados verter 64 ml de agua destilada (la quinta parte del total a preparar).
- Añadir 1.28 g de MS y 9.6 g de sacarosa.
- Con una bagueta remover constantemente por varios minutos hasta lograr una mezcla homogénea.
- Pasar la solución a una probeta.
- Enrazar con agua destilada a 320 ml.
- Remover con una bagueta.
- Pasar la solución a un vaso de precipitados.
- Añadir 0.64 g de carbón activado.
- Remover con una bagueta por varios minutos hasta obtener una mezcla homogénea.
- Ajustar el pH a 5.7 con NaOH al 0.10% (para subir el pH) y/o HCL al 0.10% (para bajar el pH).
- Calentar la solución en la cocina eléctrica y añadir 1.12 g de phytigel.
- Dejar la solución en la cocina eléctrica hasta que de un ligero hervor y retirar inmediatamente.
- Verter 4 ml de medio de cultivo a cada tubo de ensayo.
- Asegurar cada tubo de ensayo con su respectiva tapa.
- Autoclavar durante 18 minutos a 121 °C.

### 3.4.3. Elección del material vegetativo

La propagación *in vitro* se desarrolló a través de yemas tomándose explantes provenientes de plantas jóvenes, se revisaron cada una de las ramas de las plantas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. observándose las yemas axilares, si estas son pequeñas y de color verde son buenas yemas para ser propagadas, en cambio si son de color marrón o negro estas yemas no son buenas para ser propagadas a condiciones de laboratorio.

Una vez identificadas las ramas que son adecuadas para ser propagadas en laboratorio, fueron cortadas desde la base con una tijera previamente desinfectada con alcohol de 96°, las ramas cortadas fueron colocadas en una fuente de plástico, se rotularon de acuerdo a la variedad que le corresponde y fueron llevadas al laboratorio.

#### Figura 10

*Selección y corte de explantes de arándano Vaccinium corymbosum L.*



#### 3.4.4. Corte y lavado del material vegetativo

Para el corte y lavado del material vegetativo se siguió el siguiente procedimiento:

- En las fuentes de plástico con los explantes agregar agua y detergente.
- Remover con la mano hasta formar espuma y el detergente se disuelva.
- Dejar reposar por 5 minutos.
- Cortar las ramas en estacas de 5 a 6 centímetros aproximadamente.
- Cortar las hojas a la mitad.
- Enjuagar con abundante agua.
- Trasladar las fuentes de plástico con las estacas cortadas, a la cámara de flujo laminar.
- Con una pinza mover las estacas a vasos de precipitados (un vaso para cada variedad).
- Rotular cada vaso de precipitados con la variedad que le corresponde.

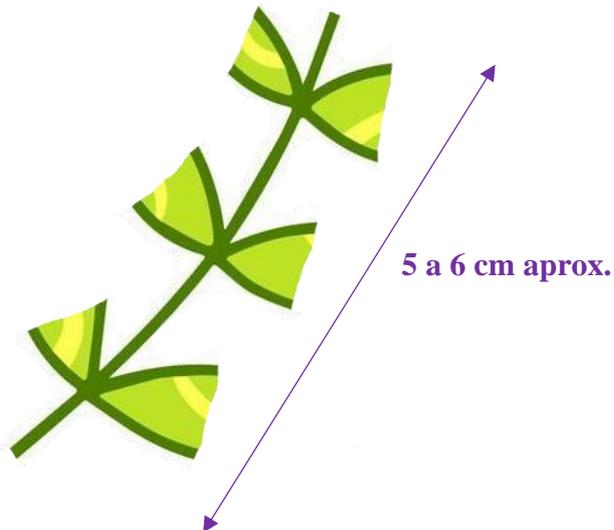
**Figura 11**

*Lavado con agua y detergente de los explantes de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*



## Figura 12

Representación de las estacas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. después de haber realizado los cortes.



### 3.4.5. Desinfección del material vegetativo

La desinfección se realizó haciendo uso de la cámara de flujo laminar y en condiciones estériles utilizando los siguientes insumos:

- Benomil:  $2 \text{ gL}^{-1}$
- Tween 20
- Hipoclorito de Sodio
- Alcohol de  $70^\circ$

**Figura 13**

*Insumos usados para la desinfección del material vegetativo.*



*Nota: Benomil (A), Tween 20 (B), Hipoclorito de Sodio (C) y Alcohol etílico de 70° (D).*

Para la desinfección del material vegetativo se siguió el siguiente procedimiento:

- A cada vaso de precipitados con los explantes cortados agregar 400 ml de agua esterilizada.
- Añadir a cada vaso de precipitados 0.8 g de benomil.
- Remover con una pinza hasta que el benomil se disuelva.
- Dejar reposar por 1 hora (cada 20 minutos revisar cada vaso de precipitados y remover nuevamente con la pinza).
- Enjuagar por 5 repeticiones con agua esterilizada.
- Con una pinza trasladar los esquejes a otros vasos de precipitados.
- Rotular nuevamente cada vaso de precipitados de acuerdo a la variedad que le corresponda.
- Añadir 400 ml de agua esterilizada a cada vaso de precipitados.
- Agregar 1% de Tween 20 a cada vaso de precipitados.
- Remover con la pinza hasta que se combine.
- Dejar reposar durante 20 minutos.
- Enjuagar por 5 repeticiones con agua esterilizada.
- Añadir 400 ml de agua esterilizada a cada vaso de precipitados.
- Agregar hipoclorito de sodio al 10%.
- Remover con una pinza.
- Dejar reposar por 8 minutos.
- Enjuagar por 5 repeticiones con agua esterilizada.
- Añadir 400 ml de agua esterilizada a cada vaso de precipitados.
- Agregar alcohol de 70° al 10%.
- Dejar reposar por 40 segundos.
- Enjuagar por 5 repeticiones con agua esterilizada.

- Con una pinza esterilizada trasladar las estacas a vasos de precipitados esterilizados.
- Rotular cada vaso de precipitados con la variedad que le corresponda.

#### 3.4.6. *Siembra de los explantes de arándano Vaccinium corymbosum L.*

La siembra se realizó haciendo uso de la cámara de flujo laminar y en condiciones estériles, siguiendo el siguiente procedimiento:

- Con una pinza esterilizada extraer una estaca y colocarla sobre la placa Petri.
- Sujetar la estaca con una pinza y con el bisturí N° 21 cortar las hojas.
- Con el bisturí N° 21 cortar en micro estacas de aproximadamente 1.5 cm de largo con un nudo.
- Colocar una micro estaca dentro del tubo de ensayo con medio de cultivo.
- Con el bisturí N° 11 acomodar la micro estaca dentro del tubo de ensayo, que la micro estaca quede al centro y la mitad sumergida en el medio de cultivo.
- Flamear en el mechero la boca del tubo de ensayo y la parte interna de la tapa del tubo.
- Asegurar el tubo de ensayo con su respectiva tapa.
- Finalizada la siembra, rotular todos los tubos de ensayo con la variedad que le corresponde y la fecha.
- Sellar los tubos de ensayo con plástico film.
- Colocar los tubos de ensayo en gradillas.
- Trasladarlas a la cámara climática para crecimiento de plantas (Fitotron).

**Figura 14**

*Micropropagación de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*



**Figura 15**

*Vitroplantas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. en el fitotron después de la siembra.*



### 3.4.7. Condiciones climáticas

La cámara climática para crecimiento de plantas (Fitotron) fue configurada bajo los siguientes parámetros y se mantuvo de esa manera hasta el final de la investigación.

#### **Horas luz**

16 horas luz

700 lux de intensidad lumínica

25 °C

#### **Horas oscuridad**

8 horas de oscuridad

21 °C

#### **Humedad**

Humedad constante de 70%

**Figura 16**

*Pantalla principal del fitotron en horas luz.*



**Figura 17**

*Pantalla principal del fitotron en horas de oscuridad.*



### **3.4.8. Revisión de plantas contaminadas**

La evaluación de contaminación se realizó tanto a los tres días como a los siete días posteriores a la siembra, los tubos de ensayo que presentaron contaminación fueron retirados inmediatamente.

### **3.4.9. Preparación de medio de cultivo con fitohormonas**

**A. Solución stock.** Para 125 ml de solución stock de BAP (6 – benciladenina) a una concentración de 100 ppm se siguió el siguiente procedimiento:

- Un día antes esterilizar en autoclave todos los materiales a utilizar.
- Pesar 12.5 mg de BAP.
- Pasar a un matraz.
- En la cámara de flujo laminar, adicionar al matraz gotas de NaOH 1N hasta que el BAP se disuelva.
- Añadir agua destilada hasta los 125 ml y remover con una bagueta.

- Colocar un tapón elaborado con gasa y algodón previamente esterilizados en autoclave.
- Rotular el matraz con el nombre de la fitohormona, concentración, fecha y el nombre de la persona que lo elaboró.
- Cubrir todo el matraz con papel aluminio y conservar en la refrigeradora a  $-8^{\circ}\text{C}$ .

**Figura 18**

*Materiales de laboratorio esterilizados en autoclave y el BAP (6 – benciladenina).*



**B. Medio de cultivo.** El medio de cultivo fue preparado unos días antes de la multiplicación *in vitro*, el medio de cultivo usado fue el descrito por Murashige y Skoog (MS) (1962), complementada con sacarosa, phytigel, carbón activado y BAP (6 – benciladenina), con la siguiente composición:

**MS:**  $4\text{ gL}^{-1}$

**Sacarosa:**  $30\text{ gL}^{-1}$

**Phytigel:**  $3.5\text{ gL}^{-1}$

**Carbón activado:**  $2\text{ gL}^{-1}$

**BAP (6 – benciladenina):**

A una concentración de  $0\text{ mgL}^{-1}$ ,  $1\text{ mgL}^{-1}$ ,  $3\text{ mgL}^{-1}$ ,  $6\text{ mgL}^{-1}$  y  $9\text{ mgL}^{-1}$ .

Para la adición de las fitohormonas se usó la fórmula  $C_1.V_1 = C_2.V_2$  y para la preparación de 320 ml de medio de cultivo con fitohormonas se siguió el siguiente procedimiento:

- En un vaso de precipitados verter 64 ml de agua destilada (la quinta parte del total a preparar).
- Añadir 1.28 g de MS y 9.6 g de sacarosa.
- Con una bagueta remover constantemente por varios minutos hasta lograr una mezcla homogénea.
- Pasar la solución a una probeta.
- Enrazar con agua destilada a 320 ml.
- Remover con una bagueta.
- Pasar la solución a un vaso de precipitados.
- Añadir 0.64 g de carbón activado.
- Remover con una bagueta por varios minutos hasta obtener una mezcla homogénea.
- Distribuir la solución en 5 vasos de precipitados (64 ml a cada vaso de precipitados).
- Para una concentración de  $0 \text{ mgL}^{-1}$ , al primer vaso de precipitados no añadir nada.
- Para una concentración de  $1 \text{ mgL}^{-1}$ , al segundo vaso de precipitados añadir 0.64 ml de la solución stock de BAP (6 – benciladenina) a una concentración de 100 ppm.
- Para una concentración de  $3 \text{ mgL}^{-1}$ , al tercer vaso de precipitados añadir 1.92 ml de la solución stock de BAP (6 – benciladenina) a una concentración de 100 ppm.
- Para una concentración de  $6 \text{ mgL}^{-1}$ , al cuarto vaso de precipitados añadir 3.84 ml de la solución stock de BAP (6 – benciladenina) a una concentración de 100 ppm.
- Para una concentración de  $9 \text{ mgL}^{-1}$ , al quinto vaso de precipitados añadir 5.76 ml de la solución stock de BAP (6 – benciladenina) a una concentración de 100 ppm.

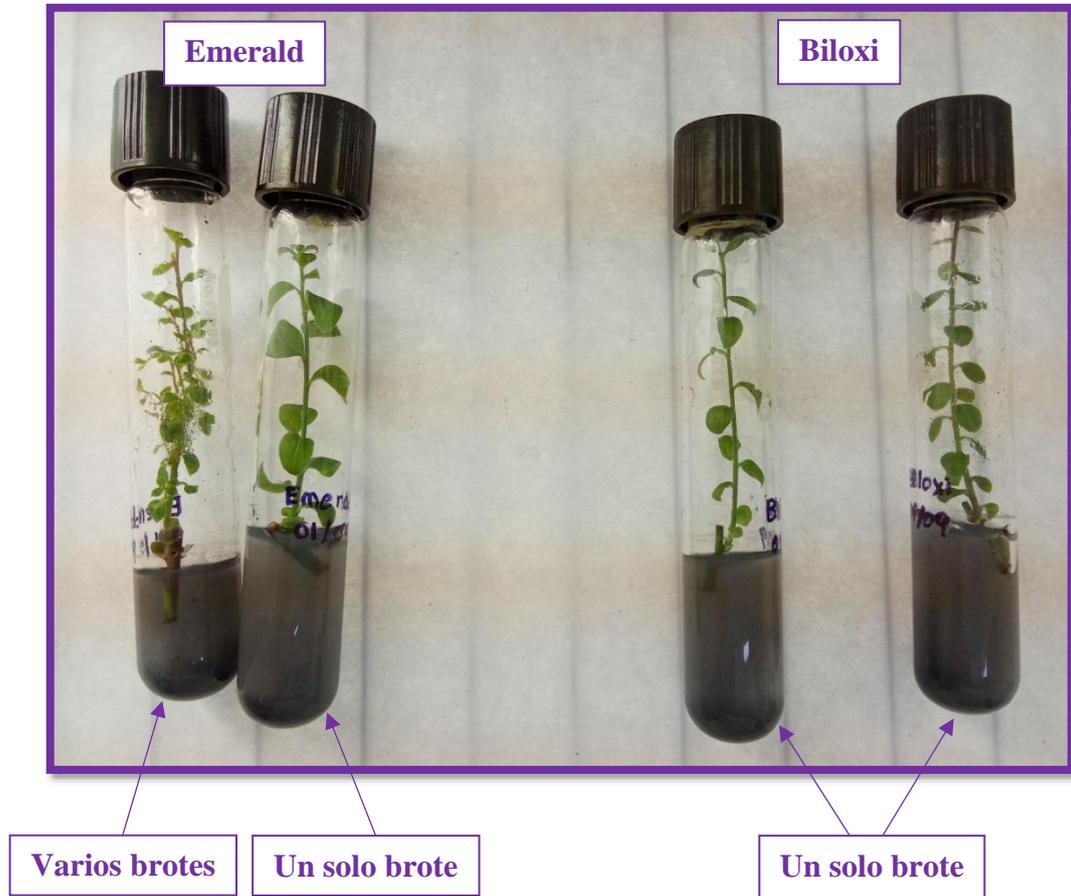
- Ajustar el pH a 5.7 a cada vaso de precipitados con NaOH al 0.10% (para subir el pH) y/o HCL al 0.10% (para bajar el pH).
- Calentar la solución en la cocina eléctrica y añadir 0.224 g de phytigel.
- Dejar la solución en la cocina eléctrica hasta que de un ligero hervor y retirar inmediatamente.
- Verter 4 ml de medio de cultivo a cada tubo de ensayo.
- Asegurar cada tubo de ensayo con su respectiva tapa.
- Rotular cada tubo de ensayo con la concentración de BAP que le corresponde.
- Autoclavar durante 18 minutos a 121° C.

#### ***3.4.10. Fase de multiplicación in vitro de arándano Vaccinium corymbosum L.***

La fase de multiplicación *in vitro* se realizó 45 días posterior a la fase de iniciación o establecimiento, las vitroplantas usadas como plantas madre alcanzaron tamaños de 5.5 a 6 cm de altura.

**Figura 19**

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum L. de las variedades Emerald y Biloxi de 45 días de edad usadas para la fase de multiplicación in vitro.*



La multiplicación *in vitro* se realizó haciendo uso de la cámara de flujo laminar y en condiciones estériles, siguiendo el siguiente procedimiento:

- Con una pinza y con mucho cuidado retirar la vitroplanta del tubo de ensayo.
- Colocar la vitroplanta sobre la placa Petri.
- Realizar un corte en la base de la vitroplanta a unos 5 milímetros aproximadamente.
- Cortar las hojas grandes.
- Dejar las hojas pequeñas.
- Realizar cortes seleccionando estacas de mínimo tres nudos.

- Si la vitroplanta presenta ocho nudos, realizar el corte en dos estacas de cuatro nudos.
- Para vitroplantas con varios brotes, realizar el corte de acuerdo al tamaño.
- Los brotes pequeños no deben de ser cortadas del tallo principal.
- Para los brotes de regular tamaño y con un mínimo de tres nudos, realizar el corte desde la base.
- Sembrar una estaca dentro del tubo de ensayo con medio de cultivo.
- Flamear con el mechero la boca del tubo de ensayo y la parte interna de la tapa.
- Asegurar el tubo de ensayo con su respectiva tapa.
- Una vez finalizado, rotular los tubos de ensayo con el nombre de la variedad, concentración de fitohormona y la fecha.
- Sellar los tubos de ensayo con plástico film.
- Colocar los tubos de ensayo en gradillas.
- Trasladarlas a la cámara climática para crecimiento de plantas (Fitotron).

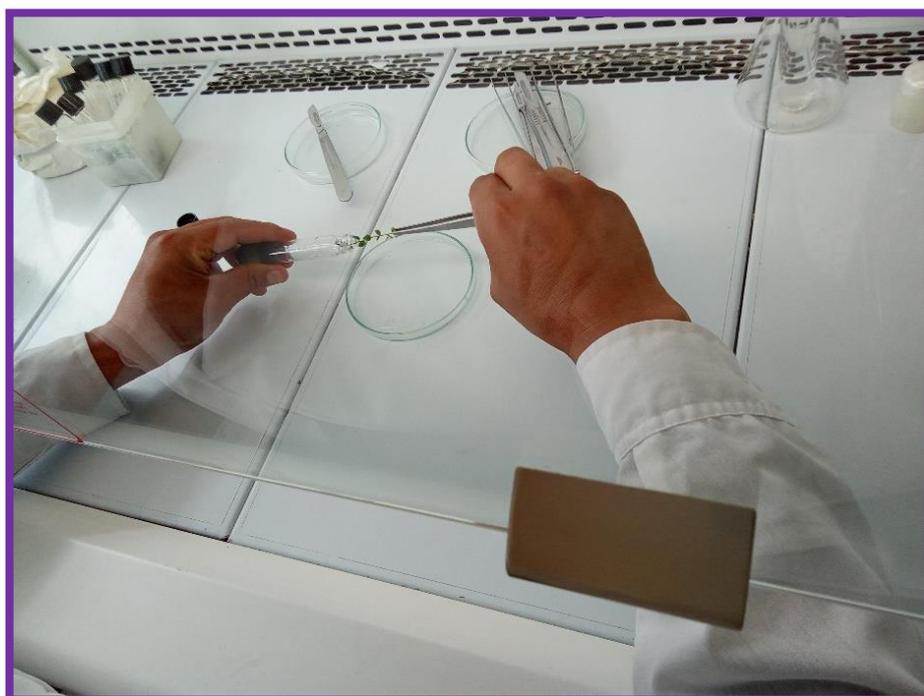
**Figura 20**

*Fase de multiplicación in vitro de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*



**Figura 21**

*Extracción de la vitroplanta de arándano *Vaccinium corymbosum* L. del tubo de ensayo.*



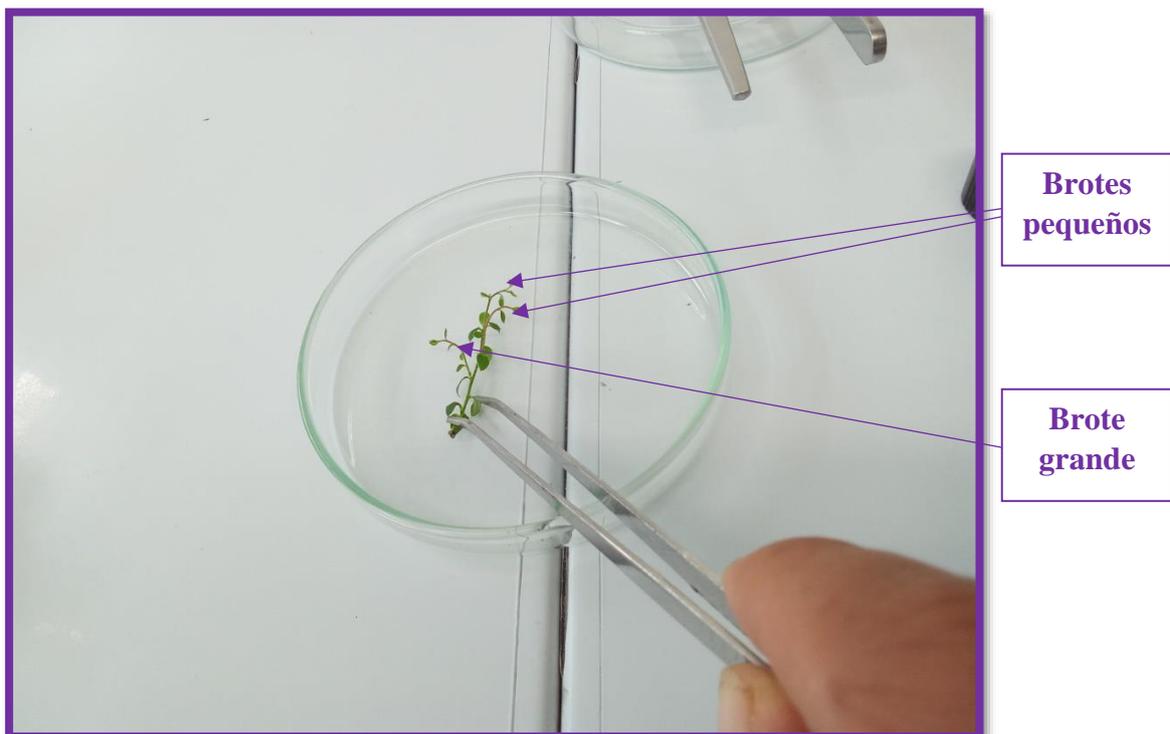
**Figura 22**

*Vitroplanta de arándano Vaccinium corymbosum L. de un solo brote en la placa Petri.*



**Figura 23**

*Vitroplanta de arándano Vaccinium corymbosum L. con varios brotes en la placa Petri.*



## Figura 24

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum L. en el fitotron después de la fase multiplicación in vitro.*



### 3.4.11. Revisión de plantas contaminadas

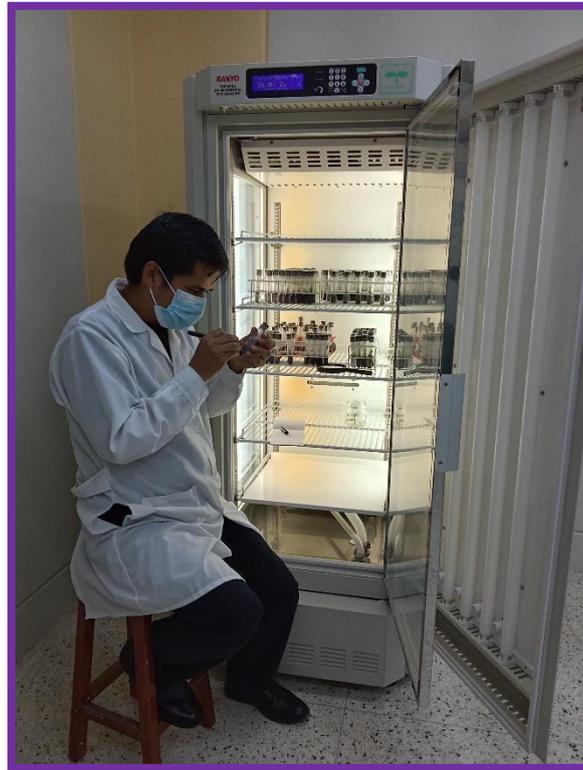
La evaluación de contaminación se realizó tanto a los tres días como a los siete días posteriores a la multiplicación *in vitro*, al no encontrarse tubos de ensayo con contaminación fueron dejadas tal cual como están.

### 3.4.12. Evaluación final

La evaluación final se realizó a 60 días posterior a la fase de multiplicación *in vitro*, se evaluó la altura de vitroplanta, número de hojas, número de brotes y presencia de raíces. Se retiró el plástico film de los tubos de ensayo, no fue necesario sacar la vitroplanta del tubo, se colocó una hoja de papel blanca dentro de fitotron y sobre ella los tubos de ensayo para observar mejor. Finalizada la evaluación final se volvió a colocar el plástico film a cada tubo de ensayo.

## Figura 25

*Evaluación final y recolección de datos.*



Se revisaron todos los tubos de ensayo de forma constante buscando la presencia de raíces, al no encontrar raíces se registró el día en que se detectó la formación de callos.

### **3.4.13. Ensayos con BAP (6 – benciladenina) + AIB (Ácido indolbutírico)**

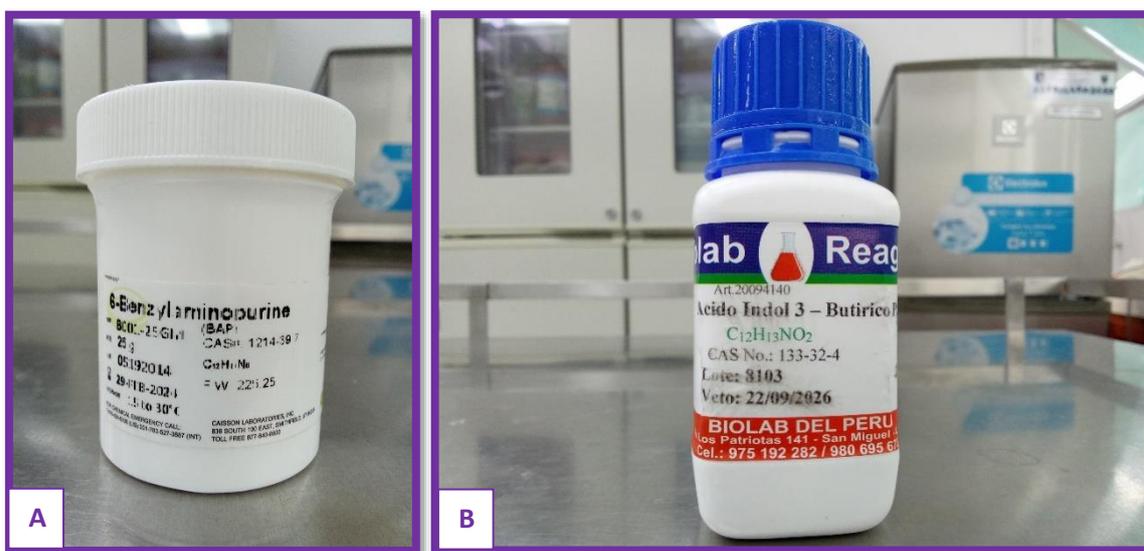
Al no encontrar formación de raíces, se decidió probar combinando BAP (6 – benciladenina) + AIB (Ácido indolbutírico), con las siguientes concentraciones de fitohormonas:

- BAP
- BAP + 1 mgL<sup>-1</sup> de AIB
- 3 mgL<sup>-1</sup> de AIB
- BAP + 9 mgL<sup>-1</sup> de AIB

*Nota:* BAP (para Biloxi 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP y para Emerald 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP)

**Figura 26**

*BAP (6 – benciladenina) y AIB (Ácido indolbutírico) usadas en el ensayo.*



Se realizó la siembra con explantes provenientes de plantas de arándano que se encontraban en el invernadero, se desinfectaron y se sembraron de acuerdo a las concentraciones mencionadas.

#### **3.4.14. Revisión de plantas contaminadas**

La evaluación de contaminación se realizó tanto a los tres días como a los siete días posteriores a la siembra, los tubos de ensayo que presentaron contaminación fueron retirados inmediatamente.

#### **3.4.15. Evaluación de BAP (6 – benciladenina) + AIB (Ácido indolbutírico)**

Se evaluaron de forma constante por si había presencia de raíces, pero no se encontraron, solo se pudo observar que la concentración de AIB (Ácido indolbutírico) más alta evaluada en el ensayo indujo a una formación de callos más acelerada y se registraron los días en que se detectaron la formación de callos.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. RESULTADOS DE LA FASE 1

#### 4.1.1. Altura de vitroplanta en la F1 en ausencia de fitohormonas

**Tabla 9**

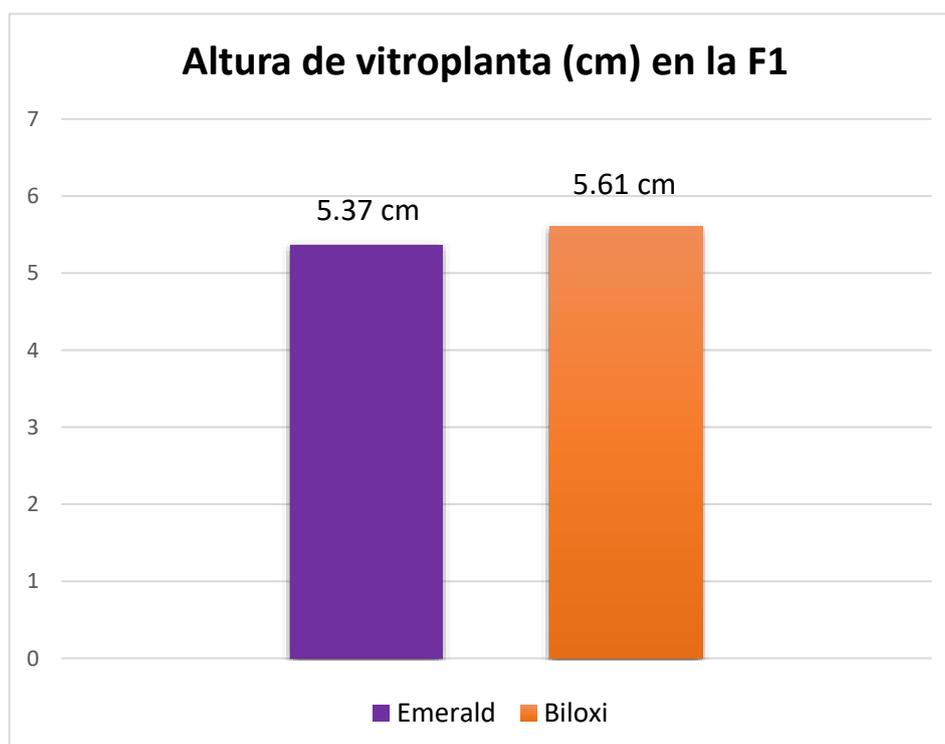
*Análisis de varianza de altura de vitroplanta a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F	
Variedad	1	0.2880	0.2880	2.55	n.s.
Error	18	2.0300	0.1128		
Total	19	2.3180			

En la tabla 9 de análisis de varianza se observa que no se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las variedades. El coeficiente de variabilidad es de 6.12%, lo que indica que la estimación es precisa.

**Figura 27**

*Efecto de la siembra en la F1 en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, en la altura de vitroplanta de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*



En la figura 27 se observa la altura de vitroplanta de arándano *Vaccinium corymbosum* L. a los 45 días de la siembra en la F1, sembradas en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, ambas variedades pasaron los 5 cm de altura. Al momento de realizar la evaluación se observó que varias vitroplantas alcanzaron el tamaño del tubo de ensayo y el ápice de la vitroplanta ya estaba por tocar la tapa.

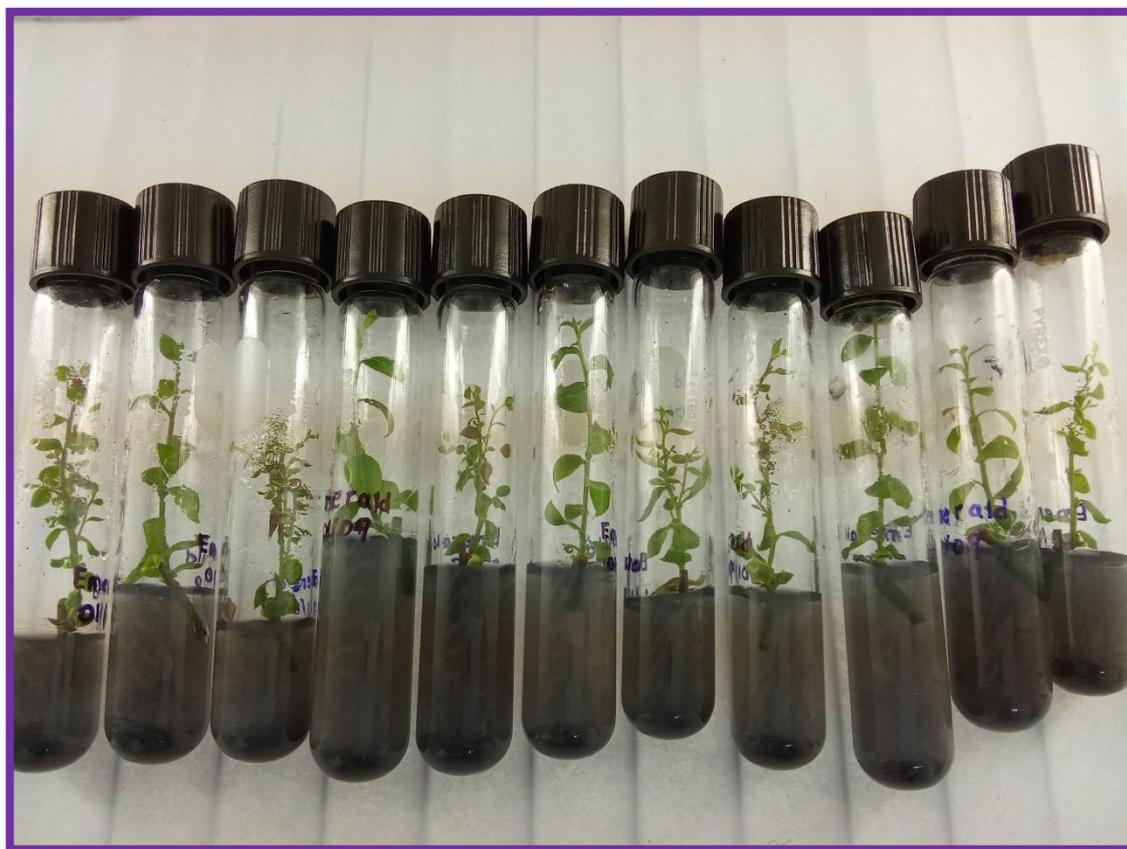
### Figura 28

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum* L. en la F1 a 45 días posteriores a la siembra, variedad Biloxi.



**Figura 29**

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum L. en la F1 a 45 días posteriores a la siembra, variedad Emerald.*



#### 4.1.2. Número de hojas en la F1 en ausencia de fitohormonas

**Tabla 10**

*Análisis de varianza de número de hojas a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F	
Variedad	1	7.1708	7.1708	159.46	*
Error	18	0.8094	0.04497		
Total	19	7.9803			

En la tabla 10 de análisis de varianza se observa que se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las variedades. El coeficiente de variabilidad es de 4.78%, lo que indica que la estimación es precisa.

**Tabla 11**

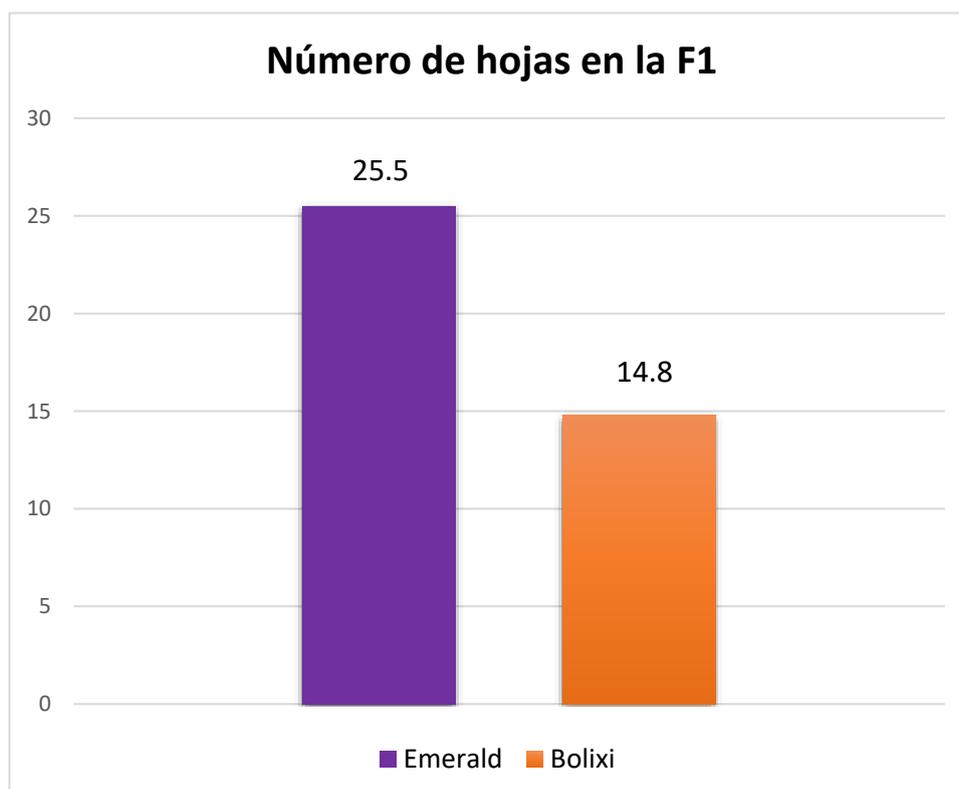
*Prueba de comparación de medias de Tukey para variedad en la variable número de hojas a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*

Variedad	Promedio		
Emerald	25.5	A	
Biloxi	14.8		B

En la tabla 11 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para variedad, nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre las variedades, Emerald con 25.5 hojas y Biloxi con 14.8 hojas. Es decir, que hay un efecto de variedad en el número de hojas a los 45 días posteriores a la siembra en la F1.

**Figura 30**

*Efecto de la siembra en la F1 en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, en el número de hojas de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*



En la figura 30 se observa el número de hojas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. a los 45 días de la siembra en la F1, sembradas en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, la variedad Emerald es mayor con 25.5 hojas que la variedad Biloxi con 14.8 hojas. Estos resultados son debido a que la variedad Emerald presentó dos comportamientos, vitroplantas con un solo brote y vitroplantas con varios brotes, cada brote con sus respectivas hojas, aumentando el promedio de hojas en general para la variedad Emerald.

#### 4.1.3. Número de brotes en la F1 en ausencia de fitohormonas

**Tabla 12**

*Análisis de varianza de número de brotes a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	
Variedad	1	4.92619	4.92619	1216.71	*
Error	18	0.07288	0.00405		
Total	19	4.99907			

En la tabla 12 de análisis de varianza se observa que se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las variedades. El coeficiente de variabilidad es de 3.33%, lo que indica que la estimación es precisa.

**Tabla 13**

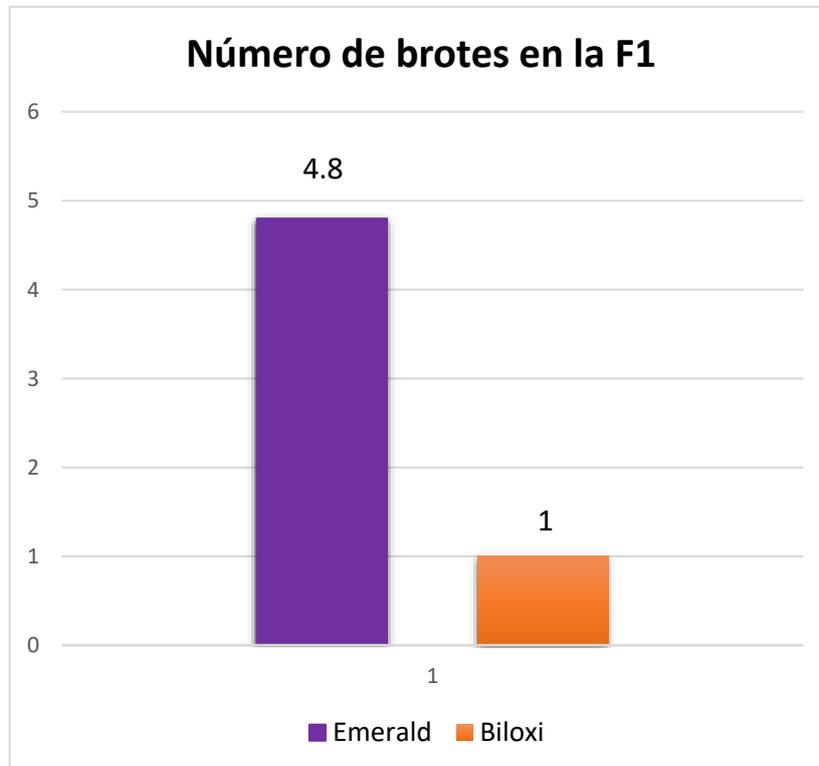
*Prueba de comparación de medias de Tukey para variedad en la variable número de brotes a los 45 días posterior a la siembra en la F1 de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*

<b>Variedad</b>	<b>Promedio</b>	
Emerald	4.8	A
Biloxi	1	B

En la tabla 13 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para variedad, nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre las variedades, Emerald con 4.8 brotes y Biloxi con 1 brote. Es decir, que hay un efecto de variedad en el número de brotes a los 45 días posteriores a siembra en la F1.

**Figura 31**

*Efecto de la siembra en la F1 en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, en el número de brotes de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*



En la figura 31 se observa el número de brotes de arándano *Vaccinium corymbosum* L. a los 45 días de la siembra en la F1, sembradas en medio de cultivo MS en ausencia de fitohormonas, la variedad Emerald es mayor con 4.8 brotes que la variedad Biloxi con 1 brote. Solo la variedad Emerald presentó dos comportamientos, vitroplantas con un solo brote y vitroplantas con varios brotes, en cambio, la variedad Biloxi solo presentó vitroplantas de un solo brote en todas las repeticiones.

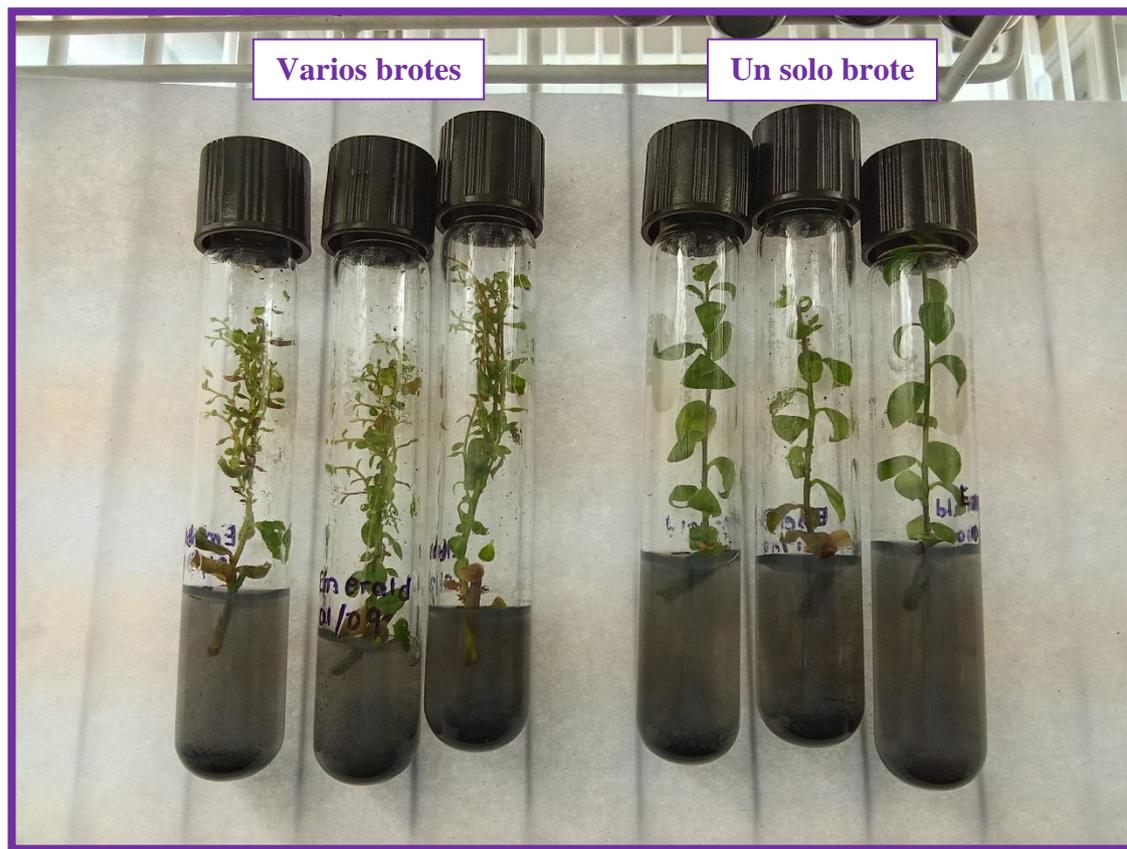
### Figura 32

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum L. en la F1 a 45 días posteriores a la siembra, variedad Biloxi con un solo brote.*



**Figura 33**

*Vitroplantas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. en la F1 a 45 días posteriores a la siembra, variedad Emerald con uno y varios brotes.*



## 4.2. RESULTADOS DE LA FASE 2

### 4.2.1. Altura de vitroplanta en la F2 con concentraciones de BAP (6 – benciladenina)

**Tabla 14**

*Análisis de varianza de altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F	
Variedad	1	10.181	10.181	768.75	*
Concentración	4	50.134	12.534	946.41	*
Variedad * Concentración	4	46.713	11.678	881.83	*
Error	30	0.397	0.0132		
Total	39	107.426			

En la tabla 14 de análisis de varianza se observa que se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las variedades, así como también, entre las concentraciones y entre la interacción variedad \* concentración. El coeficiente de variabilidad es de 7.51%, lo que indica que la estimación es precisa.

**Tabla 15**

*Análisis de varianza de los efectos simples para altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F	
A en b1	1	0	0	0	n.s
A en b2	1	0	0	0	n.s
A en b3	1	7.64	7.64	578.79	*
A en b4	1	28.13	28.13	2131.06	*
A en b5	1	21.13	21.13	1600.76	*
B en A1	4	50.05	12.51	1023.48	*
B en A2	4	44.80	11.20	848.48	*
Error	30	0.397	0.0132		

En la tabla 15 de análisis de varianza de los efectos simples se observa que si existen diferencias estadísticas significativas del factor A variedad de arándano con respecto a las concentraciones de BAP (6 – benciladenina) del factor B, excepto en las concentraciones de 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, donde no se muestran diferencias estadísticas significativas.

**Tabla 16**

*Prueba de comparación de medias de Tukey para concentración de BAP (6 – benciladenina) en la variable altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

<b>Concentración de fitohormona BAP (6 – benciladenina)</b>	<b>Promedio</b>		
3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	3.023	A	
6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	2.250	B	
9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	1.875	C	
1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0.50	D	
0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0	E	

En la tabla 16 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para las concentraciones de BAP (6 – benciladenina), nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de BAP (6 – benciladenina), 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 3.023 cm, 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 2.250 cm, 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 1.875 cm, 1mgL<sup>-1</sup> de BAP con 0.50 cm y 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 0 cm. Es decir, que hay un efecto de concentración de BAP (6 – benciladenina) en la altura de vitroplanta a los 60 días posteriores a la multiplicación *in vitro* en la F2.

**Tabla 17**

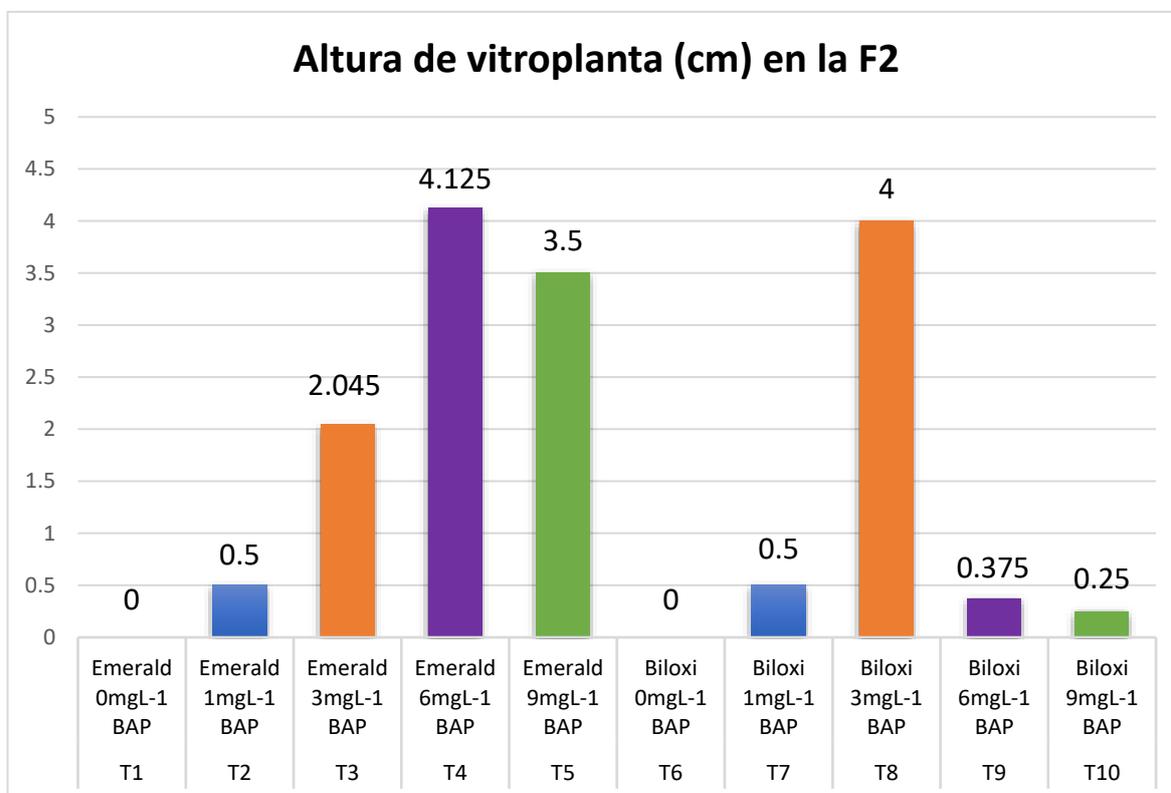
*Prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina), en la variable altura de vitroplanta a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

<b>Variedad * Concentración BAP (6 – benciladenina)</b>	<b>Promedio</b>	
<b>T4</b> - Emerald con 6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	4.125	A
<b>T8</b> - Biloxi con 3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	4	A
<b>T5</b> - Emerald con 9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	3.50	B
<b>T3</b> - Emerald con 3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	2.045	C
<b>T7</b> - Biloxi con 1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0.50	D
<b>T2</b> - Emerald con 1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0.50	D
<b>T9</b> - Biloxi con 6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0.375	D
<b>T10</b> - Biloxi con 9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0.250	D E
<b>T6</b> - Biloxi con 0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0	E
<b>T1</b> - Emerald con 0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0	E

En la tabla 17 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para la interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina), nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, el **T4** (Emerald con 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP) con 4.125 cm y el **T8** (Biloxi con 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP) con 4 cm, presentan una mayor altura de vitroplanta, aunque entre esos dos tratamientos no existen diferencias estadísticas significativas. Es decir, hay un efecto de interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina) en la altura de vitroplanta a los 60 días posteriores a la multiplicación *in vitro* en la F2.

**Figura 34**

*Efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en la multiplicación in vitro en la F2 para altura de vitroplanta de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*

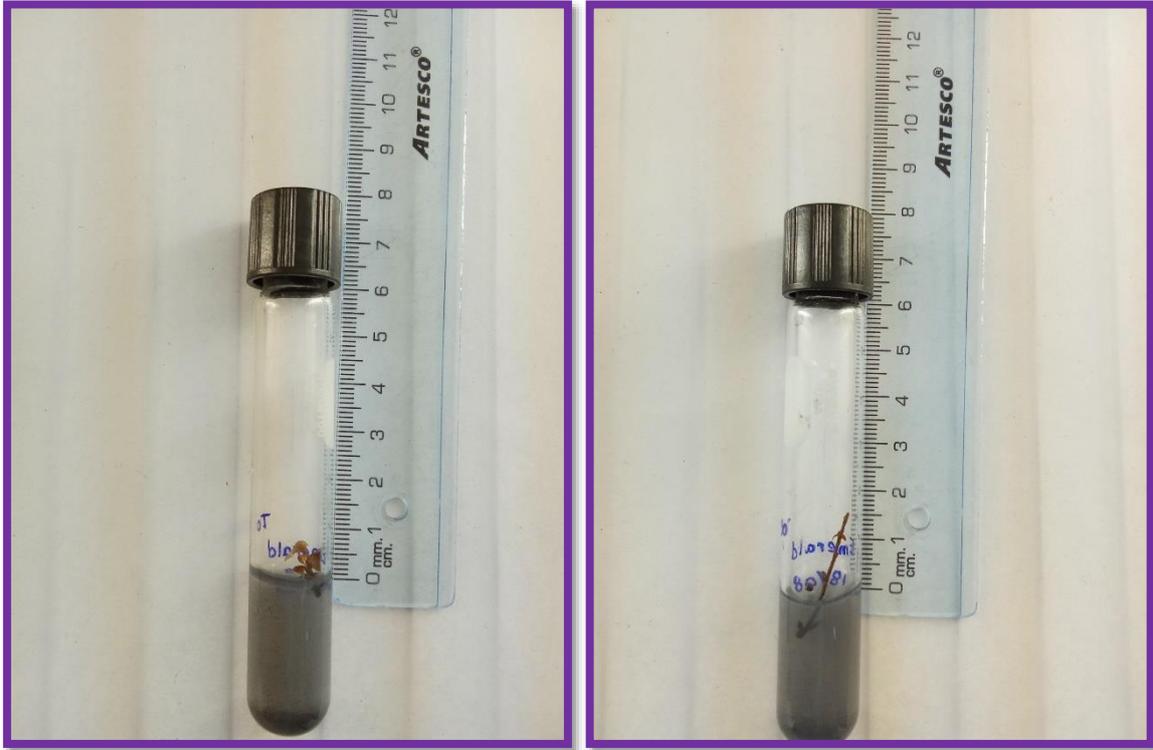


En la figura 34 se observa el efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) la altura de vitroplanta de arándano *Vaccinium corymbosum* L. a los 60 días posterior a la multiplicación *in vitro* en la F2. Para la variedad Emerald la concentración de 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP (**T4**) muestra una mayor altura de vitroplanta con 4.125 cm y para la variedad Biloxi la concentración 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP (**T8**) muestra una mayor altura de vitroplanta con 4 cm, siendo estas las concentraciones que más destacan en la multiplicación *in vitro* en la F2.

Para los tratamientos en que se emplearon 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP (**T1 y T6**) muestran un resultado de cero, debido a que presentaron muerte de las vitroplantas en todas las repeticiones para ambas variedades en la F2, demostrando la importancia de las fitohormonas en el cultivo *in vitro* del arándano *Vaccinium corymbosum* L.

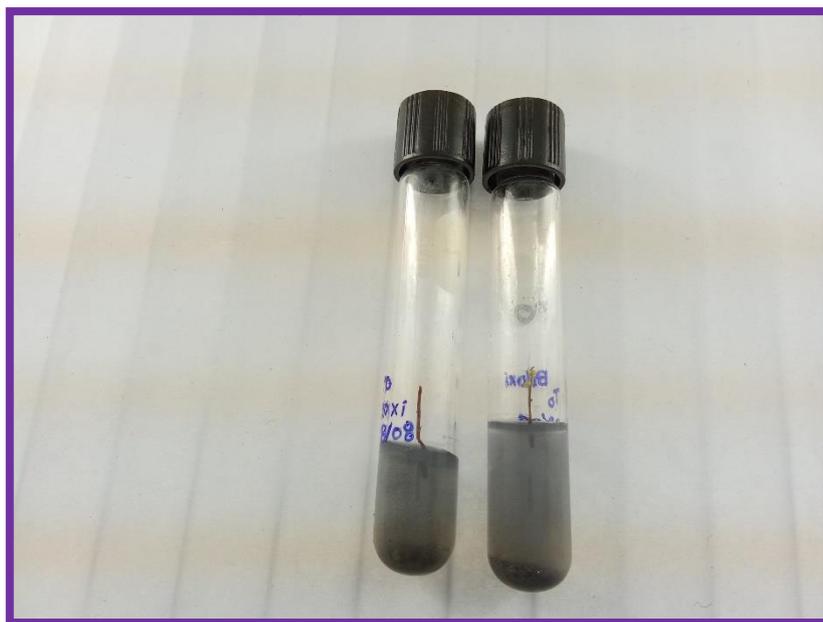
**Figura 35**

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum L. en la F2 a 60 días posteriores a la multiplicación in vitro, variedad Emerald con 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP (T1).*



**Figura 36**

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum L. en la F2 a 60 días posteriores a la multiplicación in vitro, variedad Biloxi con 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP (T6).*



### Figura 37

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum L. en la F2 a 60 días posteriores a la multiplicación in vitro, variedad Emerald con 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP (T4).*



### Figura 38

*Vitroplantas de arándano Vaccinium corymbosum L. en la F2 a 60 días posteriores a la multiplicación in vitro, variedad Biloxi con 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP (T8).*



#### 4.2.2. Número de hojas en la F2 con concentraciones de BAP (6 – benciladenina)

**Tabla 18**

*Análisis de varianza de número de hojas a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	
Variedad	1	61.759	61.7589	2867.31	*
Concentración	4	147.185	36.7962	1708.36	*
Variedad * Concentración	4	90.884	22.7209	1054.88	*
Error	30	0.646	0.0215		
Total	39	300.474			

En la tabla 18 de análisis de varianza se observa que se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las variedades, así como también, entre las concentraciones y entre la interacción variedad \* concentración. El coeficiente de variabilidad es de 4.79%, lo que indica que la estimación es precisa.

**Tabla 19**

*Análisis de varianza de los efectos simples para número de hojas a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	
A en b1	1	0	0	0	n.s
A en b2	1	0.00661	0.00661	0.31	n.s
A en b3	1	1.911	1.911	88.88	*
A en b4	1	23.154	23.154	1076.93	*
A en b5	1	127.715	127.715	5940.23	*
B en A1	4	213.799	53.450	2486.05	*
B en A2	4	24.319	6.080	282.79	*
Error	30	0.646	0.0215		

En la tabla 19 de análisis de varianza de los efectos simples se observa que si existen diferencias estadísticas significativas del factor A variedad de arándano con respecto a las concentraciones de BAP (6 – benciladenina) del factor B, excepto en las concentraciones de 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, donde no se muestran diferencias estadísticas significativas.

**Tabla 20**

*Prueba de comparación de medias de Tukey para concentración de BAP (6 – benciladenina) en la variable número de hojas a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

Concentración de fitohormona BAP (6 – benciladenina)	Promedio		
9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	48.625	A	
3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	15.875	B	
6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	15.625	B	
1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	4.375		C
0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0		D

En la tabla 20 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para las concentraciones de BAP (6 – benciladenina), nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de BAP (6 – benciladenina) de 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 48.625, 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 15.875, 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 15.625, 1 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 4.375 y 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 0. Es decir que hay un efecto de concentración de BAP (6 – benciladenina) en el número de hojas a los 60 días posteriores a la multiplicación *in vitro* en la F2.

**Tabla 21**

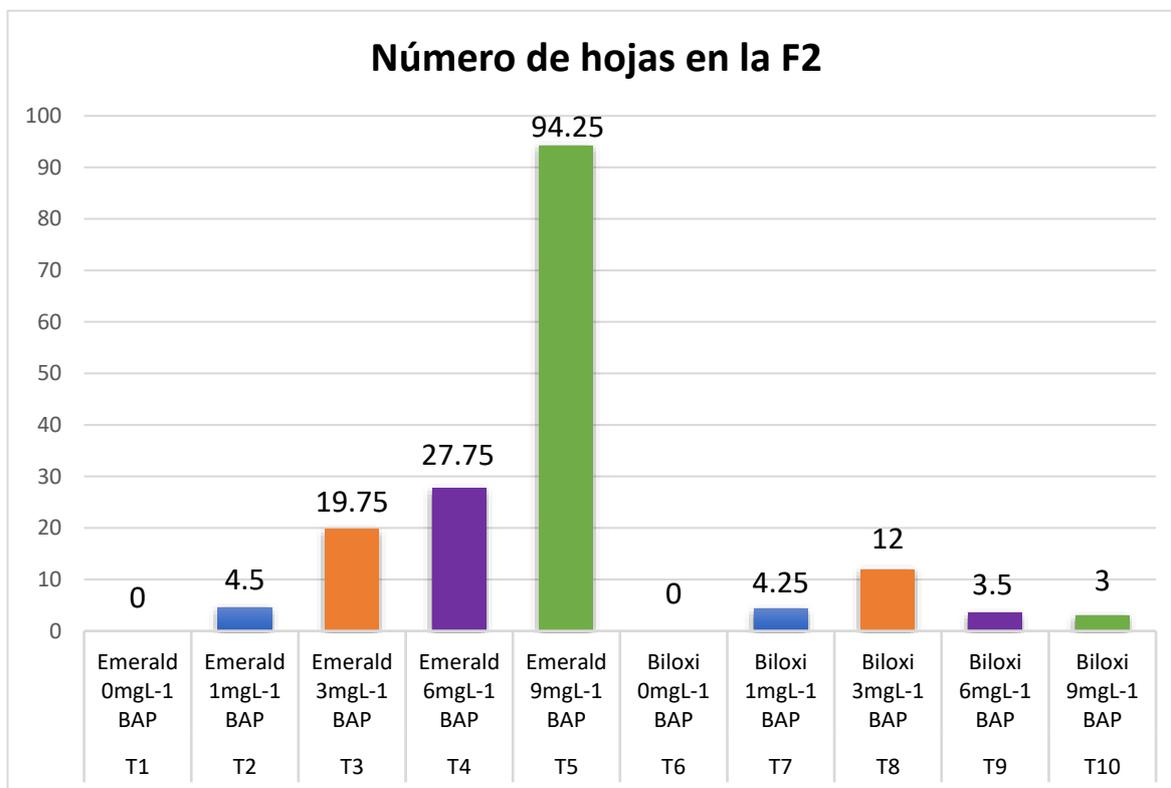
*Prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina), en la variable número de hojas a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

<b>Variedad * Concentración de fitohormona</b>	<b>Promedio</b>	
<b>BAP (6 – benciladenina)</b>		
<b>T5</b> - Emerald con 9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	94.25	A
<b>T4</b> - Emerald con 6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	27.75	B
<b>T3</b> - Emerald con 3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	19.75	C
<b>T8</b> - Biloxi con 3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	12	D
<b>T2</b> - Emerald con 1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	4.5	E
<b>T7</b> - Biloxi con 1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	4.25	E
<b>T9</b> - Biloxi con 6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	3.50	E F
<b>T10</b> - Biloxi con 9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	3	E F
<b>T6</b> - Biloxi con 0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0	F
<b>T1</b> - Emerald con 0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0	F

En la tabla 21 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para la interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina), nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, el **T5** (Emerald con 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP) con 94.25 es el mayor y para la variedad Biloxi **T8** con 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 12 está por debajo. Es decir, hay un efecto de interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina) en el número de hojas a los 60 días posteriores a la multiplicación *in vitro* en la F2.

**Figura 39**

*Efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en la multiplicación in vitro en la F2 para número de hojas de arándano Vaccinium corymbosum L.*



En la figura 39 se observa el efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en el número de hojas de arándano *Vaccinium corymbosum* L. a los 60 días posterior a la multiplicación *in vitro* en la F2. En la variedad Emerald la concentración de 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP (**T5**) muestra un mayor número de hojas con 94.25, debido a que esta concentración indujo un aumento exagerado de hojas y brotes.

Para los tratamientos en que se emplearon 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP (**T1 y T6**) muestran un resultado de cero, debido a que presentaron muerte de las vitroplantas en todas las repeticiones para ambas variedades en la F2.

#### 4.2.3. Número de brotes en la F2 con concentraciones de BAP (6 – benciladenina)

**Tabla 22**

*Análisis de varianza de número de brotes a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	
Variedad	1	6.4418	6.44176	866.12	*
Concentración	4	13.3255	3.33137	447.92	*
Variedad * Concentración	4	8.2869	2.07173	278.55	*
Error	30	0.2231	0.00744		
Total	39	28.2773			

En la tabla 22 de análisis de varianza se observa que se presentaron diferencias estadísticas significativas entre las variedades, así como también, entre las concentraciones y entre la interacción variedad \* concentración. El coeficiente de variabilidad es de 5.67%, lo que indica que la estimación es precisa.

**Tabla 23**

*Análisis de varianza de los efectos simples para número de brotes a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

<b>Fuentes de variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	
A en b1	1	0	0	0	n.s.
A en b2	1	0.042	0.042	5.645	*
A en b3	1	0.656	0.656	88.172	*
A en b4	1	1.386	1.386	186.290	*
A en b5	1	12.650	12.650	1700.269	*
B en A1	4	20.691	5.172	695.161	*
B en A2	4	0.879	0.220	29.570	*
Error	30	0.2231	0.00744		

En la tabla 23 de análisis de varianza de los efectos simples se observa que si existen diferencias estadísticas significativas del factor A variedad de arándano con respecto a las concentraciones de BAP (6 – benciladenina) del factor B, excepto en las concentraciones de 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP, donde no se muestran diferencias estadísticas significativas.

**Tabla 24**

*Prueba de comparación de medias de Tukey para concentración de BAP (6 – benciladenina) en la variable número de brotes a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

Concentración de fitohormona BAP (6 – benciladenina)	Promedio		
9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	7.250	A	
6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	2.375	B	
3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	1.875	C	
1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	1.125	D	
0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0	E	

En la tabla 24 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para las concentraciones de BAP (6 – benciladenina), nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de BAP (6 – benciladenina) de 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 7.250, 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 2.375, 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 1.875, 1 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 1.125 y 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP con 0. Es decir que hay un efecto de concentración BAP (6 – benciladenina), en el número de brotes a los 60 días posteriores a la multiplicación *in vitro* en la F2.

**Tabla 25**

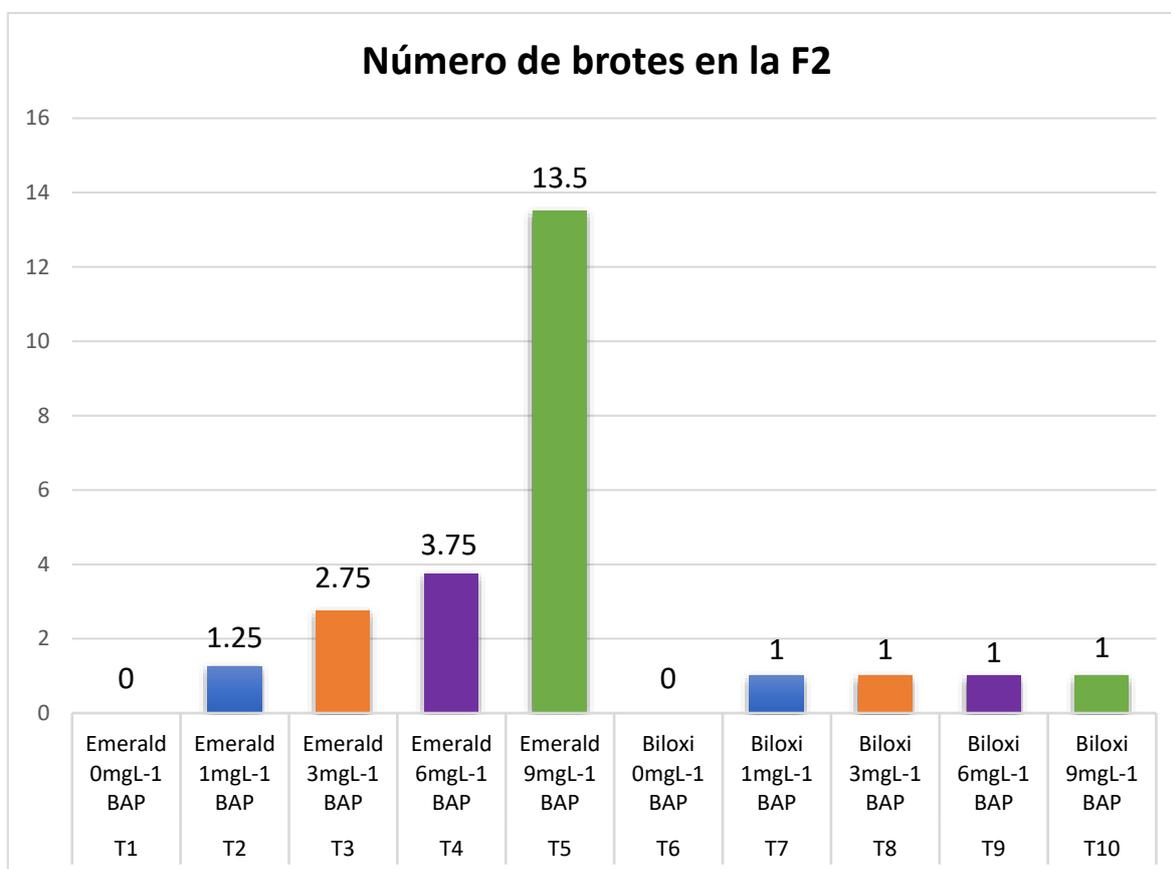
*Prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina), en la variable número de brotes a los 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 de arándano Vaccinium corymbosum L.*

<b>Variedad * Concentración de fitohormona</b>	<b>Promedio</b>	
<b>BAP (6 – benciladenina)</b>		
<b>T5</b> - Emerald con 9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	13.50	A
<b>T4</b> - Emerald con 6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	3.7	B
<b>T3</b> - Emerald con 3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	2.75	C
<b>T2</b> - Emerald con 1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	1.25	D
<b>T7</b> - Biloxi con 1 mgL <sup>-1</sup> de BAP	1	D
<b>T9</b> - Biloxi con 6 mgL <sup>-1</sup> de BAP	1	D
<b>T8</b> - Biloxi con 3 mgL <sup>-1</sup> de BAP	1	D
<b>T10</b> - Biloxi con 9 mgL <sup>-1</sup> de BAP	1	D
<b>T1</b> - Emerald con 0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0	E
<b>T6</b> - Biloxi con 0 mgL <sup>-1</sup> de BAP	0	E

En la tabla 25 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para la interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina), nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, el **T5** (Emerald con 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP) con 13.50 está muy por encima de todos los tratamientos y para la variedad Biloxi se registra un solo brote a diferencia del **T6** (Biloxi con 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP) que presenta 0 al igual que el **T1** (Emerald con 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP) también con 0. Es decir, hay un efecto de interacción variedad \* concentración de BAP (6 – benciladenina) en el número de brotes a los 60 días posteriores a la multiplicación *in vitro* en la F2.

**Figura 40**

Efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en la multiplicación *in vitro* en la F2 para número de brotes de arándano *Vaccinium corymbosum* L.



En la figura 40 se observa el efecto de diferentes concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en el número de brotes de arándano *Vaccinium corymbosum* L. a los 60 días posterior a la multiplicación *in vitro* en la F2. En el (T5) la variedad Emerald con una concentración de 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP indujo a un aumento exagerado de brotes.

Por otra parte, en la variedad Biloxi se presentaron vitroplantas de un solo brote a excepción del T6 (Biloxi con 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP) que presentó un valor de cero.

Para los tratamientos en que se emplearon 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP (T1 y T6) muestran un resultado de cero, debido a que presentaron muerte de las vitroplantas en todas las repeticiones para ambas variedades en la F2.

### Figura 41

Vitroplanta de arándano *Vaccinium corymbosum* L. variedad Emerald con  $9 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (T5), a 60 días posterior a la multiplicación in vitro en la F2 con un exceso de brotes y hojas.



### 4.3. RESULTADOS DE LOS ENSAYOS ADICIONALES

#### 4.3.1. Días a la formación de callos

**Tabla 26**

*Análisis de varianza de número de días a la formación de callos de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F	
Variedad	1	0.00135	0.00135	0.48	n.s
Concentración	3	12.1904	4.06347	1450.43	*
Variedad * Concentración	3	0.0027	0.00091	0.33	n.s
Error	24	0.0672	0.00280		
Total	31	12.2617			

En la tabla 26 de análisis de varianza se observa que se presentaron diferencias estadísticas significativas en la concentración de fitohormonas, más no se presentaron diferencias estadísticas significativas en la variedad y en la interacción variedad \* concentración. El coeficiente de variabilidad es de 0.10%, lo que indica que la estimación es precisa.

**Tabla 27**

*Análisis de varianza de los efectos simples de número de días a la formación de callos de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*

Fuentes de variación	GL	SC	CM	F	
A en b1	1	0.00045	0.00045	0.16	n.s.
A en b2	1	0.00061	0.00061	0.22	n.s.
A en b3	1	0.00245	0.00245	0.88	n.s.
A en b4	1	0.00061	0.00061	0.22	n.s.
B en A1	3	6.111	2.037	727.50	*
B en A2	3	5.924	1.975	705.36	*
Error	24	0.0672	0.00280		

En la tabla 27 de análisis de varianza de los efectos simples se observa que no existen diferencias estadísticas significativas del factor A variedad de arándano con respecto a las concentraciones de fitohormona del factor B, sin embargo, si se encuentran diferencias estadísticas significativas en la concentración de fitohormona con respecto a los días a la formación de callos.

**Tabla 28**

*Prueba de comparación de medias de Tukey para concentración fitohormona en la variable días a la formación de callos de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*

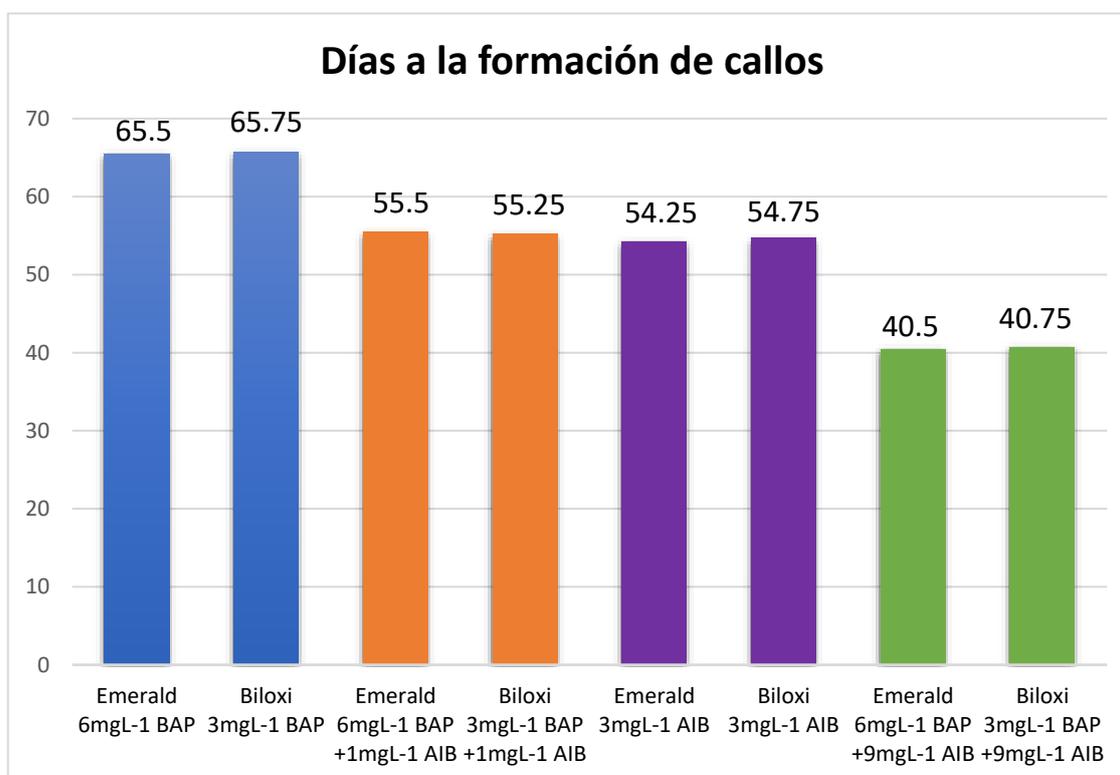
Concentración de fitohormona	Promedio	
BAP	65.625	A
BAP + 1 mgL <sup>-1</sup> de AIB	55.375	B
3 mgL <sup>-1</sup> de AIB	54.500	B
BAP + 9 mgL <sup>-1</sup> de AIB	40.625	C

En la tabla 28 la prueba de comparaciones de medias de Tukey para las concentraciones de fitohormona, nos indica que, si existen diferencias estadísticas significativas entre las concentraciones de fitohormona de BAP a los 65.625 días, BAP + 1 mgL<sup>-1</sup> de AIB a los 55.375 días, 3 mgL<sup>-1</sup> de AIB a los 54.500 días y BAP + 9 mgL<sup>-1</sup> de AIB a los 40.625 días. Es decir que hay un efecto de concentración de fitohormona en los días a la formación de callos.

Sin embargo, para las concentraciones BAP + 1 mgL<sup>-1</sup> de AIB a los 55.375 días y 3 mgL<sup>-1</sup> de AIB a los 54.500 días no se encuentran diferencias estadísticas significativas.

**Figura 42**

*Efecto de diferentes concentraciones de fitohormonas en los días a la formación de callos de arándano *Vaccinium corymbosum* L.*



En la figura 42 se observa el efecto de la adición de diferentes concentraciones de AIB en los días a la formación de callos, los tratamientos con BAP (6 – benciladenina) presentaron una lenta formación de callos observándose para el día 65.5 para Emerald y 65.75 para Biloxi, se formaron callos pequeños en ambas variedades.

Los tratamientos con la adición de 1 mgL<sup>-1</sup> de AIB y 3 mgL<sup>-1</sup> de AIB, presentaron similitud, pero ambas son superiores a los tratamientos que solo se usaron BAP, generando callos para el día 55.

Los tratamientos con la adición de 9 mgL<sup>-1</sup> de AIB presentaron callos al día 40, estos de mayor tamaño y número.

Se realizaron ensayos solo con la adición de AIB sin BAP, pero estos daban como resultados vitroplantas pequeñas de máximo 3 cm, los días a la formación de callos se mantuvieron iguales para ambas variedades.

**Figura 43**

*Vitroplantas cultivadas solo con AIB (3 mgL<sup>-1</sup> de AIB) presentaron tamaños pequeños.*



**Figura 44**

*Variedad Emerald cultivada con  $6\text{mgL}^{-1}$  de BAP +  $9\text{mgL}^{-1}$  de AIB de 41 días, con callos de mayor tamaño.*



### Figura 45

*Vitroplantas cultivadas solo con BAP (para Biloxi 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP y para Emerald 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP) presentaron callos pequeños a los 65 días, la figura muestra a una vitroplanta variedad Biloxi cultivada con 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP.*



**Figura 46**

*La adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de AIB indujo a la formación de callos pequeños al día 54.*



#### 4.4. DISCUSIÓN

El cultivo *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. se realizó haciendo uso del medio de cultivo descrito por Murashige y Skoog (MS) (1962), obteniéndose resultados favorables, en la fase de iniciación o establecimiento se obtuvieron una altura de vitroplanta de 5.61 cm y en la fase de multiplicación *in vitro* se obtuvieron vitroplantas de 4.125 cm y 4 cm. Sin embargo, Hine y Abdelnour (2013) afirman que el medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM) es el que preferentemente se ha recomendado para arándano, además la mayor longitud de brotes nuevos se observó con la adición de  $2.5 \text{ mgL}^{-1}$  2ip con una media de 1.61 cm. Este resultado contradice a lo que se obtuvo, ya que en la fase de iniciación o establecimiento con el uso del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) en ausencia de fitohormonas se lograron resultados superiores, sin embargo, para la fase de multiplicación es importante la adición de fitohormonas, este resultado es reflejado en los tratamientos con  $0 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) que presentaron muerte de todas las vitroplantas, para la variedad Emerald la adición de  $6 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) dio como resultados vitroplantas de 4.125 cm y para la variedad Biloxi la adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) dio como resultados vitroplantas de 4 cm, siendo superiores los resultados obtenidos.

De los resultados obtenidos del cultivo *in vitro* del arándano *Vaccinium corymbosum* L., se pudo observar que cada variedad presenta un comportamiento diferente en reacción a las concentraciones de fitohormonas aplicadas. La variedad Emerald presentó un mejor resultado con la adición de  $6 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) con una altura de vitroplanta de 4.125 cm, una media de 22.75 hojas y una media de 3.75 brotes. La variedad Biloxi presentó un mejor resultado con la adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) con una altura de vitroplanta de 4 cm, una media de 12 hojas y un solo brote. Aunque, no se observaron presencia de raíces en ningún tratamiento, ambas variedades fueron cultivadas en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS). Por otra parte, Bazan (2023) menciona que la variedad Biloxi cultivada en medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM) más la adición de  $2.5 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP dio como resultado una longitud de 2.148 cm con 10 hojas y 1.03 brotes. Estos resultados difieren con los obtenidos, el uso de medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) más la adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) para la variedad Biloxi presentaron resultados superiores con una longitud de 4 cm con 12 hojas, sin embargo, sí coinciden en el número de brotes para esta variedad.

Por otro lado, Hine y Abdelnour (2013) mencionan que para el establecimiento *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. el uso del medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM) más la adicción de  $2.5 \text{ mgL}^{-1}$  de CPPU indujo un mayor número de brotes por estaca con una media de dos brotes, la mayor longitud de los brotes nuevos y el mayor número de hojas por brote se observó en el tratamiento con  $2.5 \text{ mgL}^{-1}$  de Zip, con una media de 1.61 cm y 8 hojas por brote respectivamente. No obstante, estos resultados no guardan relación con los resultados obtenidos, la adición de BAP (6 – benciladenina) en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) mostraron efectos favorables y cada variedad presentaron resultados superiores con distintas concentraciones. La variedad Emerald con la adición de  $6 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) mostró una altura de vitroplanta de 4.125 cm, una media de 22.75 hojas y una media de 3.75 brotes, la variedad Biloxi con la adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) presentó una altura de vitroplanta de 4 cm, una media de 12 hojas y un solo brote, estos resultados son superiores, aunque solo la variedad Biloxi presentó un solo brote a diferencia de la variedad Emerald.

Cada concentración de BAP (6 – benciladenina) evaluadas mostraron diferentes efectos en el cultivo *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L., estos resultados fueron reflejados en la altura de vitroplanta, número de brotes y número de hojas, siendo la variedad Emerald la que destaca en número de brotes y hojas. La variedad Emerald con la adición de  $9 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) presentó un exceso con 94.25 hojas y 13.5 brotes, pero con una altura de 3.5 cm. Sin embargo, Vargas (2014) en su investigación concluye que no hubo influencia de las concentraciones de BAP sobre el número de hojas y, además, afirma que a mayor concentración de BAP es menor la formación de brotes de *Vaccinium corymbosum* L. en el tiempo. Estos resultados no concuerdan con los obtenidos, las variedades Emerald y Biloxi fueron evaluadas desde concentraciones bajas a concentraciones altas, en los tratamientos con  $9 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) solo la variedad Emerald presentó un exceso en número de brotes y número de hojas, pero el tamaño fue menor a diferencia del tratamiento de Emerald con  $6 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) que presentó un tamaño de 4.125 cm y un número de hojas y brotes adecuados de 22.75 y 3,75 respectivamente. Resultados que fueron diferentes para la variedad Biloxi, el tratamiento con  $9 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) para esta variedad presentó una altura de 0.25 cm, 3 hojas y 1 solo brote, resultados inferiores comparadas con el tratamiento Biloxi con  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) que presentó una altura de vitroplanta de 4 cm, 12

hojas y 1 solo brote, demostrándose que cada variedad presenta un comportamiento diferente a las concentraciones de fitohormonas aplicadas.

El 21 de junio del 2021 en un curso virtual organizado por INIA-PERÚ, el Mblgo. Peredo, (datos no publicados) menciona que hay trabajos de investigación donde se usaron el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) y no se han conseguido resultados favorables para el cultivo de arándano, a pesar de usar concentraciones de 2ip y Zeatina solo alcanzaron tamaños de 2.6 centímetros y estas presentan un vigor muy delgado, concluyendo que el medio de cultivo adecuado es el Woody Plant Medium (WPM), además, menciona que el uso de medio WPM con  $2.5 \text{ mgL}^{-1}$  de 2ip alcanzaron una altura máxima de 3.275 cm. Estos resultados no concuerdan con los obtenidos, con el uso del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) en la fase de iniciación o establecimiento se obtuvieron una altura máxima de 5.61 cm y para la fase de multiplicación con la adición de BAP (6 – benciladenina) alcanzaron tamaños de 4.125 cm y 4 cm. El uso del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) y la fitohormona BAP (6 – benciladenina) presentaron resultados favorables y superiores en el cultivo *in vitro* del arándano *Vaccinium corymbosum* L.

Lostanau (2015) realizó su investigación en la variedad Biloxi con la adición de  $\text{AG}_3$  llegando a obtener como resultado una altura máxima de 3.70 cm con 100 ppm de  $\text{AG}_3$ . Estos resultados están cercanos a los resultados obtenidos, para la variedad Biloxi la adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) dio como resultado una altura de vitroplanta de 4 cm, una media de 12 hojas y un solo brote, siendo ligeramente superiores los resultados obtenidos en altura de vitroplanta.

En la investigación realizada no se observaron formación de raíces en ninguno de los tratamientos con BAP (6 – benciladenina). De manera similar Quispe (2019) afirma que al emplearse concentraciones de 2ip (0, 15, 20 y 25  $\mu\text{M}$ ) y ANA (0 y 2  $\mu\text{M}$ ) no se logró el enraizamiento *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. de las variedades Biloxi y Misty para lo cual se hizo de forma *ex vitro*, además el autor menciona que las concentraciones adecuadas de citoquininas y auxinas para la fase de establecimiento *in vitro* de las variedades Biloxi y Misty son el tratamiento con 25  $\mu\text{M}$  de 2ip + 0  $\mu\text{M}$  de ANA con una altura de 2.357 cm. Estos resultados guardan relación en la fase de enraizamiento *in vitro* ya que tampoco se observaron presencia de raíces con las distintas concentraciones de BAP (6 – benciladenina) evaluadas, sin embargo, difieren con los resultados de altura, en la fase de iniciación o establecimiento con el uso del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) en

ausencia de fitohormonas se lograron resultados de 5.61 cm y para la fase de multiplicación para la variedad Emerald la adición de 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP (6 – benciladenina) dio como resultados una altura de 4.125 cm y para la variedad Biloxi la adición de 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP (6 – benciladenina) dio como resultados una altura de 4 cm.

Arista et al., (2019) evaluaron el efecto de citoquininas en la multiplicación *in vitro* de las variedades comerciales de arándano (Biloxi, Legacy, Star y Bluecrop) bajo la aplicación de tres citoquininas del tipo Isoprenoides (zeatina, trans-zeatina y cis-zeatina) cultivadas en medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM), los autores mencionan que la zeatina y trans-zeatina fueron muy efectivas en concentraciones de 2 mgL<sup>-1</sup> presentando un mayor número de brotes, hojas, ramificaciones y altura de plántula con promedios de (3.6), (27.5 y 32.5), (2) y (3.5 y 4.5 cm) respectivamente. Estos resultados son similares a los obtenidos, cultivados en medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) más la adición de BAP (6 – benciladenina), La variedad Emerald presentó un mejor resultado con la adición de 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP (6 – benciladenina) con una altura de vitroplanta de 4.125 cm, una media de 22.75 hojas y una media de 3.75 brotes. La variedad Biloxi presentó un mejor resultado con la adición de 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP (6 – benciladenina) con una altura de vitroplanta de 4 cm, una media de 12 hojas, aunque presentó un solo brote en todos los tratamientos.

Cabrera y Guamán (2023) evaluaron el efecto de diferentes concentraciones de BAP y Zip (0.5%, 1.0% y 2.0%) en la multiplicación *in vitro* de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano) cvs. Biloxi y Emerald en medio de cultivo WPM, encontrando que en la variable número de brotes por microestaca no se observaron brotes sino únicamente la yema desarrollada en todos los tratamientos evaluados. Además, las autoras afirman que en la variable longitud de yema, aunque no se evidenció diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, si se observó brotación de las yemas, siendo el control (0%), el tratamiento que mostró el mejor promedio para cv. Emerald con una longitud de 0.8 cm seguido de BAP al 0.5 % con 0.6 cm. En el cv. Biloxi en el tratamiento con mayor longitud de yema fue con Zip al 0.5% con 0.99 cm, seguido de BAP al 0.5% con 0.53 cm. En la variable número de hoja por yema desarrollada en el cv. Emerald el tratamiento que alcanza su valor más alto es con Zip y BAP al 0.5% con un promedio de número de hojas de 3.57 y 2.0 respectivamente, mientras que para cv. Biloxi se obtuvieron mejores resultados con el tratamiento control (0%) con un promedio de 3.66 seguido del Zip al 1.0% con un promedio de 3.25. Estos resultados están por debajo de los obtenidos en la presente investigación tanto para número de brotes, altura y número de hojas, la variedad Emerald presentó un mejor

resultado con la adición de  $6 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) con una altura de vitroplanta de 4.125 cm, una media de 22.75 hojas y una media de 3.75 brotes. La variedad Biloxi presentó un mejor resultado con la adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) con una altura de vitroplanta de 4 cm, una media de 12 hojas y un solo brote, ambas variedades cultivadas en medio de cultivo MS.

La presente investigación se desarrolló con las condiciones de 16 horas luz con 700 lux de intensidad lumínica y  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 8 horas de oscuridad con  $21 \text{ }^{\circ}\text{C}$  y una humedad constante del 70%. Siendo favorables para el cultivo *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L. para las variedades Biloxi y Emerald. Por otra parte, Hine y Abdelnour (2013) afirman que el material cultivado fue colocado en el cuarto de crecimiento a una temperatura de  $21 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , con un fotoperiodo de 12 horas y 850 lux de intensidad lumínica, obteniéndose como resultados que la mayor longitud de los brotes nuevos y el mayor número de hojas por brote se observaron en el tratamiento con  $2.5 \text{ mgL}^{-1}$  de 2ip, con una media de 1.61 cm y 8 hojas por brote respectivamente. Las condiciones que usan las autoras difieren a las condiciones usadas en la presente investigación, así como también en los resultados obtenidos en longitud, número de hojas y brotes, siendo inferiores a los resultados obtenidos en la presente investigación.

Quispe (2019) menciona que, si investigación se realizó con las condiciones climatológicas de temperatura con una mínima de  $16 \text{ }^{\circ}\text{C}$  y la máxima de  $32 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , intensidad lumínica de 1000 lux por un rango de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, la humedad fue entre 55% a 75%. Obteniéndose como resultados que las concentraciones adecuadas de citoquininas y auxinas para la fase de establecimiento *in vitro* de las variedades Biloxi y Misty son el tratamiento con  $25 \text{ } \mu\text{M}$  de 2ip +  $0 \text{ } \mu\text{M}$  de ANA con una altura de 2.357 cm. Estos resultados están por debajo de los obtenidos, con las condiciones climáticas usadas en la presente investigación se lograron que en la fase de iniciación o establecimiento con el uso del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) en ausencia de fitohormonas se obtuvieran resultados de 5.61 cm y para la fase de multiplicación para la variedad Emerald la adición de  $6 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) dio como resultados una altura de 4.125 cm y para la variedad Biloxi la adición de  $3 \text{ mgL}^{-1}$  de BAP (6 – benciladenina) dio como resultados una altura de 4 cm.

Bazan (2023) afirma que su investigación se desarrolló con las condiciones climáticas de una temperatura máxima de  $22 \text{ }^{\circ}\text{C}$  y una temperatura mínima de  $18 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,

humedad relativa de 85%, fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad, dio como resultado longitud de 2.148 cm con 10 hojas y 1.03 brotes. Las condiciones usadas por la autora no guardan relación con las condiciones empeladas en la presente investigación, así como también con los resultados obtenidos. Con las condiciones climáticas de 16 horas luz con 700 lux de intensidad lumínica y 25 °C, 8 horas de oscuridad con 21 °C y una humedad constante del 70%, dieron resultados superiores, en la fase de iniciación o establecimiento se obtuvieran resultados de 5.61 cm y en la fase de multiplicación la variedad Emerald la adición de 6 mgL<sup>-1</sup> de BAP (6 – benciladenina) dio como resultados una altura de 4.125 cm y para la variedad Biloxi la adición de 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP (6 – benciladenina) dio como resultados una altura de 4 cm.

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

Si existen diferencias en el efecto de concentraciones de BAP (6 – benciladenina) en la fase de multiplicación *in vitro*, los tratamientos a una concentración de 0 mgL<sup>-1</sup> presentaron muerte de las vitroplantas en todas las repeticiones de las variedades Biloxi y Emerald. Además, no siempre la concentración más alta es la mejor, en la variedad Emerald con 9 mgL<sup>-1</sup> indujo a un exceso en la formación de brotes y hojas, pero en la variedad Biloxi con 9 mgL<sup>-1</sup> produjeron resultados muy bajos.

Para la obtención de explantes asépticos se obtuvieron buenos resultados con benomil a una concentración de 2 gL<sup>-1</sup> durante una hora, 1% de Tween 20 por 20 minutos, hipoclorito de sodio al 10% por 8 minutos y alcohol de 70° al 10% por 40 segundos. En la fase de iniciación o establecimiento.

En la variedad Emerald con la adición de 6 mgL<sup>-1</sup> en la fase de multiplicación *in vitro* dio como resultado una altura de vitroplanta de 4.125 cm, una media de 22.75 hojas y una media de 3.75 brotes. Para la variedad Biloxi con la adición de 3 mgL<sup>-1</sup> dio como resultado una altura de vitroplanta de 4 cm, una media de 12 hojas y un solo brote. Aunque, no se observó la presencia de raíces en ningún tratamiento.

La concentración óptima de BAP (6 – benciladenina) para la multiplicación *in vitro* de arándano de la variedad Emerald es de 6 mgL<sup>-1</sup> y para la variedad Biloxi de 3 mgL<sup>-1</sup> a condiciones de 16 horas luz con 700 lux de intensidad lumínica y 25 °C, 8 horas de oscuridad con 21 °C y una humedad constante del 70% para ambos casos, cultivadas en medio de cultivo descrito por Murashige y Skoog (MS) (1962).

### 5.2. RECOMENDACIONES

Utilizar tubos de ensayos más grandes para evaluar la altura máxima que puede llegar el arándano *Vaccinium corymbosum* L. en condiciones de laboratorio.

Realizar investigaciones con concentraciones muy elevadas de AIB para evaluar la formación de raíces en el arándano *Vaccinium corymbosum* L.

Realizar investigaciones con otras citoquininas en medio de cultivo MS bajo los parámetros de luz, temperatura y humedad desarrolladas en la presente investigación.

Realizar una adecuada selección de yemas de las plantas madres antes de realizar los cortes de los explantes, esta práctica influye mucho en los resultados que se puedan obtener.

Realizar investigaciones comparando el medio de cultivo MS y WPM bajo los parámetros de luz, temperatura y humedad, así como también la metodología descrita en el presente trabajo de investigación.

Realizar investigaciones para determinar que tanto influyen las condiciones climáticas de luz, temperatura y humedad en el cultivo *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L.

Realizar investigaciones con otras variedades de arándanos *Vaccinium corymbosum* L. bajo los parámetros de luz, temperatura, humedad y la metodología que se describe en la presente investigación.

Realizar investigaciones enfocadas a la formación de raíces sin la formación de callos en el cultivo *in vitro* de arándano *Vaccinium corymbosum* L.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

- Alcántara, J., Acero, J. y Alcántara, J. (2019). *Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal*. Nova. 17(32). <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/1036/1425>
- Andrade, A., Gómez, L., Torres, Y. y Aguilera-Arango, G. (2021). *Evaluación de medios de cultivo para el establecimiento, multiplicación y enraizamiento in vitro de mora (Rubus glaucus Benth.)*. Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia 37(2) <https://revistas.udec.cl/index.php/chjaas/article/view/5229/4931>
- Arista, J., Leiva, S., Guerrero, J. y Collazos, R. (2019). *Efecto de las citoquinas en la multiplicación in vitro de cuatro variedades de Vaccinium corymbosum, a partir de segmentos nodales*. Revista de Investigación Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería 1(2). <https://revistas.untrm.edu.pe/index.php/CNI/article/view/520>
- Armando, C. (2016). *El arándano en el Perú y el mundo, producción, comercio y perspectivas*. MINAGRI-DGPA-DEEIA.
- Bazan, J. (2023). *Evaluación de medio de cultivo para el establecimiento y multiplicación in vitro de arándano Vaccinium Corymbosum L.* [Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo, Universidad Nacional de Barranca]. Repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.unab.edu.pe/handle/20.500.12935/201>
- Cabrera, R. y Guamán, D. (2023). *Efecto de diferentes concentraciones de 6-Bencilaminopurina (BAP) y 2- isoPentil adenina (2iP) en la multiplicación in vitro de Vaccinium corymbosum L (arándano) cvs. Biloxi y Emerald.* [Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Cuenca]. Repositorio institucional. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/42373>
- Carrera, J. (2012). *Manual práctico para la creación y desarrollo de plantaciones de arándanos en Asturias*. <https://frutales.files.wordpress.com/2011/01/pf-17-manual-practico-para-la-implantacion-de-arandanos-serida1.pdf>
- Chilian, J. (2021). *Generación de plantas de frambuesas in vitro*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA RAIHUÉN. Ficha técnica 139.

[https://bibliotecadigital.fia.cl/bitstream/handle/20.500.11944/148489/FT-139\\_Planta%20in%20vitro.pdf?sequence=13&isAllowed=y](https://bibliotecadigital.fia.cl/bitstream/handle/20.500.11944/148489/FT-139_Planta%20in%20vitro.pdf?sequence=13&isAllowed=y)

Cronquist, A. (1981). *An Integrated system of clasification of flowering plant*. US, University Press.

Cruz, F. (2012). *Micropropagación (Manual de prácticas)*. Universidad nacional autónoma de México. Ediciones FESC.

ENSAN, (09 de marzo de 2023). *Los desafíos modernos de la agroexportación de arándano en el Perú*. ensan. <https://www.esan.edu.pe/conexion-esan/los-desafios-modernos-de-la-agroexportacion-de-arandanos-en-el-peru>

Escobar, R., Muñoz, L., Ríos, A., Núñez, A., Dorado, C., Restrepo, J. y Tohme, J. (2014). *Manual de Técnicas de Propagación in vitro en la Escuela*. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. [http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos\\_ciat/Manual\\_propagacion\\_in\\_vitro\\_impre.pdf](http://ciat-library.ciat.cgiar.org/articulos_ciat/Manual_propagacion_in_vitro_impre.pdf)

García, J., García, G. y Ciordia, M. (2018). *El cultivo de arándano en el norte de España*. Serida.

Gómez, J. (09 de marzo de 2023). *Los desafíos modernos de la agroexportación de arándano en el Perú*. Esan. <https://www.esan.edu.pe/conexion-esan/los-desafios-modernos-de-la-agroexportacion-de-arandanos-en-el-peru#:~:text=Desde%20el%202018%2C%20el%20Per%C3%BA,lleg%C3%B3%20a%20las%2022%20toneladas>.

Grupo IFS Perú, (19 de enero de 2023). *Exportación de arándanos: Rumbo a convertirse en primer cultivo agroexportador*. ifssac. <https://www.ifssac.com/blog/exportacion-de-arandanos-rumbo-a-convertirse-en-primer-cultivo-agroexportador/>

Hine, A. y Abdelnour, A. (2013). *Establecimiento in vitro de arándano (Vaccinium Corymbosum L)*. Tecnología en Marcha. Vol.26, N°4.

IPE-El Comercio, (14 de noviembre de 2022). *Arándanos rumbo a convertirse en primer cultivo agroexportador*. IPE. <https://www.ipe.org.pe/portal/arandanos-rumbo-a-convertirse-en-primer-cultivo-agroexportador/#:~:text=El%20ar%C3%A1ndano%20se%20ha%20convertido,25%25%20de%20la%20demanda%20global>.

- Jiménez, V. y Abdelnour, A. (2012). *Identificación y valor nutricional de algunos materiales nativos de arándano (Vaccinium spp)*. Tecnología en Marcha. Vol. 26, N° 2.
- Jiménez, V. y Abdelnour, A. (2017). *Protocolo de micropropagación de arándano nativo de Costa Rica (Vaccinium consanguineum)*. Tecnología en Marcha. Vol. 31, N° 1.
- Jordán, M. y Casaretto, J. (2006). *Fisiología vegetal*. F.A. Squeo & L. Cardemil, eds.
- Lostanau, G. (2015). *Efecto de diferentes concentraciones de ácido giberélico en la multiplicación de arándano (Vaccinium Corymbosum cv. Biloxi), en la provincia de Huaraz, Ancash*. [Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/1092>
- Palacios, E. (2022). *Establecimiento in vitro del cultivo de arándano (Vaccinium Corymbosum L.) de la variedad Biloxi y micropropagación en condiciones de laboratorio en la provincia de Acobamba – Huancavelica*. [Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo, Universidad Nacional de Huancavelica]. Repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.unh.edu.pe/items/5dfd8747-aff7-4829-9177-92767f749954>
- Peredo, J. (21 de junio de 2021). *Micropropagación del Cultivo de Arándano (Vaccinium myrtillus) en la Región de la Libertad*. INIA PERÚ. <https://www.youtube.com/watch?v=OkO7toWCwkM>
- QUIMICOMPANY, (31 de enero de 2020). *6-bencilaminopurina*. QUIMICOMPANY. <https://quimicompany.com.co/product/6-bencilaminopurina/>
- Quispe, A. (2019). *Auxinas y citoquinina en la micro propagación de arándano (Vaccinium corymbosum L.) de las variedades biloxi y misty en Arequipa*. [Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo, Universidad Nacional San Agustín de Arequipa]. Repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.unsa.edu.pe/items/d1cadb04-c1b4-4fe6-8937-c54a4b015485>
- Robles, H, Román-Dañobeytia, F., Rafael, J., Álvarez, C., Meléndez, N., De la Peña, R. y Robles, O. (2022). *Propagación in vitro de árbol de castaña amazónica (Bertholletia excelsa Bonpl.)*. Revista de innovación y transferencia productiva – RITP. 3(2). <https://revistas.itp.gob.pe/index.php/ritp/article/view/37>

- Rus, E. (01 de noviembre de 2020). *Investigación experimental*. Economipedia. <https://economipedia.com/definiciones/investigacion-experimental.html>
- SENASA, (15 de diciembre de 2020). *Producción de arándanos se consolida en la región Áncash*. SENASA. <https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/produccion-de-arandanos-se-consolida-en-la-region-ancash/>
- Suárez, I. (2020). *Cultivo de tejidos vegetales*. Fondo Editorial Universidad de Córdoba.
- Undurraga, P. y Vargas, S. (2013). *Manual del arándano*. Boletín INIA N° 263. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Chile.
- Vargas, D. (2014). *Propagación in vitro de Vaccinium Corymbosum (arándano), hasta la fase de multiplicación*. [Tesis para optar el título de ingeniero agrónomo, Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo]. Repositorio institucional. Obtenido de <https://repositorio.unasam.edu.pe/handle/UNASAM/1025>
- Vitroplantas México. (2022). *Medio WPM 10L*. Vitroplantas México. <https://vitroplantas.mx/sitio/producto/medio-wpm-10l/>

## VII. ANEXOS

**Anexo 1:** Investigación realizada bajo supervisión constante de la asesora de tesis, la Dra. Xandra Amada, Saavedra Contreras.



**Anexo 2:** Visita de jurado de tesis, la Dra. Nelly Pilar, Caycho Medrano.



**Anexo 3:** Visita de jurado de tesis, la M.Sc. Sandra Elizabeth, Soria Albinagorta.



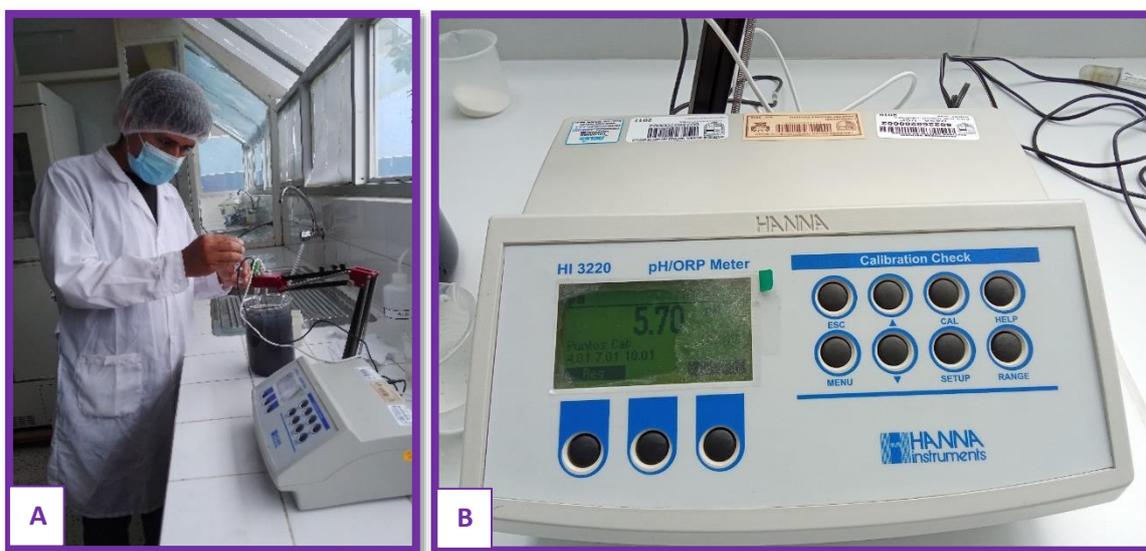
**Anexo 4:** Visita de jurado de tesis, el Dr. Alejandro Zorobabel, Toscano Leyva.



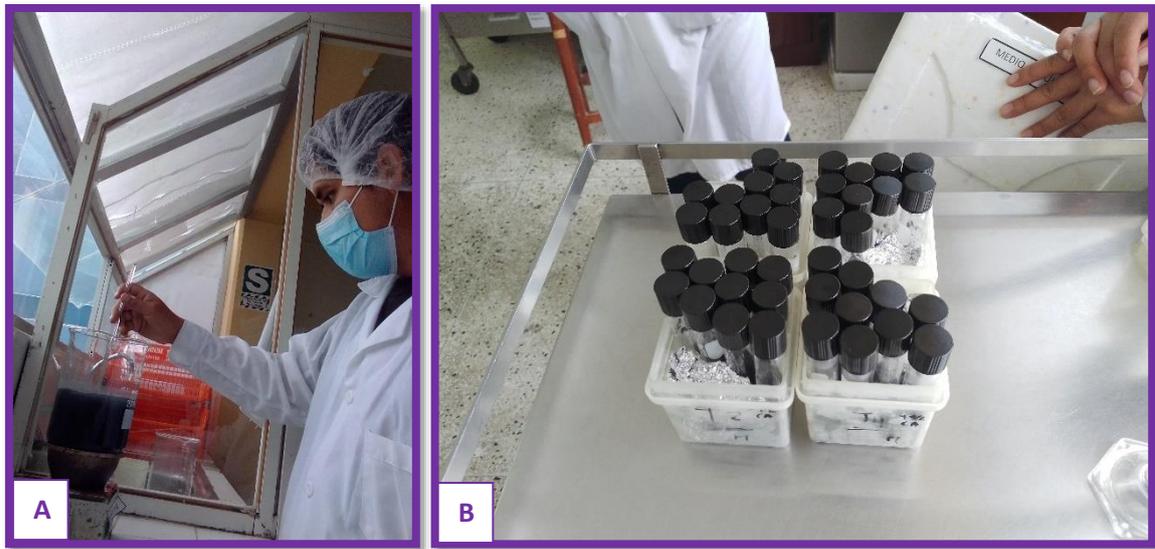
**Anexo 5:** Preparación de medio de cultivo, pesado, enrazado y mezcla con carbón activado.



**Anexo 6:** Preparación de medio de cultivo, medición de pH y ajuste a 5.7.



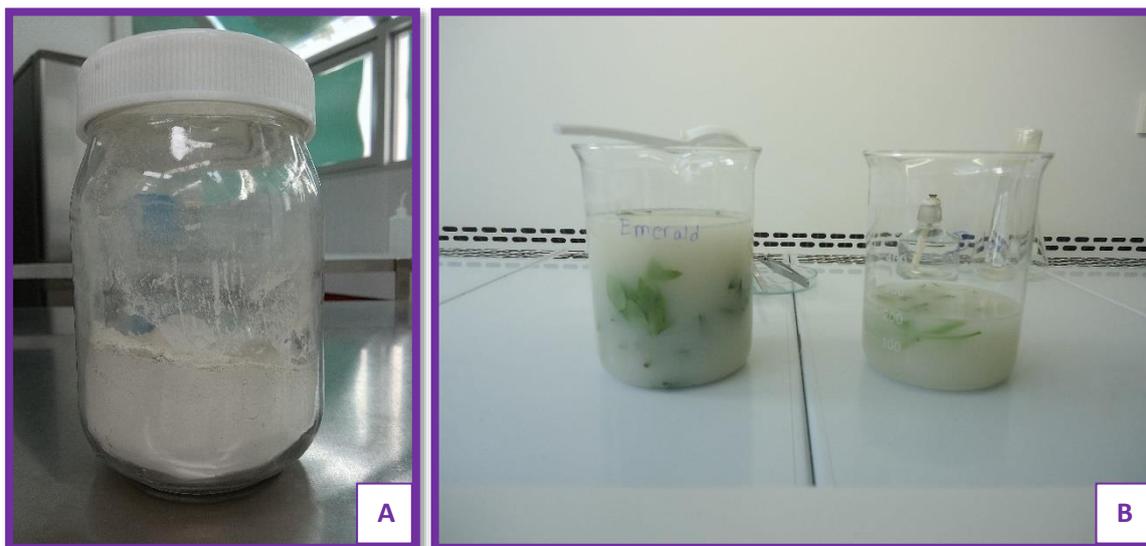
**Anexo 7:** Medio de cultivo calentándose en la cocina eléctrica y tubos de ensayo con 4 ml de medio.



**Anexo 8:** Autoclavado de medio de cultivo MS junto con otros materiales de vidrio.



**Anexo 9:** Desinfección con benomil.



**Anexo 10:** Desinfección con Tween 20.



**Anexo 11:** Desinfección con hipoclorito de sodio.



**Anexo 12:** Desinfección con alcohol del 70°.



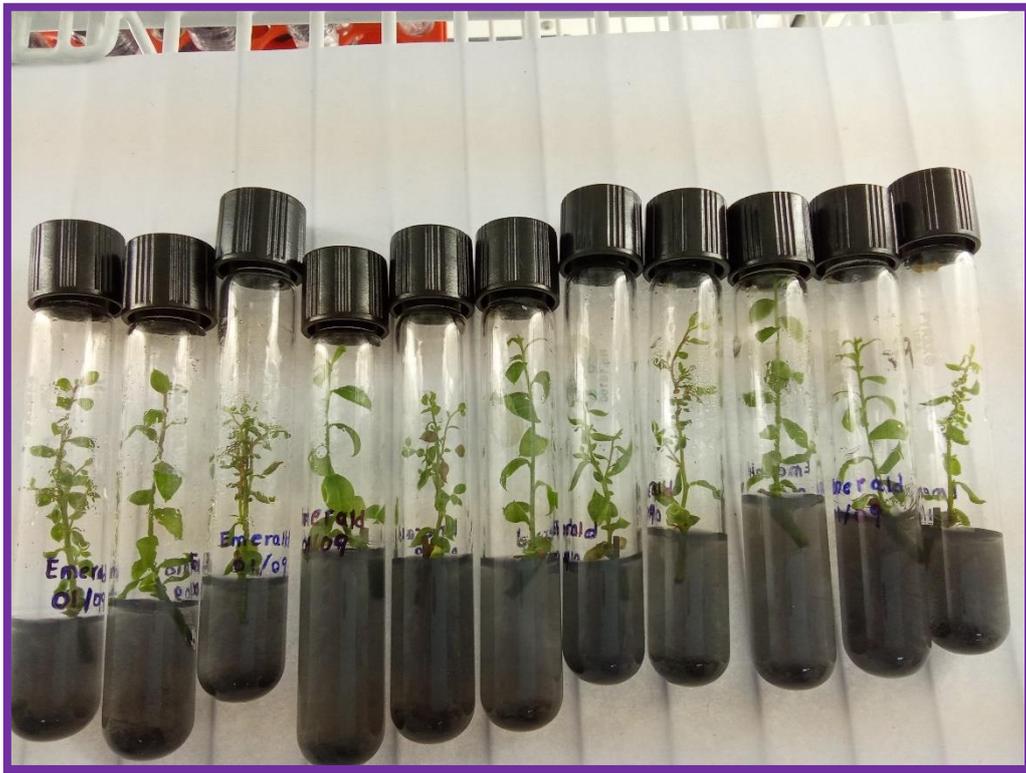
**Anexo 13:** Tubos de ensayo con sellados con plástico film.



**Anexo 14:** Vitroplantas de la variedad Biloxi en la F1 de 45 días.



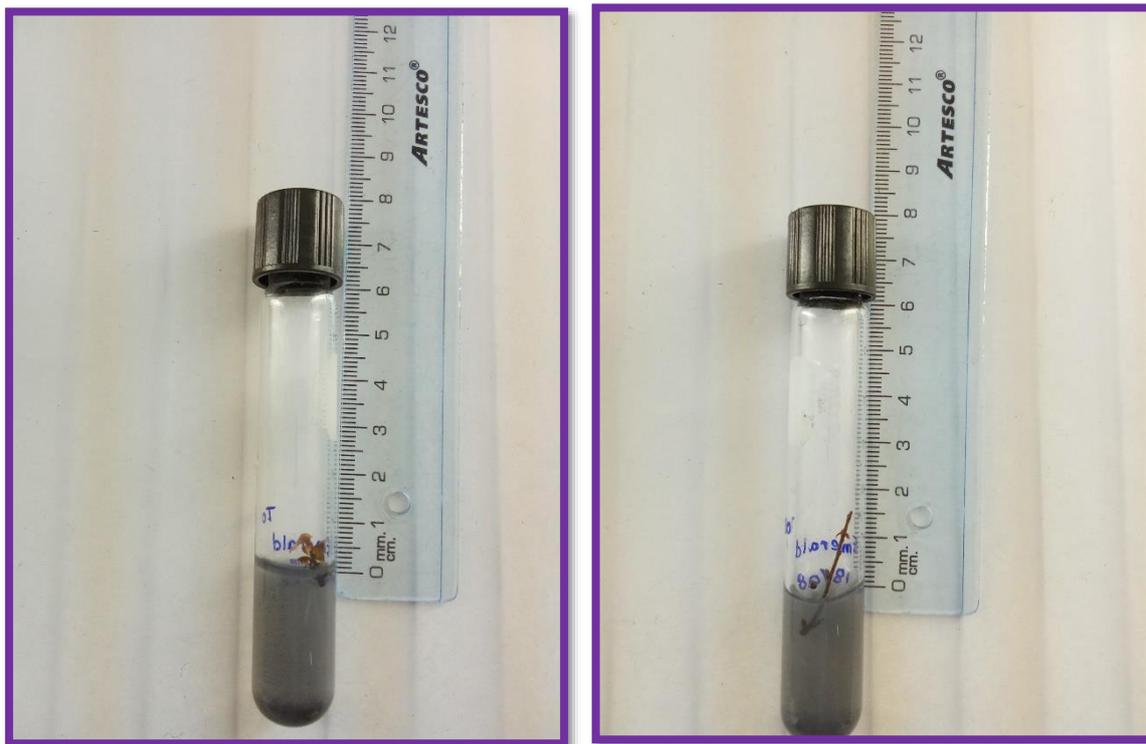
**Anexo 15:** Vitroplantas de la variedad Emerald en la F1 de 45 días.



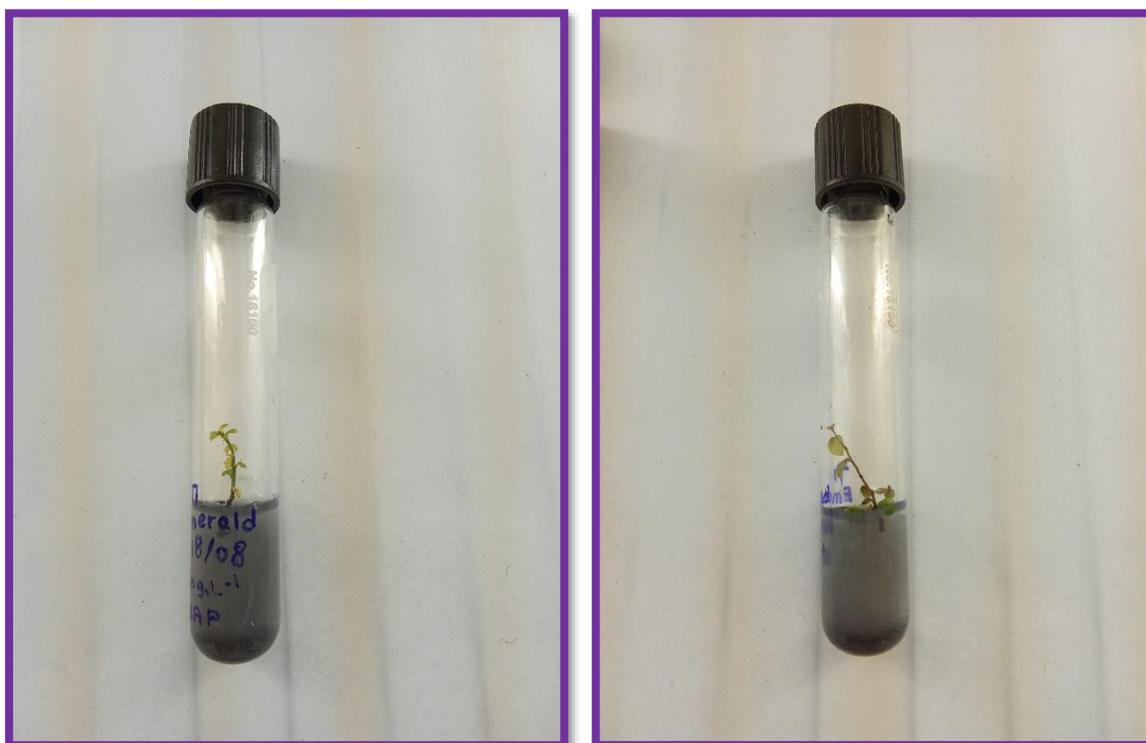
**Anexo 16:** Vitroplantas de la variedad Emerald con varios brotes y con un solo brote.



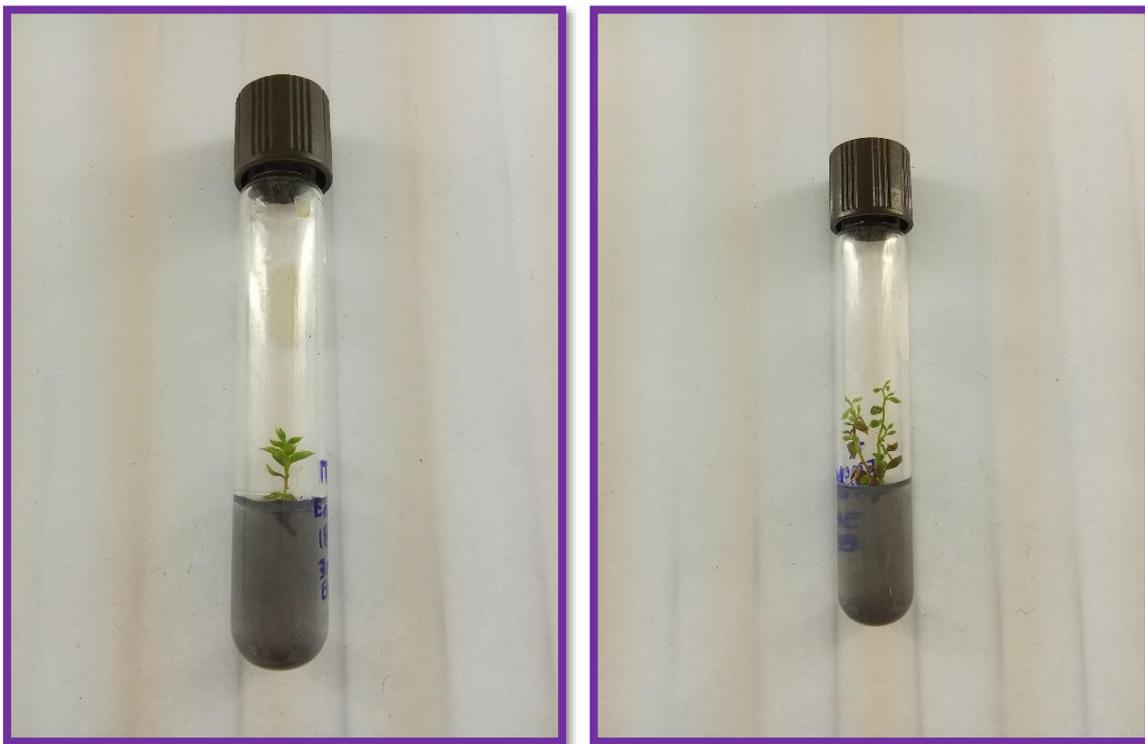
**Anexo 17:** Tratamiento 1: Emerald con 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP



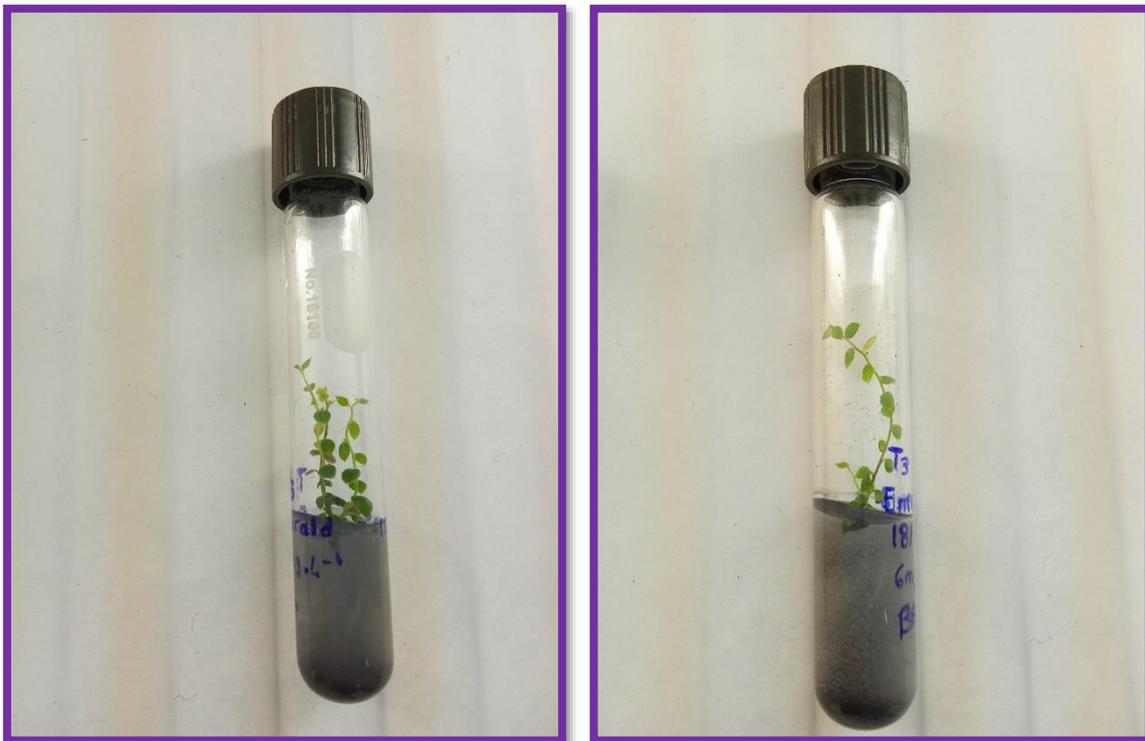
**Anexo 18:** Tratamiento 2: Emerald con 1 mgL<sup>-1</sup> de BAP



**Anexo 19:** Tratamiento 3: Emerald con  $3\text{mgL}^{-1}$  de BAP



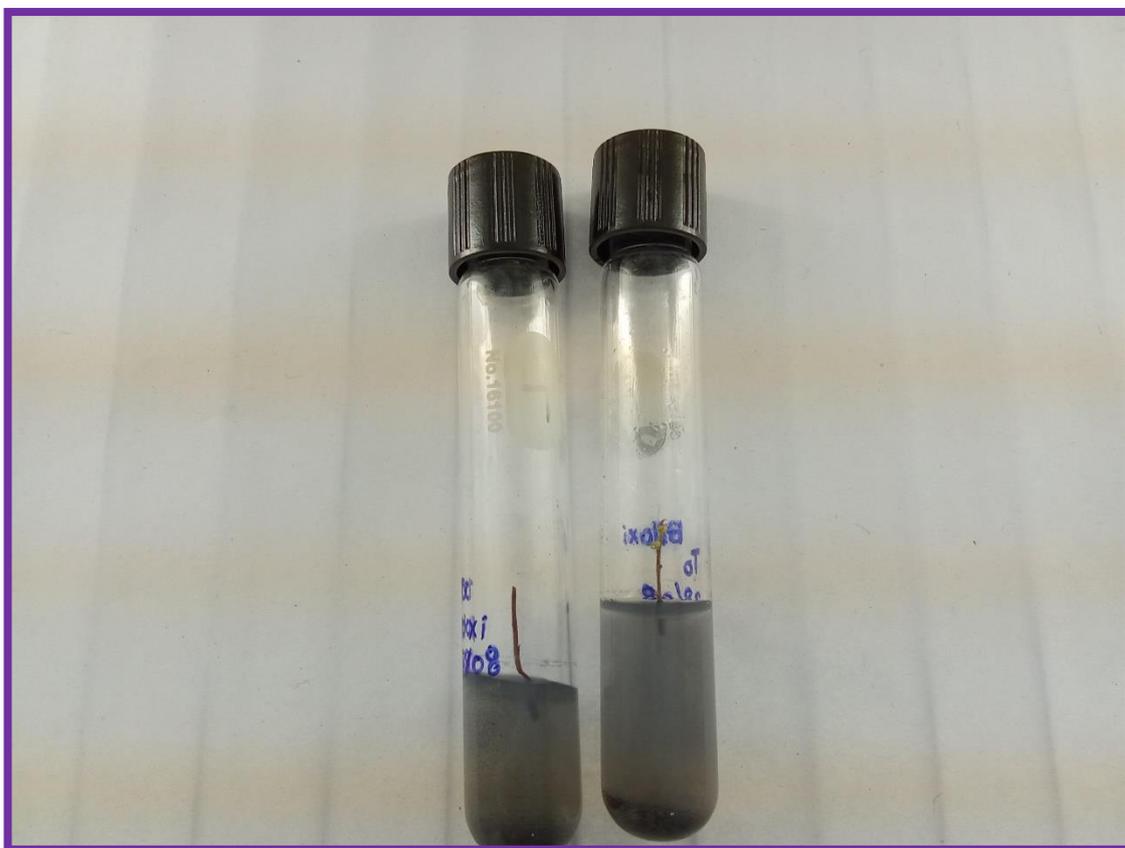
**Anexo 20:** Tratamiento 4: Emerald con  $6\text{mgL}^{-1}$  de BAP



**Anexo 21:** Tratamiento 5: Emerald con 9 mgL<sup>-1</sup> de BAP



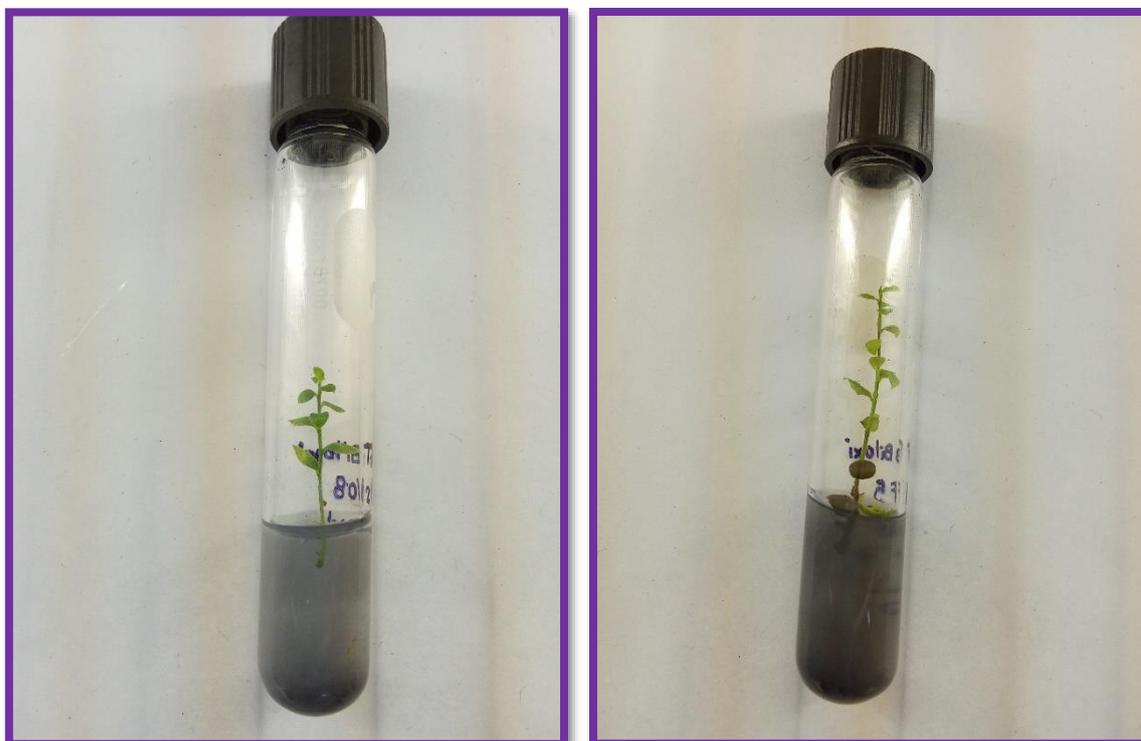
**Anexo 22:** Tratamiento 6: Biloxi con 0 mgL<sup>-1</sup> de BAP



**Anexo 23:** Tratamiento 7: Biloxi con 1 mgL<sup>-1</sup> de BAP



**Anexo 24:** Tratamiento 8: Biloxi con 3 mgL<sup>-1</sup> de BAP



**Anexo 25:** Tratamiento 9: Biloxi con  $6\text{mgL}^{-1}$  de BAP



**Anexo 26:** Tratamiento 10: Biloxi con  $9\text{mgL}^{-1}$  de BAP

