



“Estudio de la reproducción in vitro del (*Vaccinium corymbosum* L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivos para su adaptación en la zona de Santo Domingo De Los Tsáchilas”

Armijos Mora, Hernán Iván y González Morales, Mauricio Rafael

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería Agropecuaria

Trabajo de Titulación, previo a la Obtención del Título de Ingeniería Agropecuaria.

Neira Mosquera, Juan Alejandro P,h D.

27 de agosto del 2021

URKUND

Document	Sr. Armijos, Sr. Gonzales-TESIS ARANDANO Final 1.0.docx (D111729232)
Submitted	2021-08-26 21:51 (-05:00)
Submitted by	Juan Alejandro Neira Mosquera (neiramosquera@uteq.edu.ec)
Receiver	neiramosquera.uteq@analysis.orkund.com

7% of this approx. 27 pages long document consists of text present in 14 sources.



Escaneo el siguiente código para:
JUAN ALEJANDRO
NEIRA MOSQUERA

Juan Alejandro, Neira Mosquera PhD.

C.C. 0501644470



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “ESTUDIO DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DEL (*Vaccinium corymbosum* L.) VARIEDAD. BILOXY, ARÁNDANO CONSIDERANDO DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVOS PARA SU ADAPTACIÓN EN LA ZONA DE SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS” fue realizado por los señores Armijos Mora, Hernán Iván y González Morales, Mauricio Rafael el cual ha sido revisado y analizados en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 de Agosto del 2021

Firma:



.....
Juan Alejandro, Neira Mosquera PhD.

c.c. 0501644470



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Nosotros, **Armijos Mora, Hernán Iván** y **González Morales, Mauricio Rafael**, con cédulas de ciudadanía n° 172471825-7 y 2300596984, declaramos que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación "**ESTUDIO DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DEL (*Vaccinium corymbosum* L.) VARIEDAD. BILOXY, ARÁNDANO CONSIDERANDO DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVOS PARA SU ADAPTACIÓN EN LA ZONA DE SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS**" es de nuestra autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 de Agosto del 2021

Firma:

Armijos Mora, Hernán Iván

c.c.: 1724718257

González Morales, Mauricio Rafael

c.c.: 2300596984



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Nosotros, Armijos Mora, Hernán Iván y González Morales, Mauricio Rafael, con cédulas de ciudadanía n° 172471825-7 y 2300596984, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: "ESTUDIO DE LA REPRODUCCIÓN IN VITRO DEL (*Vaccinium corymbosum* L.) VARIEDAD. BILOXY, ARÁNDANO CONSIDERANDO DISTINTOS MEDIOS DE CULTIVOS PARA SU ADAPTACIÓN EN LA ZONA DE SANTO DOMINGO DE LOS TSÁCHILAS" en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi/nuestra responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 de Agosto del 2021

Firma:

Armijos Mora, Hernán Iván

c.c.: 1724718257

González Morales, Mauricio Rafael

c.c.: 2300596984

Dedicatoria

Esta investigación está dedicado a mis padres quienes han sido los que siempre me han apoyado en todo este proceso académico dándome consejos y guiándome siempre por el camino correcto y las decisiones adecuadas de la vida.

A mi hermana por el apoyo la compañía y la ayuda estando siempre a mi lado.

A mis amigos han estado para apoyarme es los momentos más difíciles de esta etapa universitaria.

Hernán Iván Armijos Mora

Este trabajo de investigación está dedicado en primer lugar a Dios, quien me ha permitido estar hoy logrando esta meta, a mis padres Moraima Morales y Stalin González quienes han luchado día a día para ayudarme en las diferentes formas que lo he necesitado durante toda mi vida estudiantil y personal, a mis hermanos y sobrinos.

A mis abuelos quienes me han aconsejado y apoyado durante cada etapa académica de mi vida los cuales han sido un ejemplo e inspiraciones.

A mis amigas y amigos, quienes me han brindado su apoyo moral y cariño más sincero durante todos estos años.

Mauricio Rafael González Morales

Agradecimiento

En primer lugar, expresar mi agradecimiento a Dios por otorgarme la vida y haber permitido alcanzar esta meta de la vida, a mi padre Iván Armijos y mi madre Gladys Mora por haberme apoyado día a día durante todo mi proceso universitario y que han estado ahí para darme todo lo necesario apoyo y consejos en los momentos más difíciles, a mi hermana Yara Armijos por apoyarme siempre y estar al lado ayudándome.

Al director de tesis Ph.D. Juan Neira por su gran aporte para la realización de esta investigación.

A la Ph.D. Sungey Sánchez y el ingeniero Patricio Vaca por la ayuda y apoyo en esta investigación.

A la Ingeniera Vanessa Armijos por su gran apoyo y colaboración en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE" y a la ingeniera Katty Medina por su apoyo en las dificultades presentadas durante el proceso universitario.

Al ingeniero Marcelo Patiño por su dedicación y apoyo tanto como docente donde siempre los ha ayudado en momentos difíciles.

Finalmente agradecer a los docentes y amigos por todo el apoyo incondicional que han sido partícipes de nuestra formación académica y profesional gracias a sus conocimientos y enseñanzas diarias nos formamos con los mejores valores y conocimientos para ser unos excelentes profesionales.

Hernán Iván Armijos Mora

Agradezco a Dios y la Virgen por todo lo que me ha dado en esta vida, principalmente por mi familia, que es mi pilar fundamental para salir adelante, a mi madre Moraima Morales por ayudarme a cumplir esta meta y demostrarme que con dedicación y esfuerzo todo es posible sin importar el tiempo siendo mi ejemplo a seguir a mi padre Stalin González por su apoyo, ayuda en mi vida estudiantil. Además, todas las historias de vida y los valores impartidos que me han permitido ser mejor hijo, hermano y amigo.

A mis hermanos, sobrinos y abuelos que son las personas que siempre han creído en mí y me han apoyado en cada uno de los pasos de esta vida.

A quienes me han colaborado durante el desarrollo de este trabajo de investigación: A amigo y compañero de tesis Hernán Armijos, que sin el este trabajo no sería posible. A mi tutor de tesis Ph.D. Juan Neira por su gran aporte para la realización de esta investigación junco con la Ph.D. Sungey Sánchez y el ingeniero Patricio Vaca por la ayuda y apoyo en esta investigación.

De igual forma agradezco a la vida por permitirme ser parte de la familia ESPE, de la cual no solo me llevo las enseñanzas impartidas por los docentes, autoridades, empleados y trabajadores de la universidad, sino también por los grandes lazos de amistades que forme siendo ellos la parte más importante de mi vida universitaria.

Mauricio Rafael González Morales

Índice de contenidos

Caratula.....	1
Análisis Urkund.....	2
Certificado de director de tesis.....	3
Responsabilidad de Autoría.....	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria.....	6
Agradecimiento.....	8
Índice de contenidos.....	10
Índice de tablas	14
Índice de figuras	15
Resumen.....	16
Abstract.....	17
Capítulo I.....	18
Introducción	18
Objetivos.....	20
Objetivo General	20
Objetivos Específicos	20
Hipótesis.....	21
Hipótesis de la variable hormonal.....	21
Hipótesis del pH del medio de cultivo	21
Hipótesis del tiempo de fotoperiodo.....	21
Capítulo II.....	22
Revisión de Literatura	22
Descripción del Cultivo	22
Clasificación Taxonómica.....	22
Descripción Botánica.....	23
Sistema Radicular.....	23
Hojas..	23
Variedad Biloxy.....	23
Requerimientos edafoclimáticos del arándano	24
Clima.	24
Suelos.....	24
Cultivo In Vitro.....	25
Cultivo de tejidos vegetales	25
Etapas del cultivo In Vitro	26
Fase I. Preparación de la planta madre..	26

Fase II. Establecimiento del cultivo en asepsia.....	26
Fase IV. Enraizamiento.....	27
Reguladores de Crecimiento	27
Auxinas.....	27
Citoquininas.....	28
Giberalinas.....	28
Medios de Cultivo.....	28
Reactivos y concentraciones para medios de cultivo.....	28
Capítulo III.....	30
Materiales y Métodos.....	30
Ubicación del Área de Investigación.....	30
Ubicación política.....	30
Ubicación Geográfica.....	30
Ubicación Ecológica.....	30
Materiales	32
Materiales para siembra	32
Materiales de Laboratorio.....	32
Materiales para la Desinfección.....	32
Equipo de Laboratorio	33
Materiales de Oficina.....	33
Componentes del medio de cultivo MS.....	33
Métodos.....	34
Diseño del Experimento	34
Factores a Probar.....	34
Tratamientos a Probar.....	35
Tipo de Diseño.....	36
Repeticiones.....	37
Características de las unidades experimentales	37
Croquis del Ensayo.....	37
Análisis Estadístico.....	38
Coeficiente de variación.....	38
Análisis funcional.....	38
Variables a medir	39

Contaminación.....	39
Número de hojas.	39
Altura de brote (mm).. ..	39
Color de brotes.	39
Métodos Específicos de preparación del ensayo.....	40
Esterilización de frascos.. ..	40
Esterilización de materiales.	40
Esterilización de cámara de flujo laminar.	40
Preparación de los micros y macros nutrientes para la solución stock.	41
Preparación del medio de cultivo.. ..	41
Selección del material vegetativo.....	41
Desinfección del material vegetativo.....	42
Siembra del material vegetal.	42
Capítulo IV	43
Resultados.....	43
Análisis descriptivo de las variables evaluadas en la reproducción in vitro del (Vaccinium corymbosum L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo.....	43
Análisis de Varianza para Altura (mm) inicial y final	43
Análisis de varianza de contaminación en la multiplicación in vitro	44
Análisis de varianza de número de hojas.....	44
Análisis de Varianza del color del brote	45
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) en la reproducción in vitro del (Vaccinium corymbosum L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo Factor A (Zeatina)	46
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de la altura (mm) final.	46
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de número de hojas	47
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de contaminación	48
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) en la reproducción in vitro del (Vaccinium corymbosum L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo Factor B (pH)	49
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de la altura (mm) inicial.....	49
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de la altura (mm) final.....	50
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de número de hojas.....	51

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) en la reproducción in vitro del (Vaccinium corymbosum L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo Factor C (Fotoperiodo)	52
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de la altura (mm) inicial.....	52
Prueba de significación (Tukey HDS $p < 0,05$) de color del brote	53
Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) en la reproducción in vitro del (Vaccinium corymbosum L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo. Interacción del factor A*B (Zeatina*pH)	54
Control de las variables en la reproducción in vitro del (Vaccinium corymbosum L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo.....	58
Capítulo V	65
Discusión	65
Con respecto al factor A (Zeatina)	65
Con respecto al factor B (pH)	66
Con respecto al factor C (Fotoperiodo).....	66
Con respecto a la interacción del Factor A*B (Zeatina*pH).....	67
Capítulo VI	69
Conclusiones	69
Con respecto al factor A (Zeatina)	69
Con respecto al factor B (pH)	69
Con respecto al factor C (Fotoperiodo).....	69
Con respecto a la interacción del factor A*B (Zeatina*pH).....	70
Recomendaciones	71
Capítulo VII	72
Bibliografía	72

Índice de tablas

Tabla 1	Reactivos y concentraciones para medios de cultivo.....	28
Tabla 2	Componentes del medio de cultivo MS	33
Tabla 3	Factores y niveles a evaluar	34
Tabla 4	Descripción e identificación de tratamientos	35
Tabla 5	Fuentes de varianza	38
Tabla 6	Tabla de munssel (circulo cromático)	39
Tabla 7	Análisis de varianza de la altura (mm) inicial del brote	43
Tabla 8	Análisis de varianza de altura (mm) final del brote	43
Tabla 9	Análisis de varianza de contaminación en la reproducción in vitro	44
Tabla 10	Análisis de varianza de número de hojas final en los brotes de arándano	44
Tabla 11	Análisis de varianza del color del brote	45
Tabla 12	Prueba de significación de la altura (mm) final	46
Tabla 13	Prueba de significación del número de hojas del factor zeatina.....	47
Tabla 14	Prueba de significación de contaminación con distintas concentraciones de zeatina	48
Tabla 15	Prueba de significación de altura (mm) inicial del brote	49
Tabla 16	Prueba de significación de la altura (mm) final del brote.....	50
Tabla 17	Prueba de significación del número de hojas	51
Tabla 18	Prueba de significación de la altura (mm) inicial del brote.	52
Tabla 19	Prueba de significación del color del brote del factor fotoperiodo	53
Tabla 20	Prueba de significación de altura (mm) inicial entre la interacción del factor A*B	55
Tabla 21	Prueba de significación de altura (mm) final entre la interacción del factor A*B	56
Tabla 22	Matriz de correlaciones de las variables evaluadas.....	63

Índice de figuras

Figura 1 Ubicación geográfica de la investigación	31
Figura 2 Repartición de las unidades experimentales	37
Figura 3 Altura (mm) final en distintas concentraciones de zeatina.....	46
Figura 4 Número de hojas en distintas concentraciones de zeatina.....	47
Figura 5 Contaminación en la multiplicación in vitro con distintas concentraciones de zeatina	48
Figura 6 Altura (mm) inicial del brote del factor pH.	50
Figura 7 Altura (mm) final del brote de arándano.....	51
Figura 8 Número de hojas con relación al factor pH.	52
Figura 9 Altura (mm) inicial del brote con distintos fotoperiodos.	53
Figura 10 Color de brote respecto al fotoperiodo	54
Figura 11 Altura (mm) inicial del brote interacción entre el factor zeatina* pH.....	56
Figura 12 Altura (mm) final de los brotes de arándano con interacción entre los factores A*B	57
Figura 13 Control de altura según la media	58
Figura 14 Control de altura con el rango.....	59
Figura 15 Control de contaminación según la media	60
Figura 16 Control de contaminación con el rango.....	61
Figura 17 Control de color de brote según el rango	62
Figura 18 Control de Número de hojas con el rango.....	63
Figura 19 Componente en espacio rotado de las variables evaluadas.....	64

Resumen

La investigación tuvo como objetivo el estudio de la reproducción in vitro (*Vaccinium corymbosum* L.) variedad. Biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo en la zona de Santo Domingo de los Tsáchilas, esta investigación fue realizada en el laboratorio de biotecnología vegetal de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE” ubicada en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, parroquia Luz de América. Se aplicó un estudio estadístico mediante ANOVA en DCA con arreglo trifactorial (Factores: Hormonas, pH, Fotoperiodo) conformado por 32 tratamientos con cinco repeticiones, con un total de 160 unidades experimentales. Para demostrar la viabilidad de la investigación se evaluaron variables como: contaminación, número de hojas, altura de brote (mm y color de brote, aplicando la prueba de Tukey ($p > 0.05$) para identificar diferencias significativas entre tratamientos. Los mejores resultados evidenciados fueron los tratamientos que presentaron concentración de zeatina de 3 mg/, pH de 5 presentando en la variable en la altura de brote de 16,20 milímetros de altura, con la variable de número de hojas se obtuvo una media de una hoja por brote, el factor de fotoperiodo 8 días oscuridad con mejor color de hojas (GY30). Observando que entre variables presentaron correlaciones entre la altura del brote y número de hojas, mencionando que entre mayor altura del brote existirá mayor número de hojas. La contaminación de los medios de cultivos que se presenciaron en el ensayo estuvo presente hasta el día catorce con un 15% de contaminación, con una media de 0,3 frascos contaminados en la concentración de 4,5 mg/L de zeatina durante todo el ensayo.

Palabras clave:

- **ZEATINA**
- **IN VITRO**
- **PROPAGACIÓN**
- **FOTOPERIODO**

Abstract

The research had as objective the study of in vitro reproduction (*Vaccinium corymbosum* L.) variety. Biloxy, blueberry considering different culture media in the area of Santo Domingo de los Tsáchilas, this research was conducted in the plant biotechnology laboratory of the University of the Armed Forces "ESPE" located in the province of Santo Domingo de los Tsáchilas, parish Luz de America. A statistical study was applied by means of ANOVA in DCA with a trifactorial arrangement (Factors: Hormones, pH, Photoperiod) conformed by 32 treatments with five replications, with a total of 160 experimental units. To demonstrate the feasibility of the research, the following variables were evaluated: contamination, number of leaves, shoot height (mm) and shoot color, applying Tukey's test ($p > 0.05$) to identify significant differences between treatments. The best results evidenced were the treatments that presented zeatin concentration of 3 mg/, pH of 5 presenting in the variable of shoot height of 16.20 millimeters in height, with the variable of number of leaves an average of one leaf per shoot was obtained, the photoperiod factor 8 days dark with better color of leaves (GY30), observing that between variables presented correlations between the height of the shoot and number of leaves, mentioning that the greater the height of the shoot, the greater the number of leaves. The contamination of the culture media that were present in the trial was present until day fourteen with 15% contamination, with an average of 0.3 flasks contaminated in the concentration of 4.5 mg/L of zeatin during the entire trial.

Key words:

- ZEATIN
- IN VITRO
- PROPAGATION
- PHOTOPERIOD

Capítulo I

Introducción

El panorama a nivel mundial del cultivo de arándano sitúa a Estados Unidos y Canadá como uno de los mayores productores de arándano en América del norte con 223 millones de kilogramos, Chile cuenta con una producción de 50 millones de kilogramos, el cual representa el 90% de América del Sur, también se cultiva en Argentina, Uruguay y Perú (García & García, 2013).

Al ser un cultivo recién introducido hace cinco años en el Ecuador como lo menciona Patricio Ñacato quien fue el primer importador de plantas desde Estados Unidos, pero en el país hay desconocimiento sobre el manejo de este cultivo es decir no hay suficientes técnicos que entiendan sobre el cultivo de arándanos ni del tema de agronegocios para que las comunidades tengan una capacitación sobre el manejo y productividad del cultivo de arándanos y puedan emprender con este tipo de cultivo muy rentable (Gonzalez, 2018).

Por lo general el arándano se propaga mediante enraizamiento de estacas pero este método de propagar tiene desventajas las cuales son el bajo porcentaje de raíces, menor desarrollo de ramas laterales de las plantas por consiguiente esto tiene un efecto directo en la producción de flores y racimos de fruta debido a que no se forman las coronas y la alta tasa de mortalidad de los esquejes, además se tiene una variabilidad genética muy amplia en los cultivos teniendo problemas de productividad y en los estados fitosanitarios del cultivo es por ese motivo que se recurre a la micropropagación (Miller, Rawnsley, & George, 2006).

Actualmente en el Ecuador el elevado costo de las plantas limita a los agricultores obtenerlas ya que el precio de inversión por hectárea es muy elevado estando en un promedio de cinco dólares cada planta. Según, (Caballero, 2015) se

requiere una densidad de 6 000 plantas/hectárea. Pero el rendimiento económico es muy alto y la recuperación del capital invertido se logra en el primer año de cosecha.

La oportunidad de desarrollo de este cultivo inicia de que en países donde se tiene un clima de cuatro estaciones no pueden cultivar fruta todo el año es decir en los meses de septiembre y diciembre sus cosechas se terminan, la ventaja es que en el Ecuador se puede cosechar fruta todo el año constante mente (Gonzalez, 2018).

La finalidad de este proyecto de investigación es la producción de plantas libre de enfermedades y que mantengan las características de la planta madre, en Santo Domingo no existe actualmente investigaciones referente a este cultivo por lo que se generaría un nuevo rubro económico incentivando a los agricultores a producirlo de tal manera que el costo de las plantas sean accesible para los productores.

Objetivos

Objetivo General

➤ Estudiar la reproducción in vitro del (*Vaccinium corymbosum* L.) variedad Biloxi, arándano considerando distintos medios de en la zona de Santo Domingo de los Tsáchilas.

Objetivos Específicos

➤ Evaluar cuatro concentraciones de hormonas en la reproducción in vitro del arándano.

➤ Evaluar el pH de los medios de cultivo en la multiplicación in vitro del arándano, bajo distintas concentraciones de citoquininas.

➤ Estudiar el comportamiento de las plántulas de arándano con distintos fotoperiodos en reproducción in vitro.

Hipótesis

Hipótesis de la variable hormonal

- **Ho:** No existen diferencias en las cuatro concentraciones de hormonas en la reproducción in vitro del arándano.
- **Ha:** Si existen diferencias en las cuatro concentraciones de hormonas en la reproducción in vitro del arándano.

Hipótesis del pH del medio de cultivo

- **Ho:** El pH no influye en los medios de cultivo en la multiplicación in vitro del arándano con distintas concentraciones de citoquininas
- **Ha:** El pH si influye en los medios de cultivo en la multiplicación in vitro del arándano con distintas concentraciones de citoquininas

Hipótesis del tiempo de fotoperiodo

- **Ho:** La oscuridad no influye en la adaptación de las plántulas de arándano en la reproducción in vitro
- **Ha:** La oscuridad si influye en la adaptación de las plántulas de arándano en la reproducción in vitro

Capítulo II

Revisión de Literatura

Descripción del Cultivo

Los arándanos son de un grupo nativo de especies del hemisferio norte, siendo *Vaccinium corymbosum* L. la variedad que más se adapta a distintos pisos climáticos y mayor valor comercial tiene, pertenece a la familia de las Ericaceae se la cultiva porque sus frutos tienen un valor nutricional alto y son muy usados para la elaboración de subproductos como helados, mermeladas y vinos (Romero, 2016).

Es un cultivo que ha sido adaptado a diferentes latitudes que se extiende desde el continente europeo y americano y con menor porcentaje en América del Sur y África se adaptan a estas zonas ya que poseen climas óptimos y suelos adecuados con niveles de pH entre 4,5 y 5,5 (García & García, 2013).

Clasificación Taxonómica

(Bañados, 2007). Describe la taxonomía del arándano de la siguiente manera.

Reino	: Vegetal
División	: Pterophytas
Subdivisión	: Angiosperma
Clase	: Dicotiledonea
Subclase	: Dilleniidae ´
Orden	: Ericales
Familia	: Ericaceae
Subfamilia	: Vaccinioideae
Tribu	: Vaccinieae
Género	: <i>Vaccinium</i>

Especie : *Vaccinium corimbosum* L.

Descripción Botánica

Sistema Radicular. Este tipo de arbusto tiene raíces muy finas y fibrosas las cuales crecen en los primeros 30 centímetros de la superficie del suelo las raíces del arándano no tiene raíz pivotante es decir tiene raíces laterales que ayudan a la absorción de nutrientes por una relación simbiótica con micorrizas este tipo de hongos ayudan en el cultivo a la absorción de formas orgánicas de nitrógeno por las raíces para el buen crecimiento de la planta (Paeshant, Karan, & Radha, 2019).

Hojas. Presenta hojas alternas y dentadas, con pecioladas cortos si se trata de especies domesticas tienen hojas caedizas con una longitud que varía de 1 a 8 cm además poseen una coloración verde pálido a intenso, y en las cuatro estaciones unas variedades desarrollan un color rojizo en las hojas (Tasi & Schulz, 2008).

Variedad Biloxy. Debido a las características de esta planta se mantiene siempre verde en los sembríos de Latinoamérica, tiene una producción precoz muy temprana al resto de variedades y para las zonas de altura es resistente a las heladas, posee un vigor alto esto hace que su modo arbustivo sea denso y productivo, las bayas tiene un tamaño promedio de medianas a pequeñas con un color muy característico azulado de buen olor y sabor (Retamales & Hancock, 2012).

Requerimientos edafoclimáticos del arándano

Clima. La variedad Biloxy es de las que mejor se desarrollan y adaptan a diferentes pisos altitudinales y climas en Estados Unidos se cultivan desde el norte en el Estado de Washington hasta el sur en Florida siendo así una planta que se puede cultivar constantemente en varios lugares (De La Colina, 2009).

La variedad Biloxy tiene requerimientos de horas frío muy bajos en relación a otras variedades ya que viene de un cruzamiento de *V. corimbium* L. Con otras especies minoritarias requiere menos de 400 horas de frío pudiendo llegar hasta las 200 horas (García, 2011).

Para un óptimo desarrollo de este cultivo se requiere de ciertas temperaturas que varíen de 5 a 18 °C y la precipitación óptima está en 1000 a 3000 mm anuales que sean bien distribuidos en todas sus etapas vegetativas (Vargas, 2014).

En el Ecuador actualmente se está cultivando en la Región Sierra Ambato, Guayllabamba y en la costa en Pasaje El Oro teniendo buenos resultados de aclimatación y buena producción (Información proporcionada por agricultores de este cultivo).

Suelos. Es uno de los factores más importantes de este cultivo ya que requiere niveles de pH óptimos que estén entre 4 y 6 al que mejor se adaptan las plantas y asimilan los nutrientes, es difícil encontrar suelos ácidos, pero luego que se realiza un análisis de suelo se puede modificar este pH añadiendo materia orgánica creando condiciones de estructura óptimas para estos suelos donde se desea cultivar (De La Colina, 2009).

Cultivo In Vitro

Esta técnica consiste en aislar explantes de arándano es decir únicamente una parte de la planta y proporcionarle artificialmente el medio que requiere como lo son las condiciones físicas y químicas para su crecimiento y así las células puedan expresar su división y multiplicación (Roca & Mroginski, 1993).

El método de propagación In Vitro tiene como objetivo obtener plantas que sean completamente parecidas a las de la madre donde se extrae los explantes que tienen una yema axilar, puestos en medio de cultivo con los requerimientos nutricionales específicos así se puede propagar plantas de arándano de una manera rápida y en corto tiempo (Rosell & Villalobos, 1990).

Cultivo de tejidos vegetales

La finalidad se basa en estimular la incidencia del tejido vegetal durante el desarrollo mediante técnicas de regeneración, organogénesis, diferenciación, multiplicación de yemas axilares, embriogénesis todos estos mencionados parten de una la selección de un explante estos deben ser de tejidos inmaduros o herbáceos ya que tienen mayor regeneración por su característica plástica morfogenética, la morfogénesis va a depender básicamente de un correcto balance hormonal del medio del cultivo que se utilice para eso el uso de las citoquininas que ayuda a promover el desarrollo de una nuevas plántulas a partir de una única yema axilar donde los meristemas del ápice de la plántula de un primer explante es ahora un tejido con una elevada tasa de división celular debido a la totipotencia de las células gracias a los medios proporcionados mediante el medio de cultivo se puede propagar un número incalculable de especies vegetales (Pérez & Cornejo, 2014).

Los meristemas que se han formado en estos tallos que han sido colocados

en un medio de cultivo con un nivel elevado de auxinas ayuda a la formación de tallos axilares, a esto se le denomina un subcultivo ya que me permitirá propagar de forma continua de una misma línea de explantes (Pérez & Cornejo, 2014).

Etapas del cultivo In Vitro

Fase I. Preparación de la planta madre. Antes de recolectar el material vegetal se debe tomar en cuenta que material debemos elegir, para esto se escogen las mejores plantas las cuales hayan sido resistentes a plagas y enfermedades hayan tenido una excelente productividad y precocidad cuando empezó la producción es importante tener la planta madre unos meses antes en un invernadero con las mejores condiciones climáticas y nutricionales, se toma en cuenta estos parámetros porque las nuevas plántulas tendrán las mismas características fisiológicas y productivas que la madre y no existirá variabilidad genética en un cultivo (Toro, 2009).

Fase II. Establecimiento del cultivo en asepsia. En esta etapa luego de los explantes que hayan tenido brotes y también no hayan tenido ninguna contaminación dentro del medio de cultivo debe tener nuevos brotes que hayan nacido de las yemas axilares y tengas entrenudos, esto nuevos brotes se los extrae para ser nuevamente cultivados es decir un subcultivo en un nuevo medio preparado con los requerimientos nutricionales establecidos y se los establece en un tubo de ensayo u otros recipientes adecuados para esta fase, esta operación se debe realizar en la cámara de flujo laminar (Castillo, 2008).

Según, (Villanueva & Mansilla, 2013) el uso de 6-Bencilminopurina (BAP) y ácido Indolacético (IAA) bajo diferentes porciones medias, de los cuales se obtienen explantes de 5 mm con reguladores de crecimiento de plantas superiores las cuales se usaron dosis que varían desde 0.1 mg/L hasta 5.0 mg/L usado en el medio de

cultivo teniendo así un aumento considerable de la propagación mediante explantes.

Fase IV. Enraizamiento. Esta fase hace referencia al enraizamiento o también llamado pre trasplante el cual de aquí se va a provocar tener plantas autotróficas para que luego pueda sobrevivir en las condiciones de trasplante para que pase a la etapa de adaptación en sustrato (Castillo, 2008).

Este debe estar libre de organismos patógenos y las plántulas tengan hojas bien desarrolladas ya que estas están obligadas a realizar la fotosíntesis en la etapa de enraizamiento para esto se debe construir un invernadero tipo túnel con una alta humedad (Castillo, 2008).

(Brenes, Castillo, & Gómez, 2014) Mencionan que el uso de medio de cultivo WPM (Woody plant Medium) suplementado con 1.5 mg de tiazurón (TDZ), 30 g de sacarosa y 8 g agar y un pH ajustado a 6,0 con KOH o HCl ayudan al enraizamiento de los explantes de arándano.

Reguladores de Crecimiento

Auxinas. Este tipo de sustancias son capaces de generar un agrandamiento y alargamiento celular, cuando se adicionan auxinas al medio de cultivo es suficiente para mantener el crecimiento celular de los tejidos también ayudan a la división celular, diferenciación del tejido vascular y formación de órganos que son los meristemas, una de las formas naturales de auxinas es el ácido indolacético (AIA) y el ácido indolbutírico (AIB) (Navarro, 2005).

Citoquininas. Ayudan al crecimiento celular de callos de los tejidos y también la división celular son derivados de la adenina y se encuentran en las partes jóvenes de las plantas y raíces, rompen el estado de dormancia de las yemas de los explantes es decir promueven la brotación de hojas de las nuevas plántulas (Bhojwani, Saran, & Kamur, 2013).

(Vilcarrómero, 2016) Menciona que la utilización de citoquininas 2 isopentiladenina y sulfato de adenina muestran buenos resultados en el crecimiento de microtallos y la tasa de multiplicación cuando se usan valores de 1ml de 2ip y 1.5ml de 2ip más SO_4 Adenina 0.015g se obtienen 26 unidades de propagación de un mes.

Gibberalinas. Las giberelinas con las promotoras de la división celular e inducir las células en la fase G1 al momento de sintetizar ADN también ayudan a la elongación celular e incrementar las paredes celulares a subes que se incrementa los niveles de glucosa y fructosa esto ayuda a que el agua no ingrese dentro de las células (Navarro, 2005)

Medios de Cultivo

Reactivos y concentraciones para medios de cultivo.

Tabla 1

Reactivos y concentraciones para los distintos medios de multiplicación y enraizamiento.

Medio WPM pH 5,5-5,6		Medio MS 1/3 pH 5,5-5,6	
Macroelementos		Macroelementos	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	9,6 g/l	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	44 g/l
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	55 g/l	NNO_3	190 g/l
KH_2PO_4	17 g/l	KH_2PO_4	17 g/l
K_2SO_4	99 g/l		

MgSO ₄ 7H ₂ O	37 g/l	MgSO ₄ 7H ₂ O	37 g/l
NH ₄ NO ₃	40 g/l	NH ₄ NO ₃	165 g/l
Microelementos		Microelementos	
CuSO ₄ ·5H ₂ O	25 mg/l	CuSO ₄ ·5H ₂ O	25 mg/l
H ₃ BO ₃	620 mg/l	H ₃ BO ₃	6200 mg/l
MnSO ₄ ·H ₂ O	2230 mg/l	MnSO ₄ ·H ₂ O	16900 mg/l
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	25 mg/l	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	250 mg/l
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	860 mg/l	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8600 mg/l
FeNa EDTA	36,7 mg/l	FeNa EDTA	36,7 mg/l
		<i>Kl</i>	380 mg/l
Vitaminas		Vitaminas	
Glicina	2 mg/l	Glicina	2 mg/l
Ácido Nicotínico	0.5 mg/l	Ácido Nicotínico	0.5 mg/l
Piridoxina	0,5 mg/l	Piridoxina	0,5 mg/l
Tiamina	1 mg/l	Tiamina	0,10 mg/l
Inositol	100 mg/l	Inositol	100 mg/l
Agar	7 g/l	Agar	7 g/l
Sacarosa	30 g/l	Sacarosa	30 g/l
200 ml cada prueba de multiplicación		200 ml cada prueba de multiplicación	
2ip 4	0,8 mg	2ip4	0,8 mg
2ip 2,5	0,5 mg	Z 0,5/ 2ip 4	0,1/0,8 mg
Z 0,5/ AIB 0,1	0,1/0,02 mg		
Z 0,5/ 2ip 4	0,1/0,8 mg		
Z 0,5/ 2ip 2,5	0,1/0,4 mg		
200 ml cada prueba de multiplicación		200 ml cada prueba de multiplicación	
AIB/CA1	0,2/0,2 mg	AIB1/CA1	0,2/0,2 mg
Sin reguladores	--	Sin reguladores	--

Nota. (Castro, 2016).

Capítulo III

Materiales y Métodos

Ubicación del Área de Investigación

Ubicación política

- País: Ecuador
- Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas
- Cantón: Santo Domingo
- Parroquia: Luz de América
- Sector: km 24 Vía Quevedo

Ubicación Geográfica

La investigación se realizó en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Ubicada en Vía a Quevedo km 24, Recinto Luz de América, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, cantón Santo Domingo.

- Latitud: 00° 24´ 36 "
- Longitud: 79° 18´ 43"
- Altitud: 270 msnm

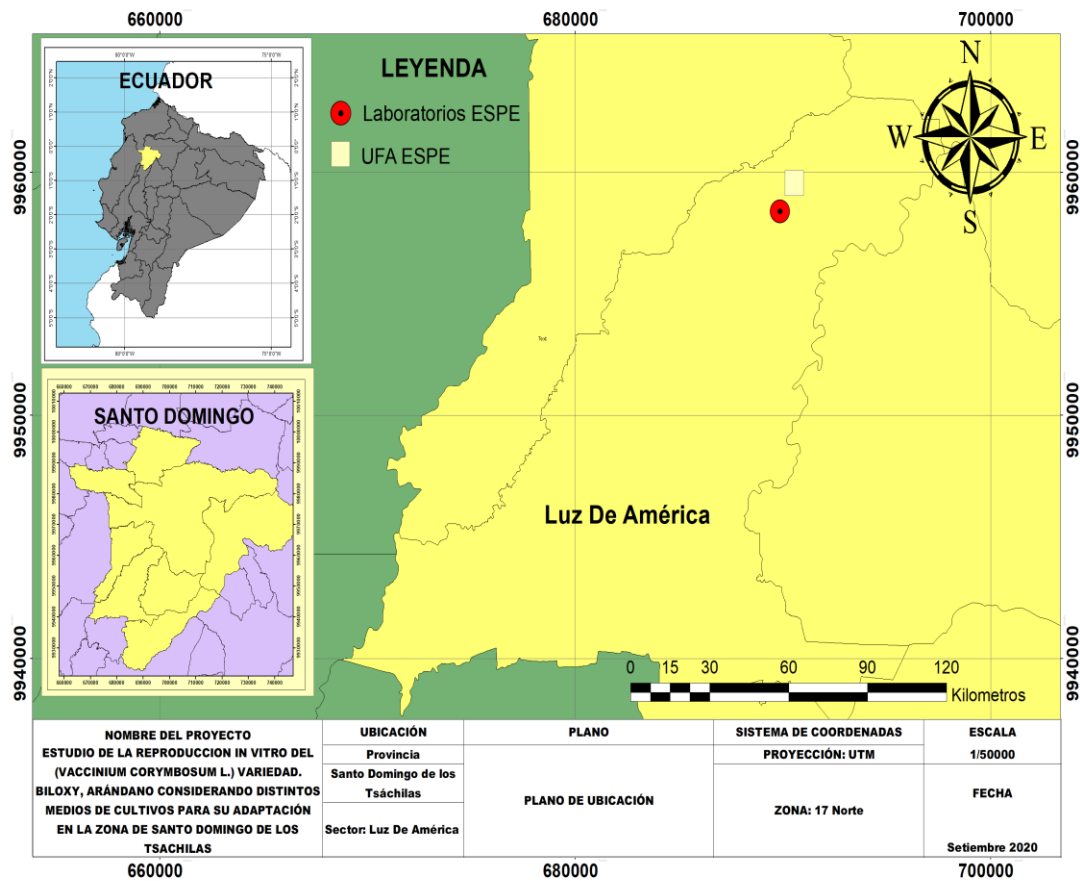
Ubicación Ecológica

La zona donde se realizará la investigación cuenta con las siguientes características ecológicas

- Zona de vida: Bosque húmedo Tropical
- Altitud: 224 msnm
- T° promedio: 24,6 °C
- Precipitación: 2860 mm año
- Heliofanía: 739 horas luz año

Figura 1

Ubicación geográfica de la investigación



Materiales

Materiales para siembra

- Papel estéril
- Papel aluminio
- Mechero
- Para film
- Bisturíes N ° 11
- Mangos de bisturíes
- Pinzas punta aguda
- Pinzas punta roma

Materiales de Laboratorio

- Frascos de vidrio para la siembra
- Solución Stock
- Pipetas: 1ml-10ml
- Probetas 100ml
- Vasos Beaker 1000ml -500ml

Materiales para la Desinfección

- Agua destilada previamente esterilizada
- Tween 20
- Alcohol
- Hipoclorito de sodio
- Detergente

Equipo de Laboratorio

- Refrigerador
- Horno microondas
- Autoclave
- Estufa
- Cámara fotográfica
- Balanza analítica
- Cámara de flujo

Materiales de Oficina

- Hojas A4
- Impresora
- Folder
- Computadora
- Flash memory
- Libreta de laboratorio

Componentes del medio de cultivo MS**Tabla 2***Minerales para medio de cultivo WPM*

N°	Ingredientes	g/l	Cantidad de sales minerales	
			STOCK	10X
1	KH_2PO_4	0,170	A	1,7
2	NH_4NO_3	0,4	A	4,00

3	CaCl ₂ · 2H ₂ O	0,0960	A	0,960
4	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,370	A	3,700
5	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	0,5560	B	5,560
6	K ₂ SO ₄	0,99	C	9,90
7	MnSO ₄ · H ₂ O	0,02230	D	0,2230
8	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,00860	D	0,0860
9	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,00025	D	0,00250
10	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0,00025	D	0,00250
11	H ₃ BO ₃	0,00620	D	0,0620
12	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,02780	D	0,2780
13	Na ₃ EDTA	0,03730	D	0,3730
14	NiCl ₂ · 6H ₂ O	0,0003	D	0,0030
15	AlCl ₃	0,0005	D	0,0050
16	Inositol	0,100	Direc.	1,00

Nota. Anaya, citado por (Vilcarromero, 2016).

Métodos

Diseño del Experimento

Factores a Probar.

Tabla 3

Factores y niveles a evaluar

Factores	Niveles
Hormonas (A)	a1: Zeatina 0mg
	a2: Zeatina 1,5mg
	a3: Zeatina 3mg
	a4: Zeatina 4,5mg
pH (B)	b1: pH 4
	b2: pH 4,5
	b3: pH 5
	b4 pH 5,5
Fotoperiodo (C)	c1: 8 días
	c2: 15 días

Tratamientos a Probar.

Tabla 4

Descripción e identificación de tratamientos

Tratamientos	Descripción
T1	Zeatina 0mg/1 + WPM (pH 4) + Fotoperiodo 8 días
T2	Zeatina 0mg/1 + WPM (pH 4) + Fotoperiodo 15 días
T3	Zeatina 1,5mg/1+ WPM (pH 4) + Fotoperiodo 8 días
T4	Zeatina 1,5mg/1 + WPM (pH 4) + Fotoperiodo 15 días
T5	Zeatina 3mg/1 + WPM (pH 4) + Fotoperiodo 8 días
T6	Zeatina 3mg/1 + WPM (pH 4) + Fotoperiodo 15 días
T7	Zeatina 4,5mg/1 + WPM (pH 4) + Fotoperiodo 8 días
T8	Zeatina 4,5mg/1 + WPM (pH 4) + Fotoperiodo 15 días
T9	Zeatina 0mg/1 + WPM (pH 4,5) + Fotoperiodo 8 días
T10	Zeatina 0mg/1 + WPM (pH 4,5) + Fotoperiodo 15 días
T11	Zeatina 1,5mg/1+ WPM (pH 4,5) + Fotoperiodo 8 días
T12	Zeatina 1,5mg/1 + WPM (pH 4,5) Fotoperiodo 15 días
T13	Zeatina 3mg/1 + WPM (pH 4,5) + Fotoperiodo 8 días
T14	Zeatina 3mg/1 + WPM (pH 4,5) + Fotoperiodo 15 días
T15	Zeatina 4,5mg/1 + WPM (pH 4,5) + Fotoperiodo 8 días
T16	Zeatina 4,5mg/1 + WPM (pH 4,5)+ Fotoperiodo 15 días
T17	Zeatina 0mg/1 + WPM (pH 5) + Fotoperiodo 8 días
T18	Zeatina 0mg/1 + WPM (pH 5) + Fotoperiodo 15 días
T19	Zeatina 1,5mg/1+ WPM (pH 5) + Fotoperiodo 8 días
T20	Zeatina 1,5mg/1 + WPM (pH 5) + Fotoperiodo 15 días
T21	Zeatina 3mg/1 + WPM (pH 5) + Fotoperiodo 8 días
T22	Zeatina 3mg/1 + WPM (pH 5) + Fotoperiodo 15 días

T23	Zeatina 4,5mg/1 + WPM (pH 5) + Fotoperiodo 8 días
T24	Zeatina 4,5mg/1 + WPM (pH 5) + Fotoperiodo 15 días
T25	Zeatina 0mg/1 + WPM (pH 5,5) + Fotoperiodo 8 días
T26	Zeatina 0mg/1 + WPM (pH 5,5) + Fotoperiodo 15 días
T27	Zeatina 1,5mg/1+ WPM (pH 5,5) + Fotoperiodo 8 días
T28	Zeatina 1,5mg/1 + WPM (pH 5,5)+ Fotoperiodo 15 días
T29	Zeatina 3mg/1 + WPM (pH 5,5) + Fotoperiodo 8 días
T30	Zeatina 3mg/1 + WPM (pH 5,5) + Fotoperiodo 15 días
T31	Zeatina 4,5mg/1 + WPM (pH 5,5) + Fotoperiodo 8 días
T32	Zeatina 4,5mg/1 + WPM (pH 5,5)+ Fotoperiodo 15 días

Tipo de Diseño. Se utilizó un diseño DCA con treinta y dos tratamientos y cinco repeticiones cada uno.

El modelo es el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{iK} + (BC)_{jK} + (ABC)_{ij} + e_{ijkl}$$

Dónde:

Y_{ij} : Unidad experimental que recibe el i-ésimo tratamiento en la j-ésima repetición

μ : Efecto de la media general

A_i : Efecto de las hormonas

B_{ij} : Efecto del pH

C_{kij} : Es el efecto de la Temperatura

e_{ijkl} : Efecto del error experimental

Repeticiones. La investigación se realizó con treinta y dos tratamiento, cada tratamiento de la investigación conto con cinco repeticiones, teniendo un total de 160 unidades experimentales.

Características de las unidades experimentales

Parámetro	Cantidad
Número de tratamientos:	32
Número de repeticiones:	5
Número de unidades experimentales:	160
Número total de explante por UE:	4
Número total de explantes del ensayo:	640

Croquis del Ensayo.

Figura 2

Repartición de las unidades experimentales

OSCURIDAD 15 DÍAS				OSCURIDAD 8 DÍAS			
T18 R5	T2 R1	T26 R1	T32 R2	T13 R1	T7 R5	T29 R3	T3 R2
T22 R1	T14 R5	T22 R2	T16 R3	T31 R4	T17 R3	T11 R3	T27 R5
T28 R3	T32 R3	T32 R5	T20 R2	T27 R2	T5 R4	T1 R1	T17 R5
T14 R1	T14 R3	T22 R5	T24 R3	T9 R2	T3 R5	T29 R1	T21 R4
T30 R1	T24 R1	T8 R1	T4 R4	T9 R4	T25 R3	T3 R4	T5 R5
T12 R2	T18 R1	T8 R5	T18 R4	T15 R4	T1 R3	T23 R1	T17 R1
T6 R3	T16 R2	T16 R1	T20 R5	T7 R1	T13 R2	T1 R2	T23 R3
T26 R4	T26 R3	T14 R2	T28 R4	T23 R2	T17 R4	T3 R3	T27 R4
T2 R4	T6 R4	T24 R4	T30 R2	T1 R4	T5 R3	T29 R2	T29 R5
T10 R4	T2 R2	T8 R3	T2 R3	T5 R1	T21 R5	T1 R5	T5 R2
T4 R3	T20 R3	T10 R5	T4 R1	T11 R5	T17 R2	T31 R2	T9 R3
T10 R1	T20 R4	T12 R1	T8 R2	T13 R4	T19 R4	T7 R3	T15 R2
T26 R5	T28 R2	T32 R4	T14 R4	T19 R2	T21 R1	T13 R5	T23 R4
T6 R5	T16 R5	T4 R2	T18 R3	T3 R1	T25 R5	T19 R5	T25 R1
T22 R4	T30 R5	T6 R1	T22 R3	T15 R1	T11 R2	T27 R3	T7 R4
T32 R1	T8 R4	T18 R2	T6 R2	T13 R3	T19 R1	T7 R2	T19 R3
T4 R5	T2 R5	T20 R1	T24 R2	T15 R5	T27 R1	T23 R5	T31 R5
T10 R3	T30 R3	T24 R5	T12 R3	T31 R1	T15 R3	T25 R4	T25 R2
T26 R2	T12 R4	T28 R5	T28 R1	T31 R3	T21 R3	T11 R1	T9 R5
T30 R4	T12 R5	T10 R2	T16 R4	T21 R2	T9 R1	T29 R4	T11 R4

Análisis Estadístico.**Tabla 5***Fuentes de varianza*

Fuentes de variación	Grados de libertad
Hormonas	3
pH	3
Fotoperiodo	1
Hormonas x pH	9
Hormonas x Fotoperiodo	3
pH x Fotoperiodo	3
Hormonas x pH x Fotoperiodo	9
Error experimental	124
Replicas	4
Total	159

Coeficiente de variación

$$CV = \frac{\sqrt{CMe}}{\bar{x}}$$

Donde:

 CV = Coeficiente de variación \sqrt{CMe} = Cuadrado medio del error \bar{x} = Media general del experimento

Análisis funcional. Los métodos se evaluaron mediante un análisis de varianza (ADEVA) utilizando la prueba de Tukey al 5% para medias significativas.

Variables a medir

Contaminación. Se evaluaron desde los cinco días hasta los quince días el porcentaje de yemas contaminadas, debido a la presencia de algún organismo patógeno luego de haber realizado la desinfección del material vegetal y siembra de los explantes, en los cuales se determinan e identifican la presencia de hongos y bacterias.






Número de hojas. Se contaron las hojas de cada plántula cada cuatro días durante la fase de elongación para todos los tratamientos.

Altura de brote (mm). Con una hoja milimetrada se tomaron la altura de los brotes a partir del explante madre se midieron hasta el ápice, estas mediciones se las realizaron cada cuatro días hasta los treinta y tres días.

Color de brotes. Mediante la tabla de Munsell (circulo cromático) se determinó el color de los brotes con los códigos:

Tabla 6

Tabla de munsell (circulo cromático)

				
Amarillo Transparente	Verde Amarillento	Verde claro	Verde	Verde oscuro
G60Y	G50Y	G40Y	G30Y	G20Y

Nota. La tabla se le realizo específicamente para ver la coloración de los brotes de la investigación para ver la diferencia de los días de oscuridad que permanecieron las plántulas.

Métodos Específicos de preparación del ensayo

Las actividades que se realizaron en la investigación que se elaboró en este proyecto se llevaron a cabo en el laboratorio de biotecnología vegetal en la Universidad de las Fuerzas Armadas Sede Santo Domingo.

Esterilización de frascos. Se utilizaron frascos de vidrio la fase de elongación de los explantes, donde se aplicó una solución de hipoclorito de sodio al 0.01% en un tiempo de 24 horas teniendo una desinfección de calidad, luego se procedió a lavar muy bien con detergente tomando en cuenta los enjuagues con bastante agua para que no quedaran residuos de detergente en los frascos este proceso de enjuague se lo realizo tres veces y el enjuague con agua destilada se lo llevo a cabo cuatro veces.

Esterilización de materiales. Para el corte del material vegetal seleccionado se utilizaron pinzas, mangos de bisturí, cajas petri, frascos de vidrio, para la disección de segmentos del material, se los colocaron en la autoclave y se dejaron por 35 minutos a 1kg/cm² con 121°C.

Esterilización de cámara de flujo laminar. Se llevó a cabo utilizando sablón esparciendo con un pulverizador en toda la cama de flujo, luego se procedió a limpiar con una toalla toda el área pulverizada hasta dejarla completamente seco la cámara de flujo para luego proceder a pulverizar alcohol al 70% y con una toalla se limpió toda la superficie de la cámara de flujo laminar para que tenga una completa asepsia del área de siembra de los explantes, luego se dejó secar hasta que esté completamente seca el área previa a la siembra del material vegetal.

Preparación de los micros y macros nutrientes para la solución stock.

La solución stock se la preparo mediante el protocolo de Anaya citado por (Vilcarronero, 2016), en la (tabla 2) el cual este stock es modificado para medios de cultivo WPM (Woody Plant Medio), se pesaron los macronutrientes y micronutrientes en una balanza analítica según el orden establecido y se disolverá en agua destilada según el protocolo stock A, B, C y se lo guardará en refrigeración hasta que se prepare el medio de cultivo.

Preparación del medio de cultivo. Se usó un matraz de 1000 ml con agua previamente destilada en el cual se agregaron 5 g/1000 ml de medio WPM, luego se agregó 30g de sacarosa en los 1000ml de agua destilada se removió y se obtuvo una mezcla homogénea de la solución, el pH y el regulador de crecimiento se ajustaron según los tratamientos que se expresa en la (tabla 3), midiendo con un pHmetro y dependiendo esto se añadió NaOH para elevar el pH y para disminuir el pH se uso HCl, a continuación de este proceso se calentó la solución hasta que quedo homogénea, en los frascos se colocaron 20ml de la solución luego se llevaron los frascos de vidrio al autoclave en el cual estarán por 20 minutos a 121°C.

Selección del material vegetativo. Los materiales vegetativos que se utilizaron en el ensayo realizado fueron de tres partes distintas del país el primer material vegetativo que se utilizo fue de la zona de Santo Domingo de los Tsachilas plantas adaptadas al ambiente las cuales en el laboratorio presentaron una contaminación elevada por lo cual se buscaron plantas de vivero de Machala las cuales a pesar de ser de vivero presentaron el mismo porcentaje de contaminación que las plantas de Santo Domingo un 100% de contaminación hasta el quinto día después de haber realizado la siembra. Las plantas que se presentaron un 15% de contaminación fueron plantas de viveros de la región Sierra de Guayabamaba siendo las que presentaron menor contaminación en la multiplicación in vitro.

Desinfección del material vegetativo. Se seleccionaron tallos herbáceos de plantas madre previamente tratadas con buena fertilización y control de enfermedades, el material vegetal recolectado se le eliminaron las hojas y se realizaron cortes en los que solo se tenga una yema axilar para la siembra, primero se colocaron estos explantes en una solución de fungicidas para lo cual se utilizaron vitavax 1,5 ml por litro y phython 0,60 ml por litro de agua en el cual se dejaron 10 minutos se procedieron a enjuagar con agua estéril para luego ponerlas en agua totalmente estéril que este constantemente corriendo durante 35 minutos, seguido se los trasladaron a la cámara de flujo laminar en el cual están los explantes en alcohol al 70% agitándolos durante 1 minuto, luego se realizó una inmersión de NaOCl al 3% y una gota de tween agitando durante 12 min teniendo la coloración para evitar que terminen quemadas las yemas y para finalizar se realizaron cuatro enjuagues seguidos con agua destilada estéril durante dos minutos cada enjuague.

Siembra del material vegetal. Antes de la siembra se desinfectaron los materiales una vez más encendiendo un mechero sumergiendo la hoja de bisturí en alcohol y luego pasándolo por el mechero para que este se desinfecte se esperó a que se consumiera el fuego presente y se enfriara la pinza y la hoja de bisturí.

Se cortaron el material vegetal en segmentos que tengan una yema axilar y se procedió a realizar la siembra para esto una vez más la pinza la sumergió en alcohol y se la paso por la flama se esperó hasta que se consuma y se enfrié, luego se procedió a tomar el explante y cerca del mechero con la mano izquierda, tomar el frasco de vidrio y con la mano derecha se colocaron cuidadosamente los explantes asegurándose que estuvieran introducidos en el medio de cultivo WPM.

Capítulo IV

Resultados

Análisis descriptivo de las variables evaluadas en la reproducción in vitro del (Vaccinium corymbosum L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo

Análisis de Varianza para Altura (mm) inicial y final

Tabla 7

Análisis de varianza de la altura (mm) inicial del brote.

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
A:Zeatina	0,295104	3	0,0983681	1,68	0,1743
B:Ph	0,633665	3	0,211222	3,61	0,0152
C:Fotoperiodo	0,786101	1	0,786101	13,44	0,0004
A*B	1,20323	9	0,133692	2,29	0,0208
A*C	0,069448	3	0,0231493	0,40	0,7562
B*C	0,116072	3	0,0386906	0,66	0,5772
A*B*C	0,537196	9	0,0596885	1,02	0,4273
Error experimental	7,25109	124	0,0584765		
TOTAL	11,1629	159			

En la tabla 7 del análisis de varianza de la altura (mm) en la primera toma de datos se aprecia que el factor A (Zeatina) no presenta significancia mientras que el factor B (pH) y factor C (Fotoperiodo) si presentaron una diferencia significativa indicando que entre cada nivel del factor existe diferencia mientras que en la interacción A*B también presenta diferencia significativa y en las otras interacciones no se encontró diferencia significativa.

Tabla 8

Análisis de varianza de altura (mm) final del brote.

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
A:Zeatina	896,507	3	298,836	9,67	0,0000
B:Ph	634,499	3	211,5	6,84	0,0003
C:Fotoperiodo	5,43906	1	5,43906	0,18	0,6756
AB	562,78	9	62,5311	2,02	0,0421
AC	203,63	3	67,8767	2,20	0,0920
BC	18,5782	3	6,19273	0,20	0,8960
ABC	335,768	9	37,3075	1,21	0,2968
Error experimental	3833,95	124	30,9189		
TOTAL	6532,34	159			

En la tabla 8 del análisis de varianza de altura en su última toma de datos se aprecia que el factor A (Zeatina), el factor B (pH) y la interacción entre estos dos factores presentaron una diferencia significativa mientras que el factor C (Fotoperiodo) con las interacciones A*C, B*C y A*B*C no presentaron una diferencia significativa de tal manera que el pH como la zeatina influyen en la altura de las plantas de arándano.

Análisis de varianza de contaminación en la multiplicación in vitro

Tabla 9

Análisis de varianza de contaminación en la reproducción in vitro

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
A:Zeatina	1,16875	3	0,389583	2,91	0,0370
B:Ph	0,06875	3	0,0229167	0,17	0,9155
C:Fotoperiodo	0,30625	1	0,30625	2,29	0,1327
AB	1,15625	9	0,128472	0,96	0,4755
AC	0,26875	3	0,0895833	0,67	0,5719
BC	0,06875	3	0,0229167	0,17	0,9155
ABC	0,85625	9	0,0951389	0,71	0,6973
Error experimental	16,575	124	0,133669		
TOTAL	21,0938	159			

En la tabla 9 se observa que la variable contaminación presenta diferencia significativa entre los niveles del factor (A) concentraciones de zeatina con un valor de P 0,0370. Mientras que en los factores B y C junto con las interacciones no presentan ninguna diferencia significativa.

Análisis de varianza de número de hojas.

Tabla 10

Análisis de varianza de número de hojas final en los brotes de arándano

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
A:Zeatina	33,873	3	11,291	7,89	0,0001
B:Ph	21,6105	3	7,20352	5,04	0,0025
C:Fotoperiodo	0,284766	1	0,284766	0,20	0,6562
A*B	18,9629	9	2,10699	1,47	0,1650
A*C	4,97305	3	1,65768	1,16	0,3282

B*C	0,491797	3	0,163932	0,11	0,9514
A*B*C	11,3566	9	1,26185	0,88	0,5431
Error experimental	177,352	124	1,43025		
TOTAL	271,778	159			

En la tabla 10 se representa que no se presenta diferencia significativa en las interacciones pero si en las factores que se evalúan presentando que entre concentraciones de Zeatina y los diferentes pH si presentan diferencia con respecto al número de hojas.

Análisis de Varianza del color del brote

Tabla 11

Análisis de varianza del color del brote

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
A:Zeatina	2,1375	3	0,7125	0,80	0,4943
B:pH	1,6875	3	0,5625	0,63	0,5943
C:Fotoperiodo	144,4	1	144,4	162,81	0,0000
D:Replicas	4,02188	4	1,00547	1,13	0,3438
A*B	9,025	9	1,00278	1,13	0,3463
A*C	1,8375	3	0,6125	0,69	0,5595
B*C	1,7875	3	0,595833	0,67	0,5709
A*B*C	9,725	9	1,08056	1,22	0,2897
Error experimental	109,978	124	0,88692		
TOTAL	284,6	159			

En la tabla 11 del análisis de varianza del color de brote del explante arándano de la toma de datos media nos indica que en el factor C (Fotoperiodo) existe diferencia significativa, mientras que para los factores A (Zeatina), B (pH) e interacciones A*B , A*C, B*C, A*B*C no mostraron diferencia significativa, para el caso de las repeticiones al no existir diferencia significativa se asume que existe normalidad en los datos tomados así que es confiable el análisis estadístico.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) en la reproducción in vitro del (*Vaccinium corymbosum* L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo Factor A (Zeatina)

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de la altura (mm) final.

Tabla 12

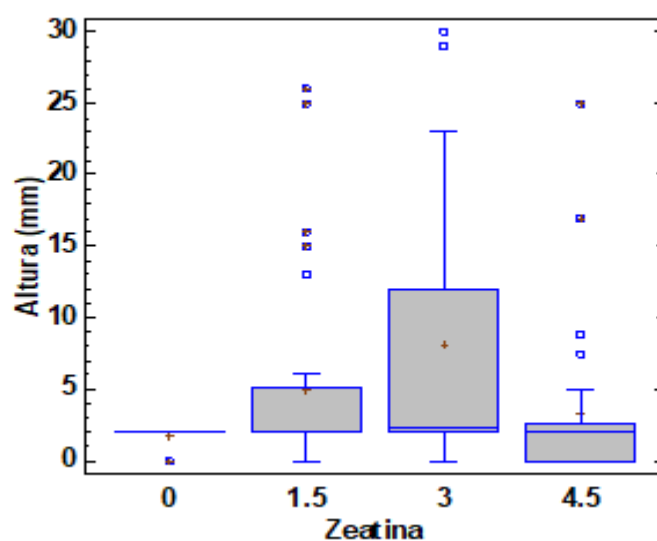
Prueba de significación de la altura (mm) final.

Zeatina	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	40	1,75	0,954316	A
4.5	40	3,25	0,954316	A
1.5	40	4,95	0,954316	AB
3	40	8,1175	0,954316	B

En la tabla 12 se observa la prueba de tukey con 95% de confiabilidad donde la concentración de zeatina de 3 mg/L tiene una diferencia significativa respecto al resto de concentraciones de zeatina teniendo 8,1175 mm de altura media, al resto siendo los otros un grupo homogéneo respecto a la altura .

Figura 3

Altura (mm) final en distintas concentraciones de zeatina.



En la figura 3 se observa que la concentración de zeatina de 3 mg/L tiene

una media de altura de 8,11 mm mientras que la concentración de 1,5 mg/L presento una altura de 4,95 mm como media las concentraciones de 0 mg/L obtuvo una altura de 1,75 mm y la concentración de 4,5 mg/L alcanzo una altura de 3,25 mm. De tal manera las concentraciones de 0 - 1,5 - 4,5 mg/L son iguales estadísticamente y diferentes a la concentración de 3 mg/L siendo esta concentración que presenta mejor desarrollo en longitud de los brotes de arándano.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de número de hojas

Tabla 13

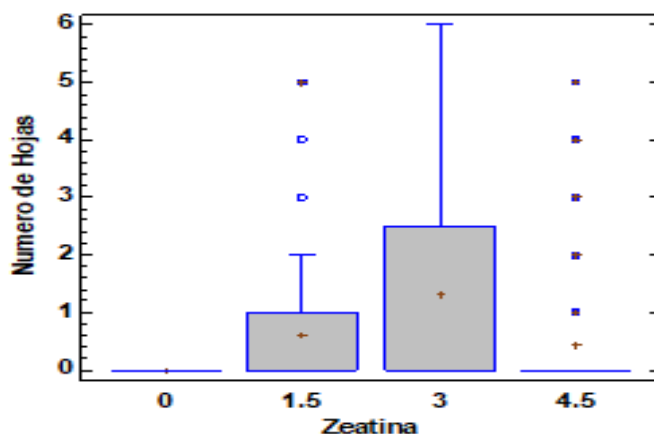
Prueba de significación del número de hojas del factor zeatina

Zeatina	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	40	0	0,189094	A
4.5	40	0,4125	0,189094	A
1.5	40	0,54375	0,189094	A
3	40	1,275	0,189094	B

En la tabla 13 prueba de significancia de Tukey al 95% de confiabilidad se presenta que el tratamiento con una concentración de Zeatina de 3 mg/L muestra que se tiene una media de 1 hoja mientras que las concentraciones de 0- 1,5 - 4,5 mg/L son iguales presentando una media de cero números de hojas.

Figura 4

Número de hojas en distintas concentraciones de zeatina.



En la figura 4 se observa que la concentración de zeatina de 3 mg/L presento

una media de número de hojas de uno mientras que las otras concentraciones la media está por debajo del cero presentando la concentración de 3 mg/L un límite superior de seis hojas, la concentración de 1,5 mg/L presenta su límite superior de dos hojas por planta con una media de 0,54 hojas.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de contaminación

Tabla 14

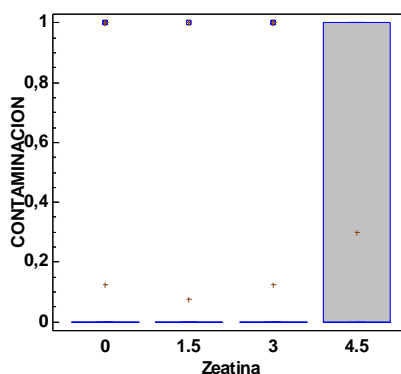
Prueba de significación de contaminación con distintas concentraciones de zeatina

Zeatina	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1.5	40	0,075	0,0578077	A
3	40	0,125	0,0578077	AB
0	40	0,125	0,0578077	AB
4.5	40	0,3	0,0578077	B

En la tabla 14 se observa que la contaminación que presentaron los medios de cultivos en la multiplicación in vitro del arándano presenta significancia según la concentración de zeatina siendo estos que con una concentración de zeatina de 4,5 mg/L presento una media de contaminación de 0,3 mientras la concentración de 1,5 mg/L la contaminación que presentaron es baja con una media de 0,075 y las otras concentraciones no presentan diferencias.

Figura 5

Contaminación en la multiplicación in vitro con distintas concentraciones de zeatina



En la figura 5 muestra que con la concentración de zeatina de 4,5 mg/L presento una

contaminación como límite superior de uno, teniendo una media de 0,3 frascos presentando que las otras concentraciones de zeatina presentaron una media inferior de tal manera la contaminación presente en el ensayo realizado fue mínima pudiendo realizar este mismo sin ningún inconveniente.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) en la reproducción in vitro del (*Vaccinium corymbosum* L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo Factor B (pH)

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de la altura (mm) inicial.

Tabla 15

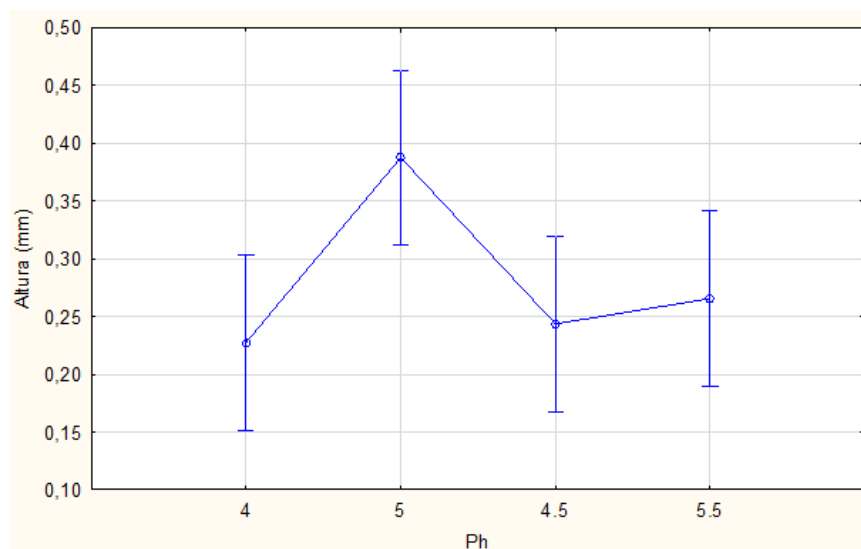
Prueba de significación de altura (mm) inicial del brote.

pH	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
4	40	0,2275	0,038235	A
4.5	40	0,243625	0,038235	A
5.5	40	0,2655	0,038235	AB
5	40	0,3875	0,038235	B

En la tabla se presenta una diferencia significativa en la altura con los distintos pH en las cuales el pH de 5 presento una mayor altura en la primera semana de crecimiento con una media de 0,387 mm para lo cual los pH de 4 - 4,5 - 5,5 presentaron alturas de 0,22 a 0,26 siendo iguales estadísticamente y diferentes con la altura del pH de cinco.

Figura 6

Altura (mm) inicial del brote del factor pH.



En la figura 4 se observa resultado de la variable altura en el cual presenta diferencia significativa en el Factor B (pH) en la cual se detalla que el pH de 5 presento una altura mayor en la toma inicial llegando a una altura de 0,387 mm en promedio del total de brotes.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de la altura (mm) final.

Tabla 16

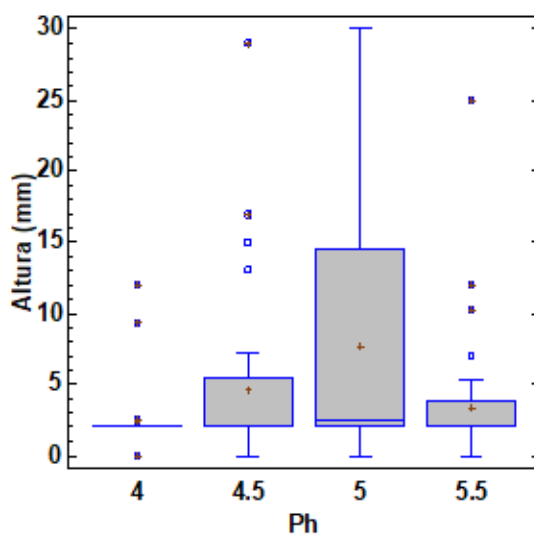
Prueba de significación de la altura (mm) final del brote.

pH	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
4	40	2,36	0,954316	A
5.5	40	3,3975	0,954316	A
4.5	40	4,64	0,954316	AB
5	40	7,67	0,954316	B

En la tabla 16 se observa la prueba de tukey con 95% de confiabilidad donde el medio de cultivo con un pH de 5 tiene una diferencia significativa respecto al resto, mostrando una longitud media de 7,67 mm mientras la que presento menor altura fue con un pH de 4 teniendo una altura media de 2,36 mm.

Figura 7

Altura (mm) final del brote de arándano.



En la figura 7 se observa que la altura con pH de 5 presento una media de 7,67 mm. Con el pH de 4 la altura media es de 4,64 mm siendo iguales estadísticamente estos niveles de pH son iguales teniendo diferencia significativa con los niveles de pH de 4 y 5,5 siendo estos iguales con respecto a la altura del brote.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de número de hojas.

Tabla 17

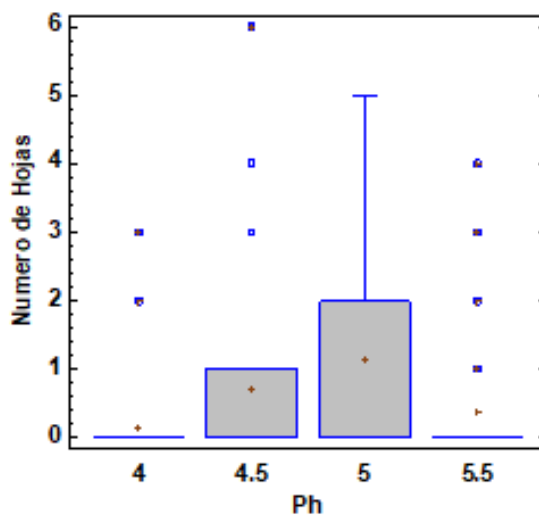
Prueba de significación del número de hojas

pH	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
5	40	1,11	0,189094	A
4.5	40	0,64	0,189094	AB
5.5	40	0,34	0,189094	B
4	40	0,14	0,189094	B

En la prueba de significancia de Tukey al 95% de confiabilidad se presenta que el tratamiento con una concentración de un pH de 5 es diferente al de 5,5 y de 4 mientras que el pH de 4,5 es igual al resto de pH con respecto al número de hojas.

Figura 8

Número de hojas con relación al factor pH.



En la figura 9 se observa que el número de hojas con el pH de 5 muestra una media de 1,11 hojas también muestra una diferencia significativa con un límite superior de 5 hojas a comparación de los otros pH teniendo en cuenta que los pH de 4 y 5,5 son iguales estadísticamente ya que la media de estos es inferior a uno.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) en la reproducción in vitro del (*Vaccinium corymbosum* L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo Factor C (Fotoperiodo)

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) de la altura (mm) inicial.

Tabla 18

Prueba de significación de la altura (mm) inicial del brote.

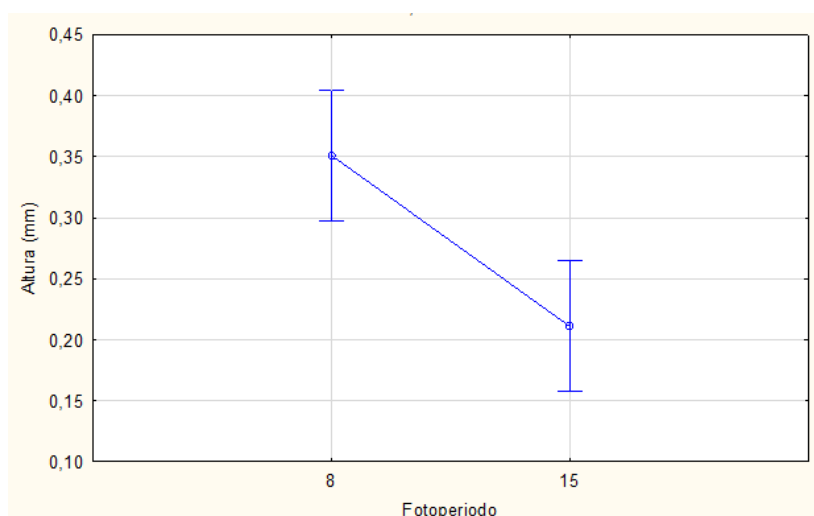
Fotoperiodo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
15	80	0,210937	0,0270362	A
8	80	0,351125	0,0270362	B

En la tabla 8 se presenta la prueba de Tukey con un 95% de confiabilidad

que el fotoperiodo influyo en la altura en la primera semana de crecimiento en los brotes en la cual representa que con un fotoperiodo de 8 días en oscuridad presento una altura media de 0,35 mm mientras que con el fotoperiodo de 15 días en oscuridad absoluta presento una altura de 0,21 mm presentando diferencia significativa.

Figura 9

Altura (mm) inicial del brote con distintos fotoperiodos.



En la figura 9 se observa que la variable altura en la primera semana presento una diferencia entre los dos niveles del Factor C (Fotoperiodo) en el cual el fotoperiodo de 8 días presento una altura promedio de 0,35 mm a diferencia del fotoperiodo de 15 días el cual la media es de 0,21 mm en la variable altura.

Prueba de significación (Tukey HDS $p < 0,05$) de color del brote

Tabla 19

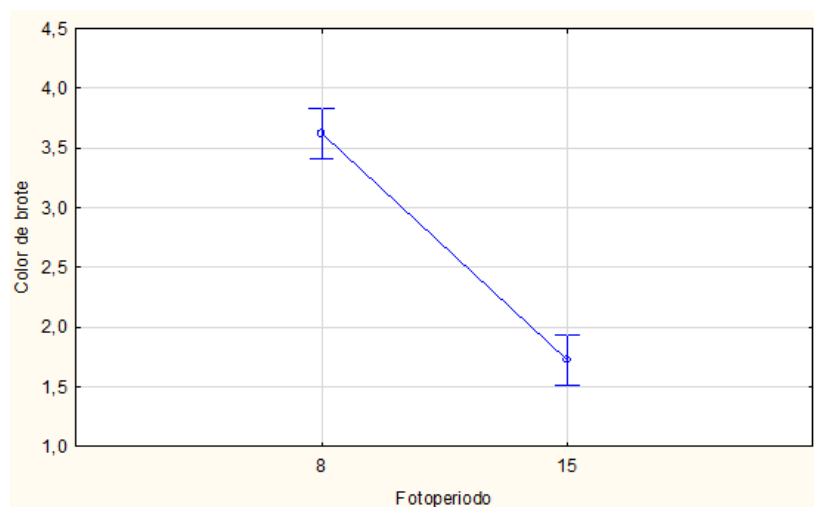
Prueba de significación del color del brote del factor fotoperiodo

Fotoperiodo	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
15	80	1,725	0,105292	A
8	80	3,625	0,105292	B

En la tabla 19 se observa que el fotoperiodo de 15 días de oscuridad presento una color de 1 el cual es un código el cual representa un color verde claro mientras que el fotoperiodo de 8 días de oscuridad presento un 3,62 representando a un color verde evidenciando que si existe diferencia estadística entre los dos niveles del factor C (Fotoperiodo).

Figura 10

Color de brote respecto al fotoperiodo



En la figura 10 se observa que en el factor C (Fotoperiodo) de 8 días en oscuridad los explantes tienen un promedio de color de brote de 3,625 perteneciendo al código G30Y color de brote (Verde) mientras que el fotoperiodo de 15 días con un promedio de 1,725 perteneciendo al código G40Y color de brote (Verde claro) mostrando una diferencia significativa entre los días de fotoperiodo para la toma de datos media.

Prueba de significación (Tukey $p < 0,05$) en la reproducción in vitro del (*Vaccinium corymbosum* L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo. Interacción del factor A*B (Zeatina*pH)

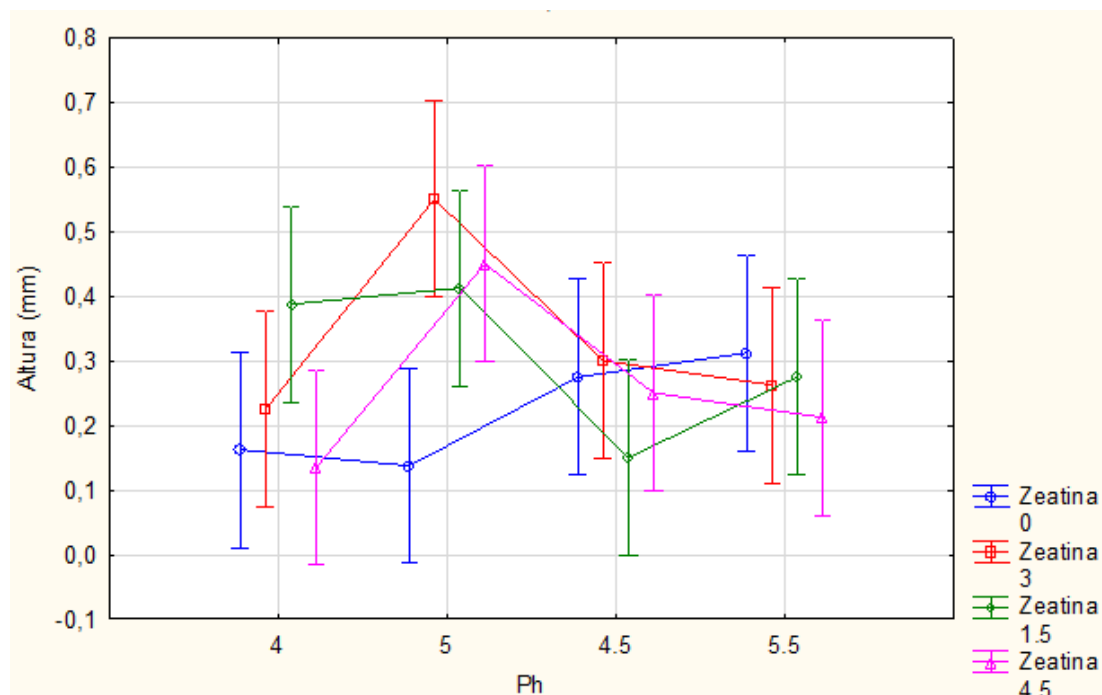
Tabla 20*Prueba de significación de altura (mm) inicial entre la interacción del factor A*B*

Zeatina	pH	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	5	10	0,55	0,08	A
4.5	5	10	0,45	0,08	A B
1.5	5	10	0,41	0,08	A B
1.5	4	10	0,39	0,08	A B
0	5.5	10	0,31	0,08	A B
3	4.5	10	0,30	0,08	A B
1.5	5.5	10	0,28	0,08	A B
0	4.5	10	0,27	0,08	A B
3	5.5	10	0,26	0,08	A B
4.5	4.5	10	0,25	0,08	A B
3	4	10	0,23	0,08	A B
4.5	5.5	10	0,21	0,08	A B
0	4	10	0,16	0,08	B
1.5	4.5	10	0,15	0,08	B
0	5	10	0,14	0,08	B
4.5	4	10	0,14	0,08	B

En la tabla 20 se observa que la concentración de zeatina de 3 mg/L y el nivel de pH 5 presentan una altura media de 0,55 mm en la primera semana, la concentración de 0 mg/L con pH de 4 presenta una media de altura de 0,16 mm presentando diferencia significativa entre las distintas concentraciones y niveles de pH.

Figura 11

Altura (mm) inicial del brote interacción entre el factor zeatina* pH.



En la figura entre la interacción del factor A*B (Zeatina)*(pH) observa una diferencia significativa en la variable altura en la cual se interpreta que con un pH de 5 y concentración de Zeatina de 3mg/l representan una mayor altura teniendo una altura de 0,55 milímetros mientras que las otras concentraciones y niveles de pH presentan un grupo homogéneo.

Tabla 21

Prueba de significación de altura (mm) final entre la interacción del factor A*B

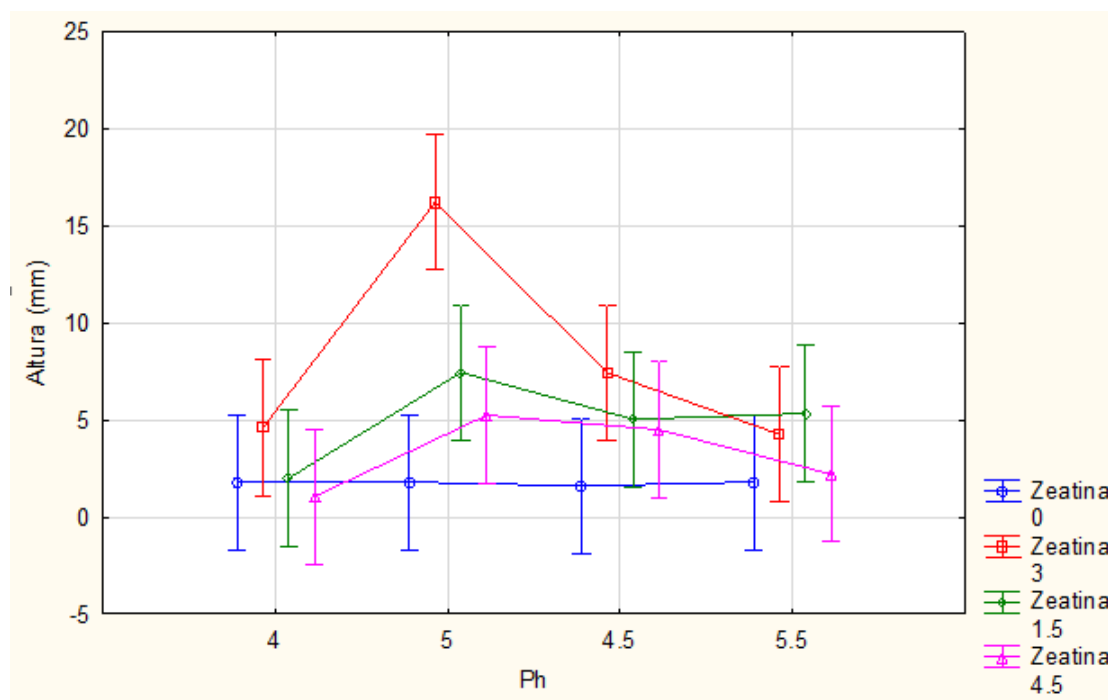
Zeatina	pH	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	5	10	16,20	1,74	A
1.5	5	10	7,44	1,74	B
3	4.5	10	7,43	1,74	B
1.5	5.5	10	5,33	1,74	B
4.5	5	10	5,24	1,74	B
1.5	4.5	10	5,03	1,74	B
3	4	10	4,59	1,74	B

4.5	4.5	10	4,50	1,74	B
3	5.5	10	4,25	1,74	B
4.5	5.5	10	2,21	1,74	B
1.5	4	10	2,00	1,74	B
0	5.5	10	1,80	1,74	B
0	4	10	1,80	1,74	B
0	5	10	1,80	1,74	B
0	4.5	10	1,60	1,74	B
4.5	4	10	1,05	1,74	B

En la tabla 21 se observa que existe una diferencia significativa entre los factores AxB (Zeatina, pH) respectivamente donde una concentración de 3mg/l de zeatina y un nivel de pH de 5 la media fue de 16,20 mm siendo diferente estadísticamente del resto de concentraciones de zeatina y niveles de pH.

Figura 12

*Altura (mm) final de los brotes de arándano con interacción entre los factores A*B*



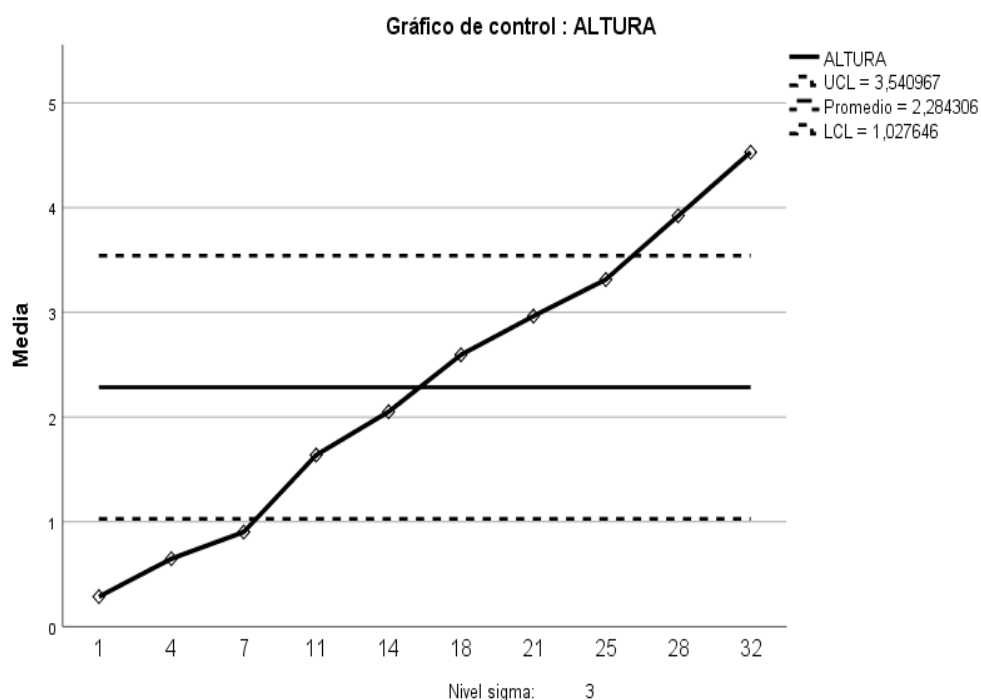
En la figura 12 se representa la altura alcanzada con los tratamientos de pH de 5 y una concentración de Zeatina de 3 mg/L en la cual tiene una mayor altura comparada con los otros tratamientos teniendo una altura media de 16,20 mm mientras se observa que el pH de 4 y sin concentración de Zeatina no presenta una

altura superior a los 3 mm de altura y el pH de 5 con la concentración de 1,5 mg/L presenta una altura de 7 mm.

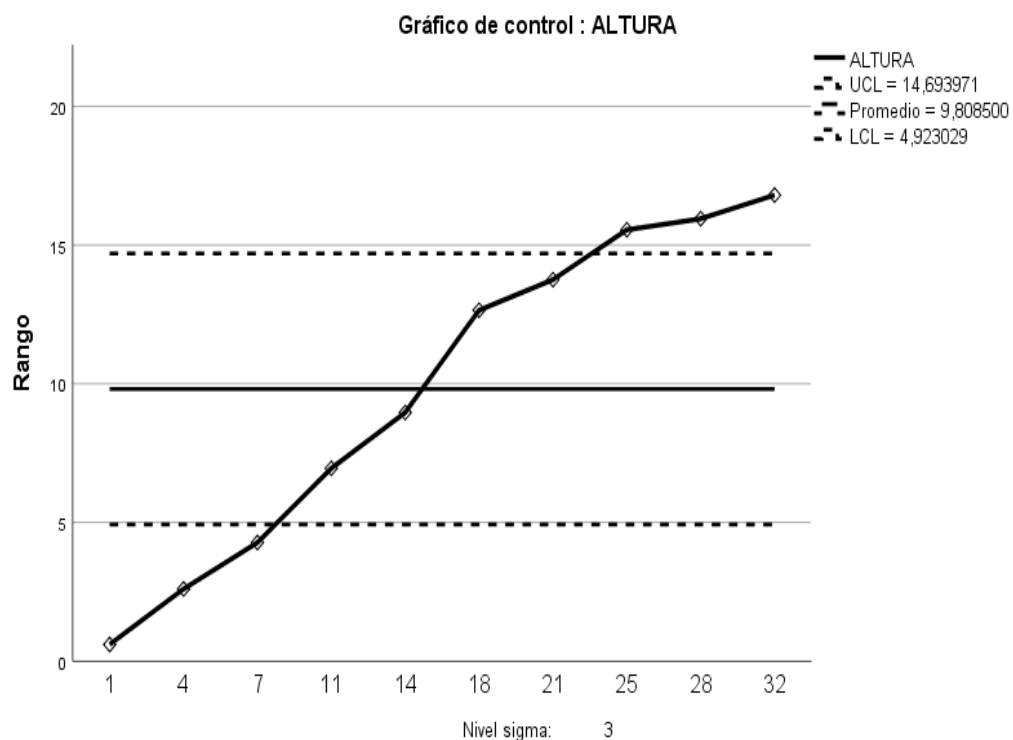
Control de las variables en la reproducción in vitro del (*Vaccinium corymbosum* L.) Variedad. biloxy, arándano considerando distintos medios de cultivo.

Figura 13

Control de altura según la media



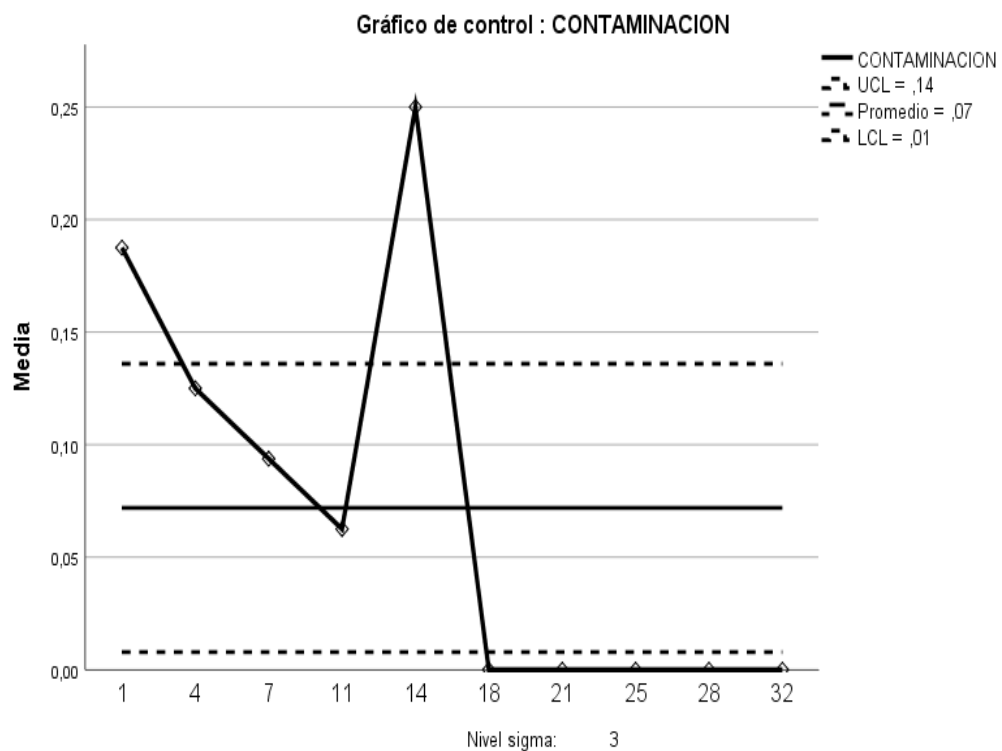
En la figura 13 se demuestra el control en altura donde existe un crecimiento lineal con las medias de altura de los brotes de los explantes, teniendo así la primera toma de datos siendo el día uno con un promedio de 0,25 mm del total de tratamientos, luego en la toma media a los 18 días se tuvo un promedio de medias de 2,59 mm de los brotes de los explantes y para la toma final de datos siendo el día 32 con un promedio de 4,53 mm de altura de medias de todos los tratamientos.

Figura 14*Control de altura con el rango*

En la figura 14 se puede observar los resultados de altura según los días que duró el ensayo, en el primer día de toma de datos el rango fue de 0,68 mm perteneciendo al tratamiento T21, luego para la toma media a los 18 días del ensayo el rango o mejor altura de todos los tratamientos fue de 13,05 mm de altura donde el mejor tratamiento fue el T21 (Zeatina 3mg/l +WPM (pH) +Fotoperiodo 8 Días, para la toma final a los 32 días el rango fue de 17,60 mm la mejor altura siendo del T21 la misma que la mencionada anteriormente de la toma media de los 18 días

Figura 15

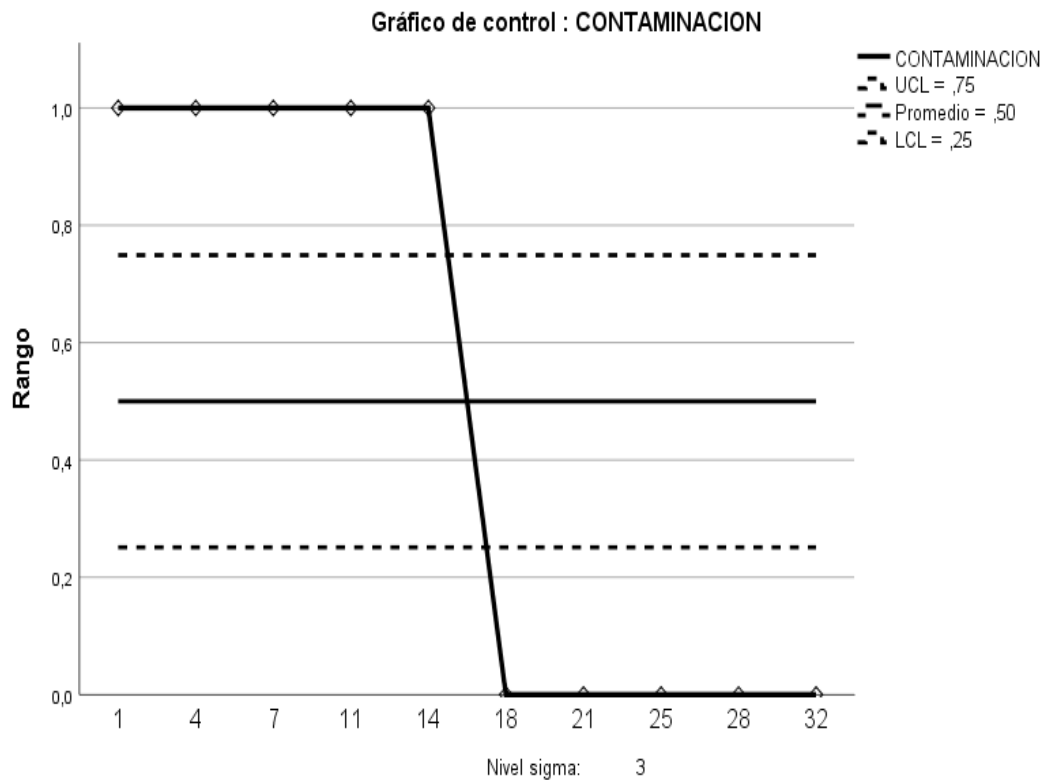
Control de contaminación según la media



En la figura 15 de control de contaminación se puede ver que la contaminación se presentó desde la toma inicial de datos teniendo una disminución hasta el día 11 pero del este día hasta el 14 se tuvo un incremento lineal con 6 medios de cultivo contaminados a partir del día 18 ya no existió ninguna contaminación de los medios de cultivo

Figura 16

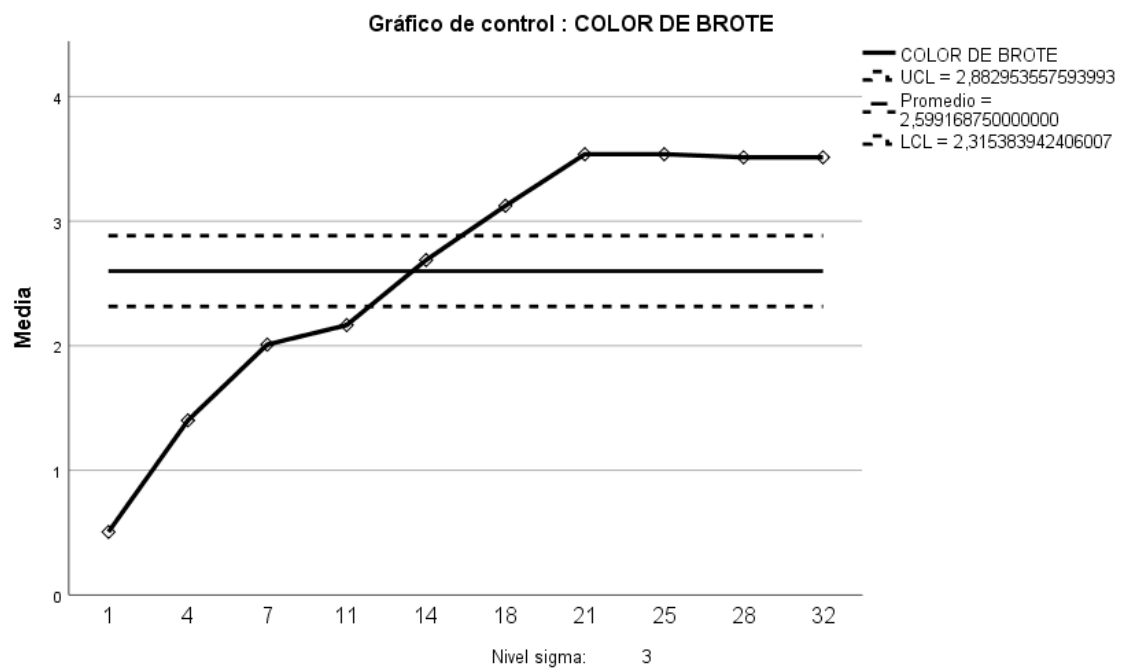
Control de contaminación con el rango.



En la figura 16 se demuestra como la contaminación es lineal desde el día 1 hasta el día 14 esto quiere decir que todos los días mencionados del 1 al 14 existió contaminación alguna de los medios de cultivo, a partir del día 18 en adelante hasta la toma final que fue el día 32 no se presentó algún otro medio contaminado.

Figura 17

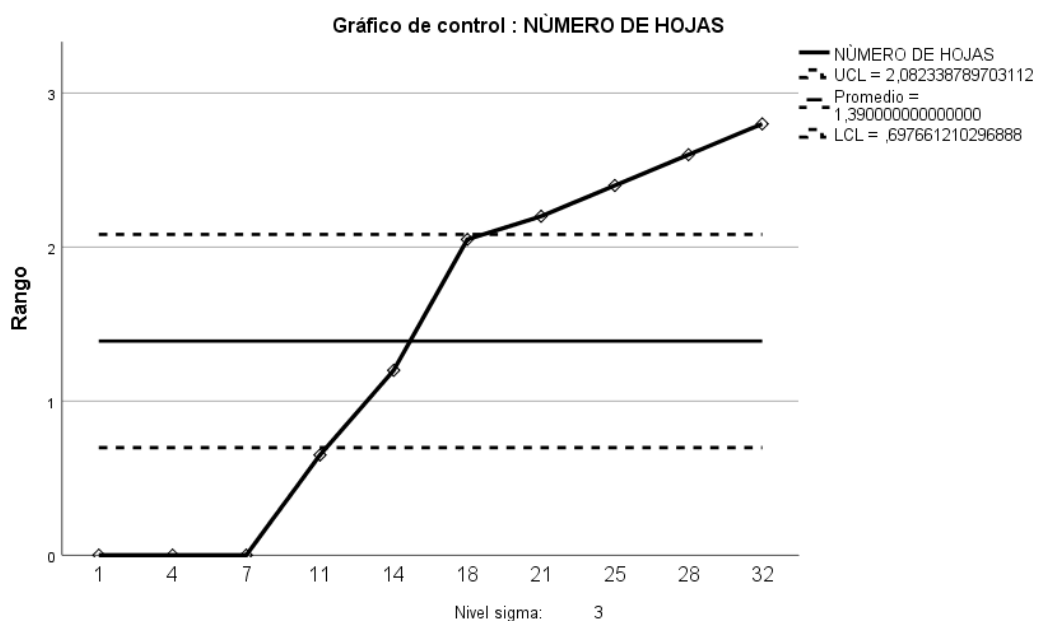
Control de color de brote según el rango



En la figura 17 se observa como el cambio de color de brote es exponencial con un promedio de todos los tratamientos de 0,51 siendo un color verde Amarillento (GY50) para la toma inicial, luego la toma media o a los 18 días se tuvo un promedio de 3,1 perteneciendo a un color verde (GY30), y para la toma de datos final o los 32 días el promedio fue de 3,51 acercándose claramente al color Verde oscuro (GY20) siendo este el color final que se tubo de todos los brotes.

Figura 18

Control de Número de hojas con el rango.



En la figura 18 se puede ver como del día uno al siete no hubo crecimiento de hojas, pero desde el día 11 al 32 el crecimiento fue lineal en donde el día 18 el rango fue de 2,05 hojas siendo del T21 y en el día 32 el mayor número de hojas lo presentó el T22 con 2,80 hojas en promedio del tratamiento.

Tabla 22

Matriz de correlaciones de las variables evaluadas.

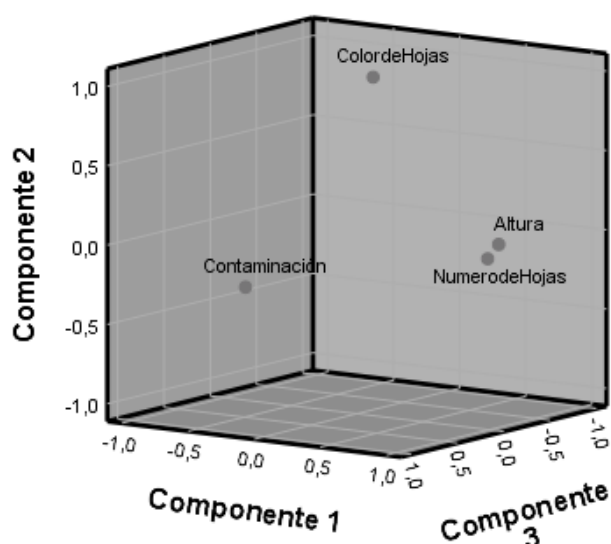
		Altura	Número de Hojas	Contaminación	Color de Hojas
Correlación	Altura	1,000	,922	-,303	,053
	Número de Hojas	,922	1,000	-,169	-,037
	Contaminación	-,303	-,169	1,000	-,362
	Color de Hojas	,053	-,037	-,362	1,000
Sig. (unilateral)	Altura		,000	,046	,387
	Número de Hojas		,000	,177	,420
	Contaminación		,046	,177	,021
	Color de Hojas		,387	,420	,021

a. Determinante = ,105

En la tabla 22 se demuestra la matriz de correlaciones donde existe entre Número de hojas y Altura una correlación con 0,922 esto quiere decir que mientras más cercano a uno existe una correlación entre estas variables, donde claramente se puede analizar que los brotes mientras más altura tuvieron mayor número de hojas presentaron estos, un claro ejemplo es el de los tratamientos T21 Y T22 donde el número de hojas de estos fue de 2,65 y 2,80 respectivamente evidenciando una correlación.

Figura 19

Componente en espacio rotado de las variables evaluadas.



En la figura 19 se demuestra en cada componente las variables, donde el componente 3 adjunta las correlaciones entre Altura y Número de hojas esto quiere decir que a mayor altura de los brotes de los explantes esta correlacionado directamente al mayor número de hojas de los brotes y para las variables color de hojas y contaminación se observa un distanciamiento entre los componentes donde no existe una correlación dentro del espacio rotado.

Capítulo V

Discusión

Con respecto al factor A (Zeatina)

(Arista Bustamante, 2019) En el ensayo realizado presenta que el número de hojas también está relacionado directamente con las concentraciones de zeatina de tal manera que los tratamientos que presentaron una concentración en el medio de cultivo de 4 mg/L de zeatina tienen un promedio de número de hojas de tres a dos hojas por planta. En la figura se observa que la concentración de zeatina de 3 mg/L tiende a tener un promedio de número de hojas de una a dos por explante de tal manera concuerda con el ensayo realizado de Arista Bustamante, 2019 con las concentraciones de zeatina, de tal manera que donde la concentración de zeatina es de 0 mg/L el número de hojas es de cero.

Con respecto a la variable altura la concentración que obtuvo mejor resultado en longitud fue la de 3 mg/L teniendo una media de altura de 8,12 mm cómo y con las concentraciones de 0 mg/L de zeatina presento una media de altura de 1,75 mm con la mayor concentración de zeatina la cual fue de 4,5 mg/L presento la altura media de 3,25 mm reflejando que la concentración de zeatina adecuada para un crecimiento optimo y la planta aproveche la hormona es de 3 mg/L. (Lerma Bocanegra, García, Niño Fandiño, & Díaz Escobar, 2019) menciona que con una concentración de zeatina de 3 mg/L obtuvo una altura de 17, 99 mm siendo una de las mejores alturas con dicha concentración de zeatina.

En la variable de contaminación refleja que la concentración de 4,5 mg/L llevo a obtener una media de 0,3 unidades experimentales contaminadas de un total de cuarenta. De tal manera la contaminación fue baja para el ensayo que se realizó y teniendo la concentración de zeatina de 1,5 mg/L una media de 0,075 unidades experimentales contaminadas.

Con respecto al factor B (pH)

(Toro, 2009) En la investigación que presenta demuestra que los niveles de pH influyen en el crecimiento directo siendo un pH de 5 con las distintas variedades que evaluaron muestran un mejor crecimiento teniendo menor altura los que presentaron pH de 6. En esta investigación el pH de 5 presento una altura media de 7,67 mm presentando diferencia significativa con el pH de 4 presentando una altura de 2,36 de tal manera que las plantas de arándano son afines a los pH ácidos dentro de un rango de 4,5 a 5 para obtener un buen crecimiento si el medio del cultivo se vuelve más ácido o alcalino separado de estos rangos el crecimiento longitudinal de los brotes de las plantas será menor.

Con la variable número de hojas el pH de 5 influyo en la presencia de hojas teniendo en cuenta también que existe una correlación entre la altura y el número de hojas a mayor altura mayor número de hojas. Presentando una media de 1 hoja con el pH de 5 y el de 4 presento la media de 0,14 con el pH de 5,5 se observó una media de 0,34 de terminando que el pH del medio de cultivo donde se realiza la multiplicación in vitro es uno de los factores principales a considerar.

Con respecto al factor C (Fotoperiodo)

(Toro, 2009) en su investigación mencionan que fotoperiodo de 10 días de oscuridad en explantes de arándano el sistema de crecimiento de los brotes tuvo un mejor resultado en cuanto a crecimiento y calidad de brotes, mejor vigor en los tallos además el crecimiento entre brotes de cada explante fue más regular se corrobora esta investigación ya que en 8 días de oscuridad se tuvo una diferencia significativa en la altura de los brotes de los explantes teniendo mejor crecimiento, mayor vigor y un color óptimo de acuerdo a su crecimiento, teniendo así para la primera semana con un promedio de 0.35 mm en comparación a los 15 días de oscuridad donde la altura promedio fue de 0.21 mm.

El color del brote de arándano tiene un color verde con un fotoperiodo de 16 horas luz 8 horas oscuridad como lo menciona (Quispe, 2019), corroboramos esta información con nuestra investigación ya que los explantes expuestos a el mismo rango de fotoperiodo mencionado se obtuvo un color verde (GY30) al tercer día de haber cumplido los 8 días de oscuridad de los explantes sin embargo no existe información sobre un mayor número de días en oscuridad de explantes donde en nuestra investigación se pudo notar que pasados los 8 días hasta el día 15 los brotes de los explantes presentaban un color verde claro (GY40) y puestos en fotoperiodo de luz-oscuridad demoraron más días en volver a tomar un color de (GY30) esto se debe a la mayor cantidad de actividad fotosintética que el tamaño del brote tiene que elaborar clorofila hasta normalizar su color adecuado para tener las condiciones óptimas de crecimiento y vigorosidad.

Con respecto a la interacción del Factor A*B (Zeatina*pH)

(Lerma Bocanegra, García, Niño Fandiño, & Díaz Escobar, 2019) En su investigación menciona que la mayor altura que obtuvieron se realizó con una concentración de Zeatina de 2 mg/L, con un pH del 4,8 considerándolo ácido con una media de altura de 30,99 mm, teniendo también el de menor altura la que no presenta ninguna concentración hormonal de zeatina con 12,07 mm de longitud y presentando con la mayor concentración de Zeatina de 3 mg/L con pH de 4,8 reflejo una longitud de 17,99 mm, en un periodo de sesenta días. En la Figura 21 se observa que el tratamiento que indicó una mayor altura es el medio de cultivo que tenía un pH de 5 y la concentración hormonal de zeatina es de 3 mg/L presentando una altura promedio de 16,20 mm, al mismo tiempo donde no presenta concentración hormonal sin importar el pH del medio de cultivo se mantiene una altura homogénea en la cual es de 2 mm como punto máximo de longitud, el resto de tratamiento con la concentración de 3mg/L de zeatina diferenciando los pH de 4,

4,5 y de 5,5 presentaron una altura homogénea con medias de longitud de 5 mm y 7 mm, respecto a las concentraciones de zeatina de 1,5 mg/L con pH de 5 es considerado el segundo mejor tratamiento y la concentración de 4,5 mg/L mantiene una altura similar al resto de tratamientos dando a entender que el pH y la concentración de la zeatina en la variable de altura es fundamental para tener un mejor desarrollo longitudinal en la multiplicación in vitro.

Capítulo VI

Conclusiones

Con respecto al factor A (Zeatina)

La altura se vio reflejada directamente con la concentración de 3mg/l de Zeatina donde esta fue mejor a comparación del resto de concentraciones siendo esta la media de 8,11 mm de altura.

El número de hojas con una concentración de 3mg/l de Zeatina reflejo una media de una hoja teniendo mejor resultados a diferencia de las otras concentraciones de Zeatina, además esta concentración indicó un límite superior de seis hojas con la misma concentración de Zeatina

La contaminación con una concentración de 4,5 mg/l de Zeatina tuvo un mayor porcentaje de medios contaminados siendo este de 0,3 frascos de un total de 40 unidades experimentales que pertenecían a esta concentración de Zeatina.

Con respecto al factor B (pH)

La altura tuvo incidencia respecto al pH donde el mejor nivel reflejado fue pH de 5 con una media total de 7,67 mm siendo el mejor nivel, el pH de 4 que presentó una media de 4,64 mm siendo igual al pH de 4,5 respecto a la altura del brote.

Respecto a la variable número de hojas respecto del pH el mejor fue con un nivel de pH de 5 con una media de 1 hoja con un límite superior de 5 hojas por este nivel.

Con respecto al factor C (Fotoperiodo)

Existió una diferencia de altura respecto del fotoperiodo entre la semana uno o toma inicial el cual con un fotoperiodo de 8 días en oscuridad es mejor, teniendo

0,35 mm de altura a comparación de 0,21 mm con 15 días de fotoperiodo esto demuestra que mientras más rápido los brotes empiecen a tomar luz la actividad fotosintética se activará y ganará altura más rápido.

Para el color de brote el mejor fotoperiodo fue de 8 días en oscuridad ya que el promedio fue de 3,625 siendo este que los brotes tuvieron un color verde esto se evidencia porque estos explantes recibieron más rápido la luz por lo cual su actividad fotosintética aceleró el proceso de la fotosíntesis dándole un mejor color a los brotes.

Con respecto a la interacción del factor A*B (Zeatina*pH)

Para la altura inicial Con una concentración de 3mg/l de Zeatina y a un nivel del pH de 5 se tiene una media de 0,55 mm contra una concentración de 0mg/l con un nivel de pH de 4 con una altura media de 0,16 mm teniendo siendo la concentración de 3mg/l la mejor en cuanto a la altura inicial de los brotes.

En cuanto a la altura de los brotes los que presentaron mejor resultado fueron los tratamientos T21 (3mg/L Zeatina+ pH 5+Fotoperiodo de 8 días) y el T22 (3mg/L Zeatina+ pH 5+Fotoperiodo de 15 días) llegando a tener una altura promedio de 16,20 mm teniendo en cuenta que tanto el pH como la zeatina presentaron una interacción entre ellas de esta manera se entiende que el fotoperiodo no influye en la altura de los brotes de arándano mientras que la zeatina y el pH juegan un rol fundamental para el crecimiento longitudinal, en cuanto los tratamientos que no presentaron resultados óptimos fueron aquellos donde no hubo aplicación de zeatina y su altura llegó a ser de un promedio de 2 mm aunque el pH varié, la zeatina tiende a reaccionar diferente con distintos niveles de pH pudiendo este optimizar la hormona para el crecimiento de los brotes o retardar el desarrollo longitudinal de los brotes de arándano la concentración de zeatina que presentó mejor resultados en los distintos pH fue de 3 mg/L.

Recomendaciones

Se debe tomar el material vegetal para la propagación de plantas madres fisiológicamente sanas y productivas además previo a la recolección se debe hacer un tratamiento fúngico de las plantas una semana antes para reducir el riesgo de contaminación en laboratorio estos productos pueden ser vitavax + phython, fungicida más un sulfato de cobre pentahidratado que tiene acción bactericida.

Para el protocolo de desinfección en la zona trópico húmedo hacer una desinfección extra fuera del cuarto de siembra previo al ingreso a la cámara de flujo esta desinfección se debe realizar con un ingrediente activo que contenga carboxin + captan 1,5 ml/L más un sulfato de cobre pentahidratado de 0,66ml/L para reducir el porcentaje de contaminación debido al ecosistema ambiental de la zona a la que está ejecutada la investigación.

Elaborar un protocolo de desinfección de acuerdo a la zona climática en la que se esté trabajando ya que esto incide mucho en la propagación y problemas de contaminación del material vegetal ya sea ambiental o vegetativo

Es mejor hacer propagación a partir de un subcultivo o repique ya que la siembra en la etapa de establecimiento de los explantes se tiene un alto porcentaje de contaminación incluso luego de los 20 días con un explante ya emergido se presenta problemas de contaminación porque los tejidos celulares de la planta son portadores de ciertos hongos patógenos.

Capítulo VII

Bibliografía

- Arista Bustamante, J. P. (Junio de 2019). *UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS*. Obtenido de EFECTO DE LAS CITOQUININAS EN LA MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE CUATRO VARIEDADES DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum*), A PARTIR DE SEGMENTOS NODALES, CHACHAPOYAS AMAZONAS:
<http://181.176.222.66/bitstream/handle/UNTRM/1848/Arista%20Bustamante%20Jessy%20Patricia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Bañados, P. (2007). *Perspectiva en el mercado de los arándanos*. Tucumán .
- Bhojwani, S., Saran, S., & Kamur, P. (2013). *Plant Tissue Culture: An Introductory*. India : Springer.
- Brenes, A., Castillo, R., & Gómez, L. (27 de Noviembre de 2014). *Micropropagación de cuatro cultivares de arándano (*Vaccinium ssp.*) a partir de segmentos foliares de dos procedencias*. Costarrica. Obtenido de http://www.mag.go.cr/rev_agr/v39n01_007.pdf
- Caballero, J. (2015). *Crecimiento y desarrollo vegetativo de dos cultivares de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) Biloxi y Sharpblue en la Sabana de Bogotá*. Cajica. Obtenido de <https://repository.unimilitar.edu.co/bitstream/handle/10654/6443/TRABAJO%20DE%20GRADO%20ENTREGADO..pdf?sequence=2&isAllowed=y>
- Castillo, A. (2008). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*. Las Brujas. Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/34431273/Propagacion_de_plantas_por_cultivo_in_vitro.pdf?1407915702=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPropagacion_de_plantas_por_cultivo_in_vi.pdf&Expires=1595822018&Signature=dgcAJtY1gUDmFqa0BA6bnVxw

- Castro, M. (2016). *Mejora de la propagación in vitro de Vaccinium corymbosum y evaluación de la actividad antioxidante de arándanos comerciales*. Coruña.
- De La Colina, J. (2009). *Producción de arándanos en Argentina*. Argentina: El Cid Editor. Obtenido de <https://elibro.net/es/lc/espe/titulos/29041>
- García, J. (2011). El cultivo del arándano. 13-20. Obtenido de <http://www.serida.org/pdfs/4815.pdf>
- García, J., & García, G. (2013). *Situación actual del cultivo del arándano en el mundo*. Barcelona.
- Gonzalez, P. (6 de Junio de 2018). *Revista Líderes*. Obtenido de <https://www.revistalideres.ec/lideres/cultivos-arandano-fruta-empresa-guayllabamba.html>
- Kaldmäe, H., Starast, M., & Karp, K. (2006). Efecto del estado fisiológico de la planta donante sobre el establecimiento In Vitro e explantes de *Vaccinium Angustifolium*.
- Lerma Bocanegra, S. L., García, D., Niño Fandiño, W., & Díaz Escobar, W. (2019). Propagación in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) a partir de yemas axilares. *SENA*, 1-11.
- Miller, S., Rawnsley, E., & George, J. (2006). Comparison of Blueberry Propagation Techniques. 397-399.
- Mora, H. (Marzo de 2010). Organogénesis In Vitro de arándano *Vaccinium Corymbosum* L. . Michoacan , Mexico.
- Navarro, M. (2005). Determinación de una metodología de desinfección y un medio de cultivo para la introducción y micropropagación in vitro de 12 ecotipos de ají (*Capsicum* sp.) y cuatro de tomate de arbol (*Solanum betaceum*). Latacunga, Ecuador. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?id=plczAQAAMAAJ&pg=PA22&dq=auxina+medio+de+cultivo&hl=es&sa=X&ved=2ahUKEwjd_pr4ue7qAhVET98KHfhrDIwQ6AEwAnoECAIQAg#v=onepage&q=auxina%20medio%20de%20cultivo

&f=false

- Paeshant, B., Karan, K., & Radha, M. (2019). Arándano (*Vaccinium macrocarpon* Ait. L.). En *Cultivar científicamente frutas templadas menores* (págs. 128-181). Nueva delhi : Jaya Publishing House .
- Pérez, J., & Cornejo, M. (2014). *How and Why we work with plant cells* . España : Celso Hernández de la Figuera .
- Quispe, A. (2019). Auxinas y citoquininas en la micro propagación de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) de las variedades Biloxi y Misty en Arequipa. Arequipa, Perú.
- Retamales, J., & Hancock, J. (2012). Blueberries. Cambridge, Massachusetts: Centre for Agricultural Bioeience International. Obtenido de https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=eVloDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR1&dq=Retamales+J+y+Hancock+j&ots=aq6Oudvy9_&sig=aO0-hYHauSnmgCgmGlcJLv3JG2w#v=onepage&q=Retamales%20J%20y%20Hancock%20j&f=false
- Roca, W., & Mroginski, L. (1993). *Cultivo de tejidos en la Agricultura* . Cali .
- Romero, C. (2016). El Arándano en el Perú y el mundo. Obtenido de http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/tematicas/f-taxonomia_plantas/f01-cultivo/el_arandano.pdf
- Rosell, C., & Villalobos, V. (1990). Fundamentos teórico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. 113 .
- Tasi, H., & Schulz, G. (2008). Tasi, H. A., & Schulz, G. A. (2008). Indices de productividad específico para el cultivo de arándanos en el departamento Concordia-provincia de Entre Ríos. *Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*, 2-3.
- Toro, M. (2009). *Mejoramiento del proceso de propagación in vitro de plantas de arándano para las variedades Bluecrop, Duke y Misty* . Santiago .
- Vargas, D. (2014). *Propagación in Vitro de Vaccinium corimbosum (Arándano), hasta*

la fase de multiplicación . Huaraz.

Vilcarromero, M. (2016). Efecto de cuatro concentraciones de citoquininas en la multiplicación de Arándano (*Vaccinium corimbosum* L.) cv. Biloxy, Trujillo-La Libertad. Trujillo, Perú .

Villanueva, F., & Mansilla, A. (2013). Efecto de auxinas y citoquininas en el cultivo de tejido de *Ahnfeltia plicata* (Hudson) Fries, 1836 (Ahnfeltiales, Rhodophyta) de la región de magallanes. 1-14.