



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE
DEPARTAMENTO CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA EN
BIOTECNOLOGÍA**

**“Evaluación del efecto de medios basales y diferentes concentraciones de reguladores
de crecimiento, en la inducción de brotes y multiplicación *in vitro* de un cultivar de
arándano alto del sur (*Vaccinium corymbosum* L.)”**

Autor: Romero Balladares, Nathaly Raquel

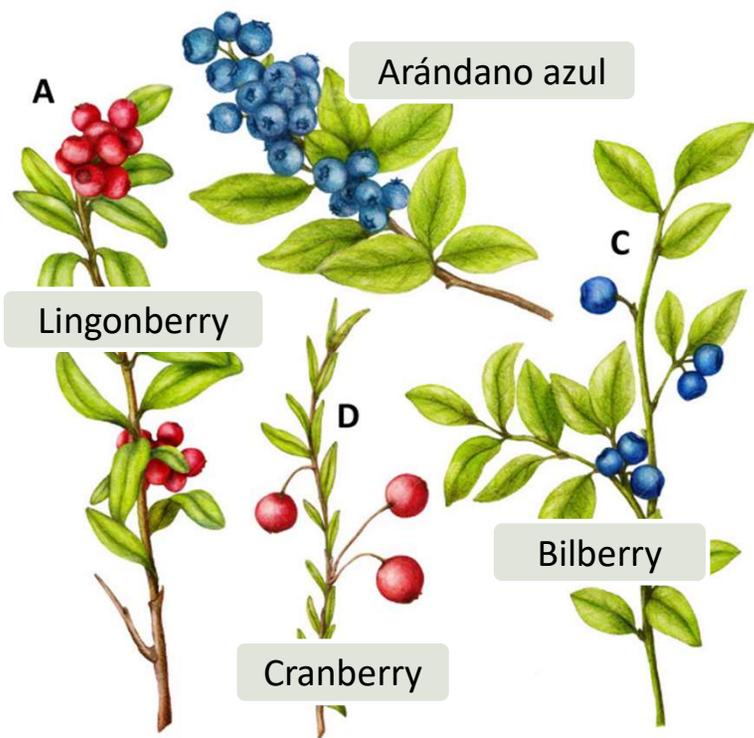
Tutora: Mihai, Raluca Alexandra Ph. D.

Sangolquí, 07 de marzo de 2023

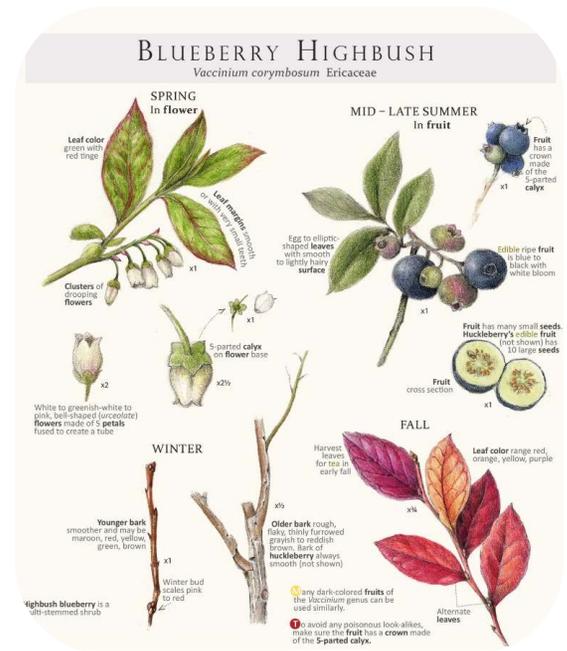


INTRODUCCIÓN

Vaccinium spp.



Arbusto perenne



Características morfológicas

(Lerma et al., 2019; Edger et al., 2022)



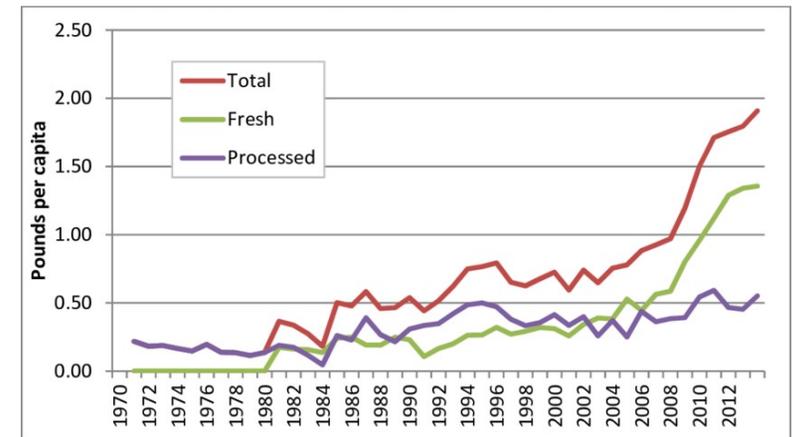
ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Vaccinium corymbosum L.



Vaccinium corymbosum
L.

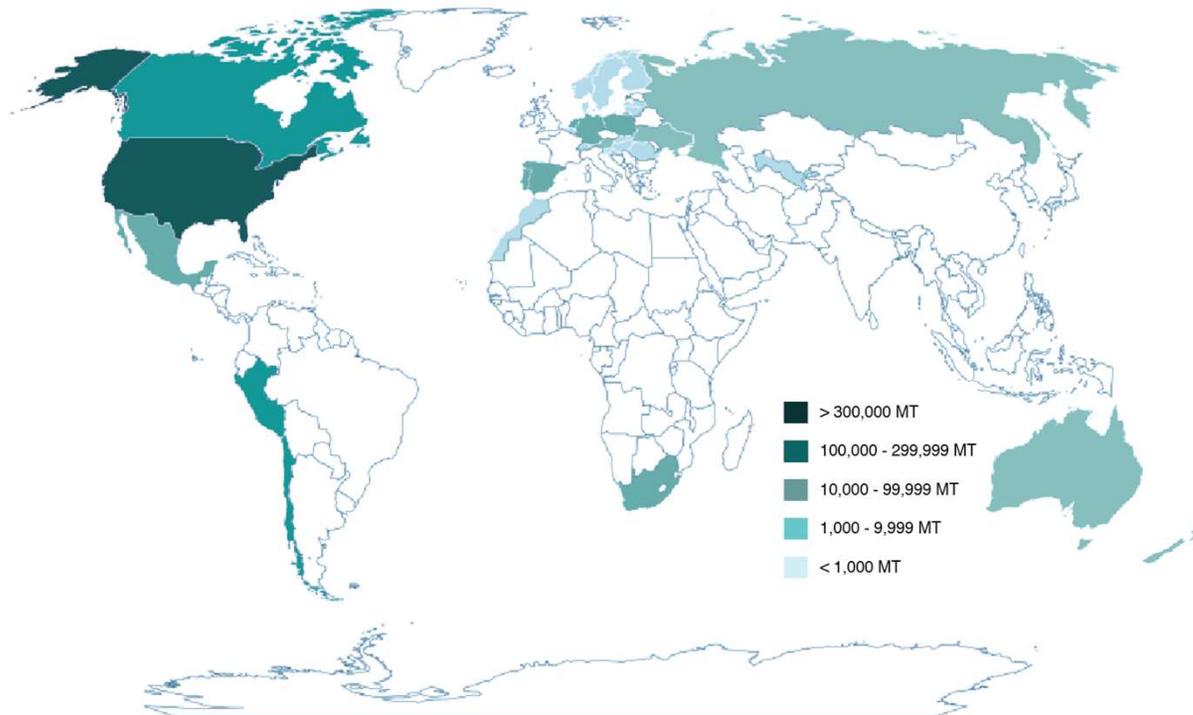
“Super fruta del
siglo XXI”



Consumo de arándano en USA
per-cápita

INTRODUCCIÓN

Producción de arándano global (2019)



Variedades de arándano alto del sur



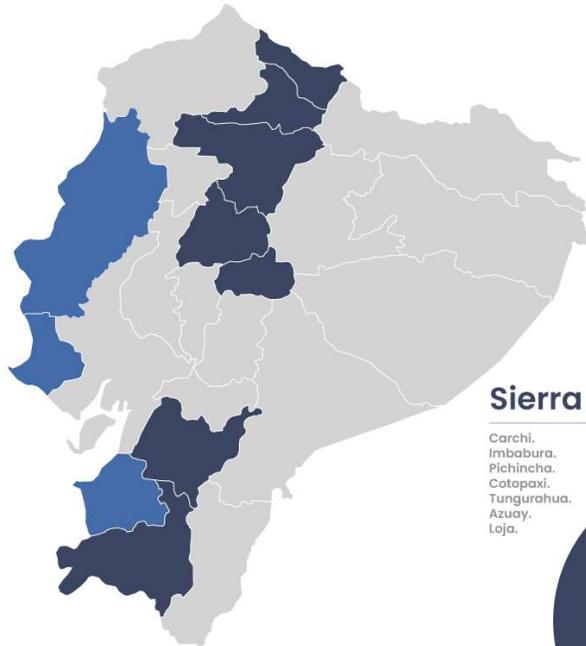
(Gilbert, et al., 2013; Protzman, 2019)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

INTRODUCCIÓN

ZONAS DE CULTIVO

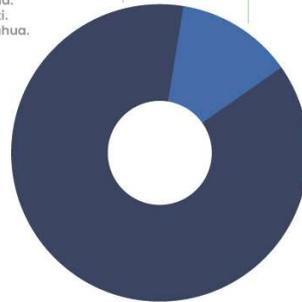


Sierra

Carchi.
Imbabura.
Pichincha.
Cotopaxi.
Tungurahua.
Azuay.
Loja.

Costa

Manabí.
El Oro.
Santa Elena.

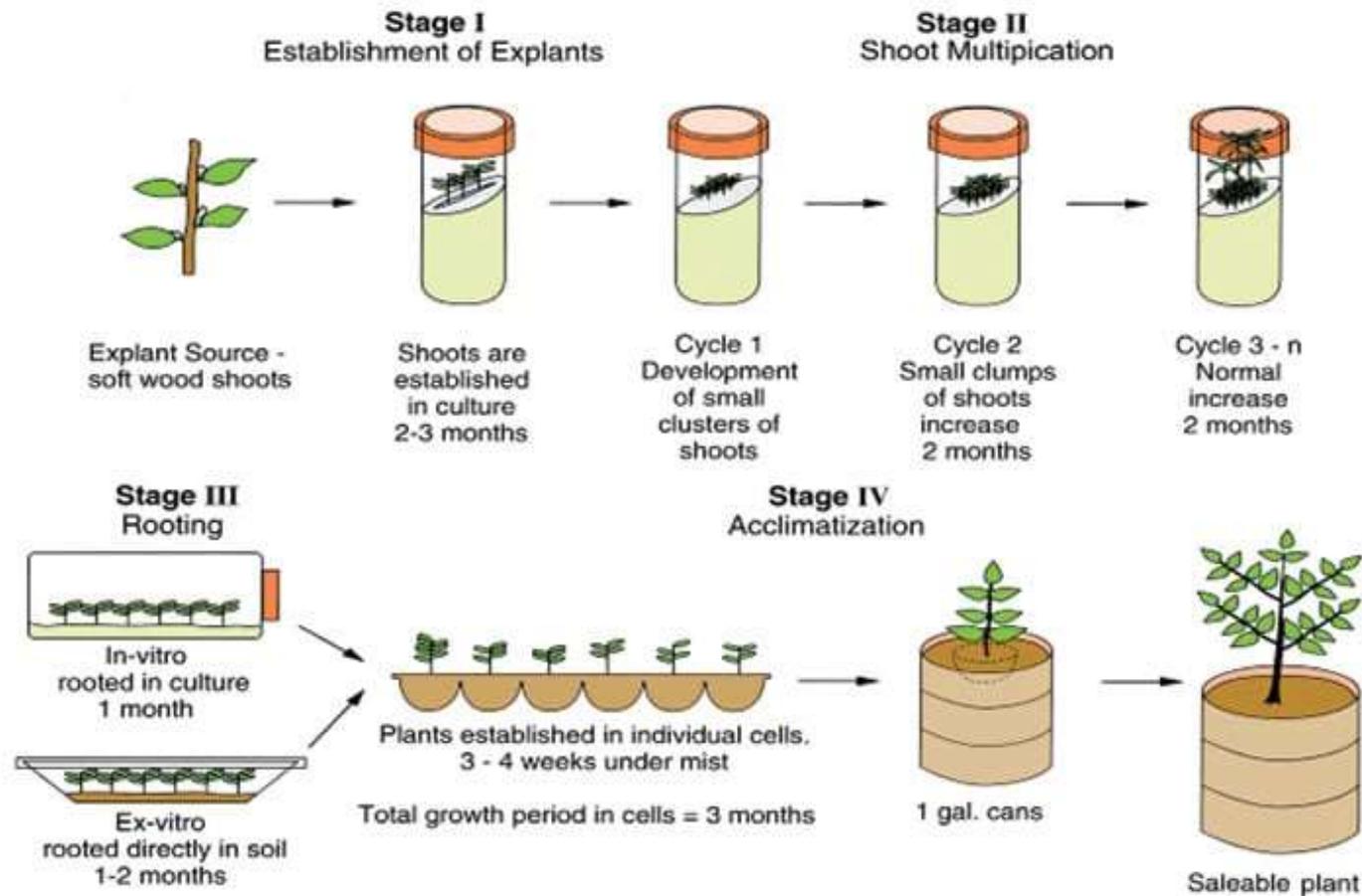


(Fepexa, 2023; Primicias, 2022)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

INTRODUCCIÓN



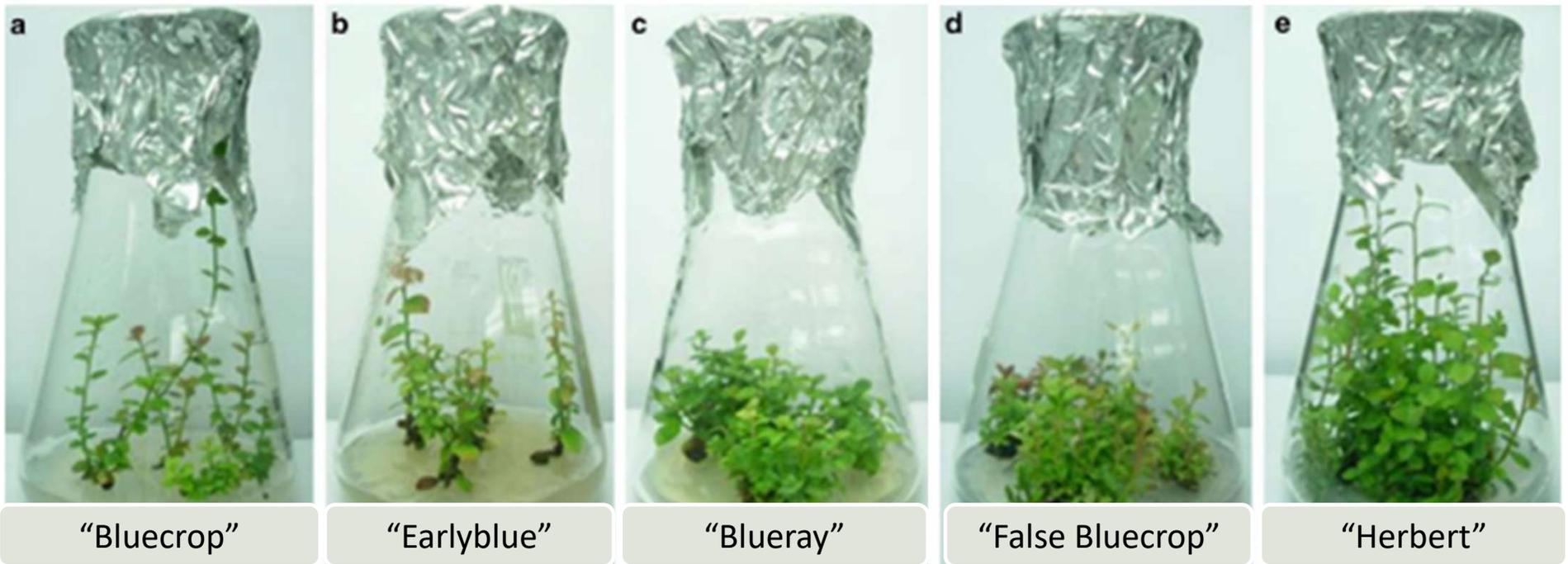
(Fepexa, 2023; Primicias, 2022)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

JUSTIFICACIÓN

Cultivares *V. corymbosum* en el mismo medio de cultivo.



(Lambardi, 2013)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

GENERAL

Evaluar el efecto de medios basales y diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento, en la inducción de brotes y multiplicación *in vitro* de un cultivar de arándano alto del sur (*Vaccinium corymbosum* L.).



ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto de medios basales y diferentes citoquininas, en la inducción de brotes *in vitro* a partir de segmentos nodales de *Vaccinium corymbosum* L.
- Evaluar el efecto de medios basales y diferentes concentraciones de citoquininas, en el desarrollo y proliferación de brotes, durante la etapa de multiplicación *in vitro*.
- Evaluar el efecto del ácido 3-indol butírico en la proliferación de brotes, durante la etapa de multiplicación *in vitro*.





Los medios basales, complementados con las óptimas concentraciones de reguladores de crecimiento, permiten inducir la brotación y promueven la proliferación *in vitro* de la variedad de arándano alto del sur (*Vaccinium corymbosum* L.).



FASE I

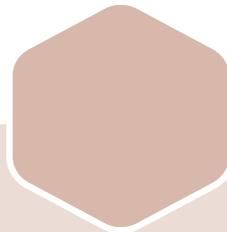
ESTABLECIMIENTO



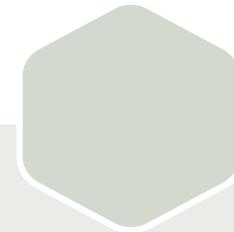
INDUCCIÓN DE
BROTOS

FASE II

MULTIPLICACIÓN



MEDIO BASALES
Y CITOQUININAS



PRESENCIA DE
IBA



FASE I: INDUCCIÓN DE BROTES

Medio de cultivo para la inducción de brotes en segmentos nodales de *V. corymbosum* L.

| Tratamiento | Medio basal | Citoquinina | Concentración (mg/L) |
|---------------|-------------|-------------|----------------------|
| I0 (control) | WPM | N/A | 0 |
| I1 | WPM | 2iP | 2,5 |
| I2 | WPM | 2iP | 5,0 |
| I3 | WPM | ZEA | 1,0 |
| I4 | WPM | ZEA | 2,0 |
| I01 (control) | AN | N/A | 0 |
| I5 | AN | 2iP | 2,5 |
| I6 | AN | 2iP | 5,0 |
| I7 | AN | ZEA | 1,0 |
| I8 | AN | ZEA | 2,0 |



| | |
|-----------------|----------|
| WPM | 2,3 g/L |
| AN | 1,89 g/L |
| Sacarosa | 30 g/L |
| Agar | 6 g/L |
| pH | 5 |

Variables de Respuesta:

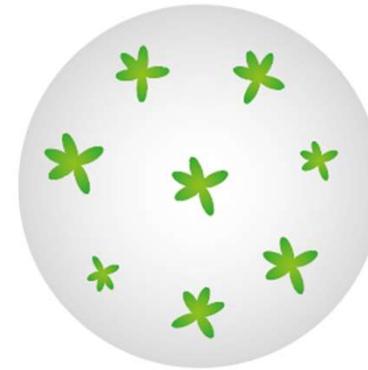
- Índice de Multiplicación (IM)
- % brotación
- Longitud de brotes



FASE II: MEDIO BASALES Y CITOQUININAS

Medio de cultivo para la inducción de brotes en segmentos nodales de *V. corymbosum* L.

| Tratamiento | Medio basal | Citoquinina | Concentración (mg/L) |
|---------------|-------------|-------------|----------------------|
| CN1(control) | WPM | N/A | 0 |
| M1 | WPM | ZEA | 1,0 |
| M2 | WPM | ZEA | 2,0 |
| M3 | WPM | ZEA | 3,0 |
| M4 | WPM | 2iP | 2,0 |
| M5 | WPM | 2iP | 2,5 |
| M6 | WPM | 2iP | 3,0 |
| CN2 (control) | AN | N/A | 0 |
| M7 | AN | ZEA | 1,0 |
| M8 | AN | ZEA | 2,0 |
| M9 | AN | ZEA | 3,0 |
| M10 | AN | 2iP | 2,0 |
| M11 | AN | 2iP | 2,5 |
| M12 | AN | 2iP | 3,0 |



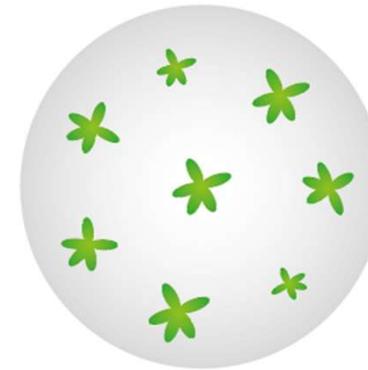
| | |
|----------|----------|
| WPM | 2,3 g/L |
| AN | 1,89 g/L |
| Sacarosa | 20 g/L |
| Agar | 6 g/L |
| pH | 5 |

Variables de Respuesta:

- % clorosis
- Índice de Multiplicación (IM)
- Brotación
- Longitud de brotes



FASE II: EFECTO DE IBA



| | |
|----------|----------|
| WPM | 2,3 g/L |
| AN | 1,89 g/L |
| Sacarosa | 20 g/L |
| Agar | 6 g/L |
| pH | 5 |

Variables de Respuesta:

- % clorosis
- Índice de Multiplicación (IM)
- Brotación
- Longitud de brotes



FASE I: INDUCCIÓN DE BROTES



Primera semana de cultivo



Quinta semana de cultivo

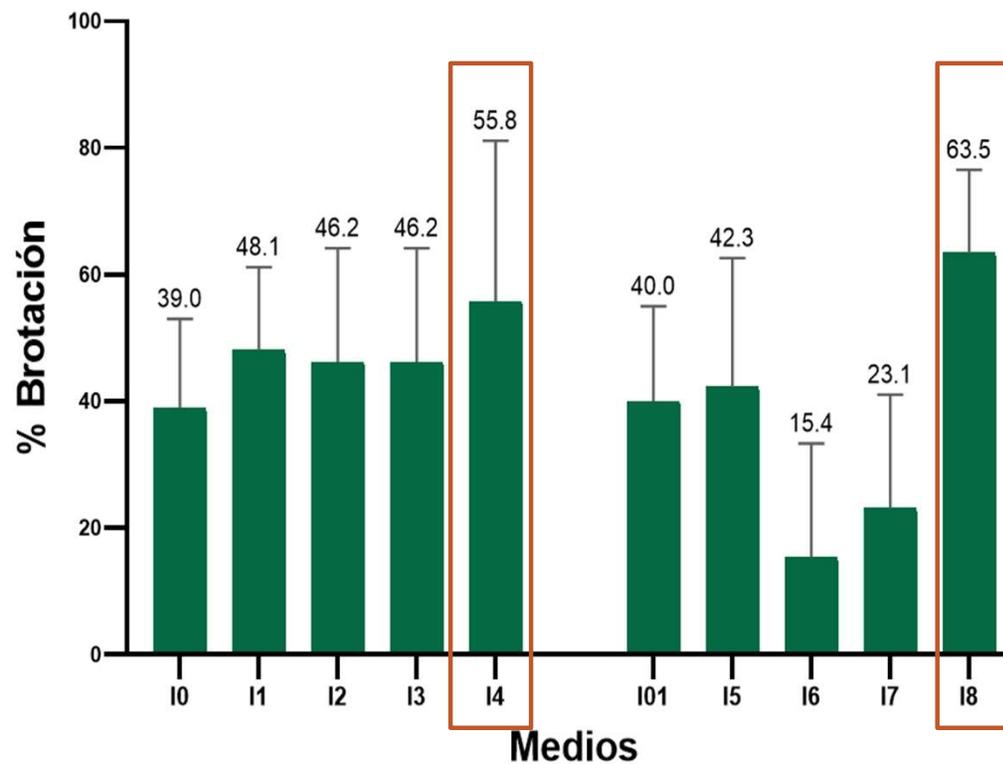
(Schuchovski & Biasi, 2019; Azofeifa, 2009)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

FASE I: INDUCCIÓN DE BROTES

Medio Basal y el tipo de Citoquinina influye en esta variable.

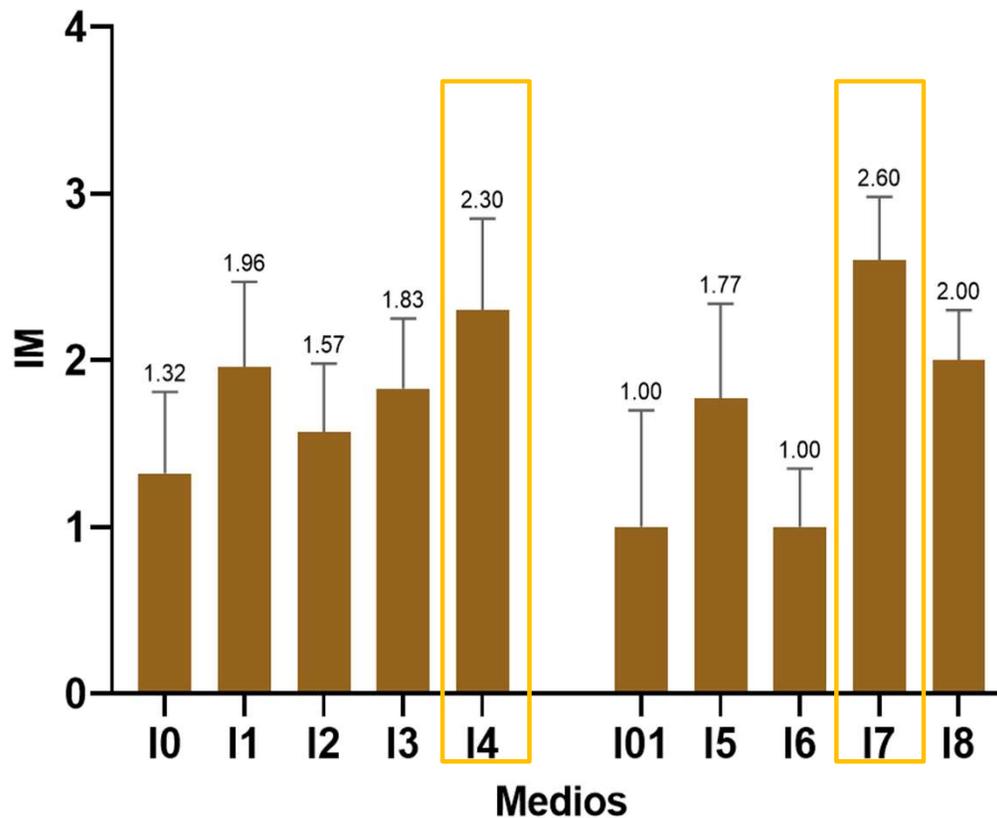


(Wolfe et al, 1983; Debnath, 2007; Ostrolucká et al.,2004)



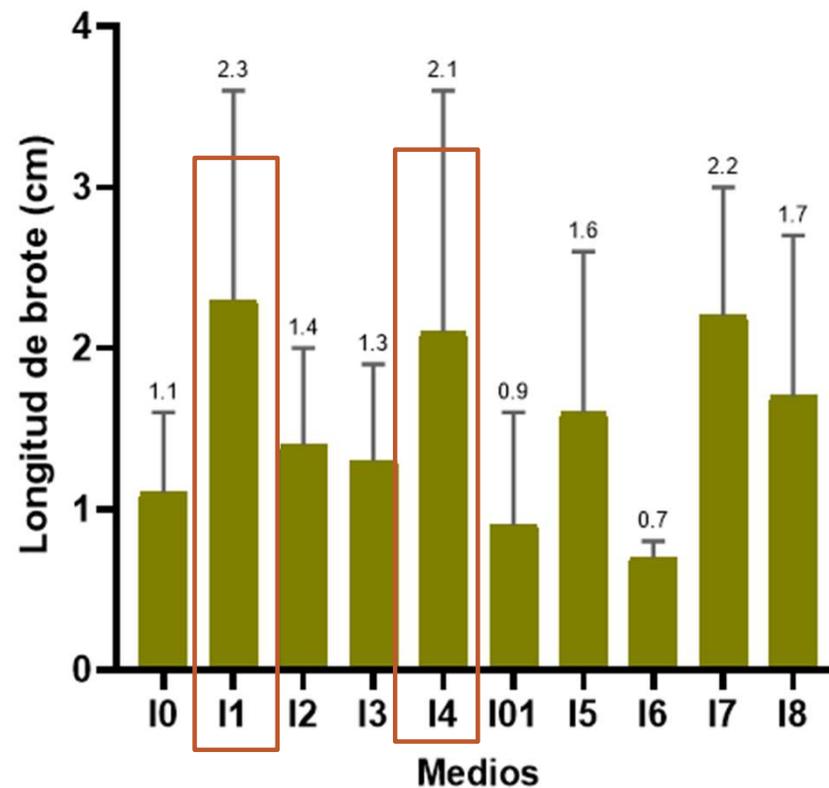
FASE I: INDUCCIÓN DE BROTES

La interacción entre el medio Basal y el tipo de Citoquinina influye en esta variable.



FASE I: INDUCCIÓN DE BROTES

La interacción entre el medio Basal y el tipo de Citoquinina influye en esta variable.

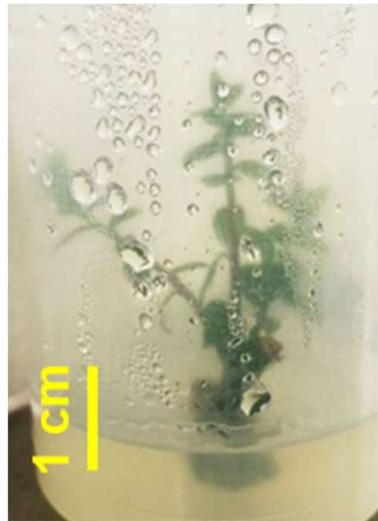


(Lerma et al., 2019)



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FASE I: INDUCCIÓN DE BROTES



Quinta semana
de cultivo en
medio "I4"

Resultados del medio de inducción más eficiente.

| Medio | Medio basal | Citoquina | Cocentración (mg/L) | % Brot | IM | Long (cm) |
|-------|-------------|-----------|---------------------|--------|-----------------|---------------|
| I4 | WPM | ZEA | 2,0 | 55,8 | $2,30 \pm 0,55$ | $2,1 \pm 1,5$ |



FASE II: MEDIO BASALES Y CITOQUININAS



Coloración rojiza en
nervadura



Síntomas de clorosis
en explantes

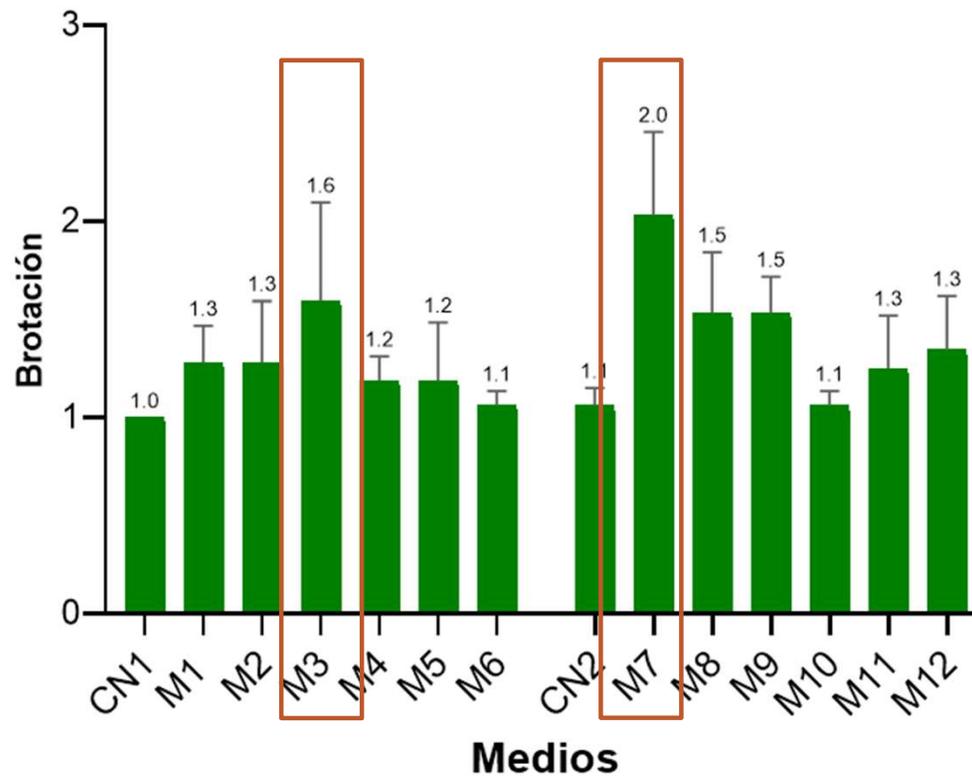
(Tetsumura et al., 2008; Ružić et al., 2012)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

FASE II: MEDIO BASALES Y CITOQUININAS

El tipo de Citoquinina influye en esta variable.

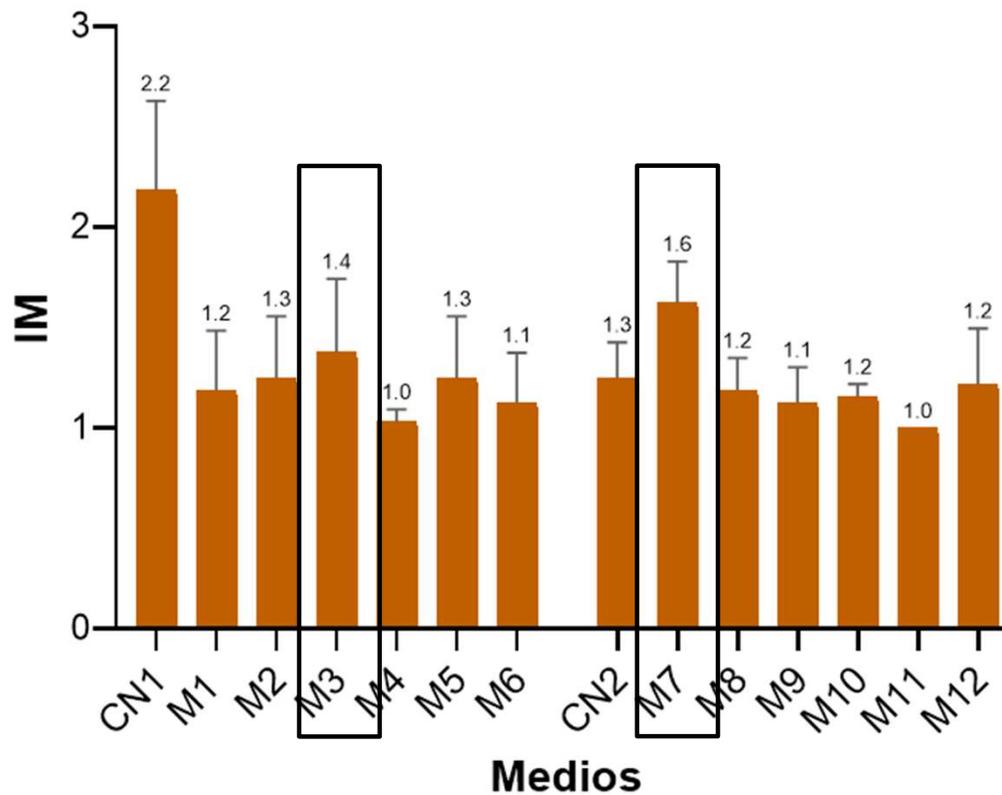


(Ostrolucká et al., 2007)



FASE II: MEDIO BASALES Y CITOQUININAS

El tipo de Citoquinina influye en esta variable.

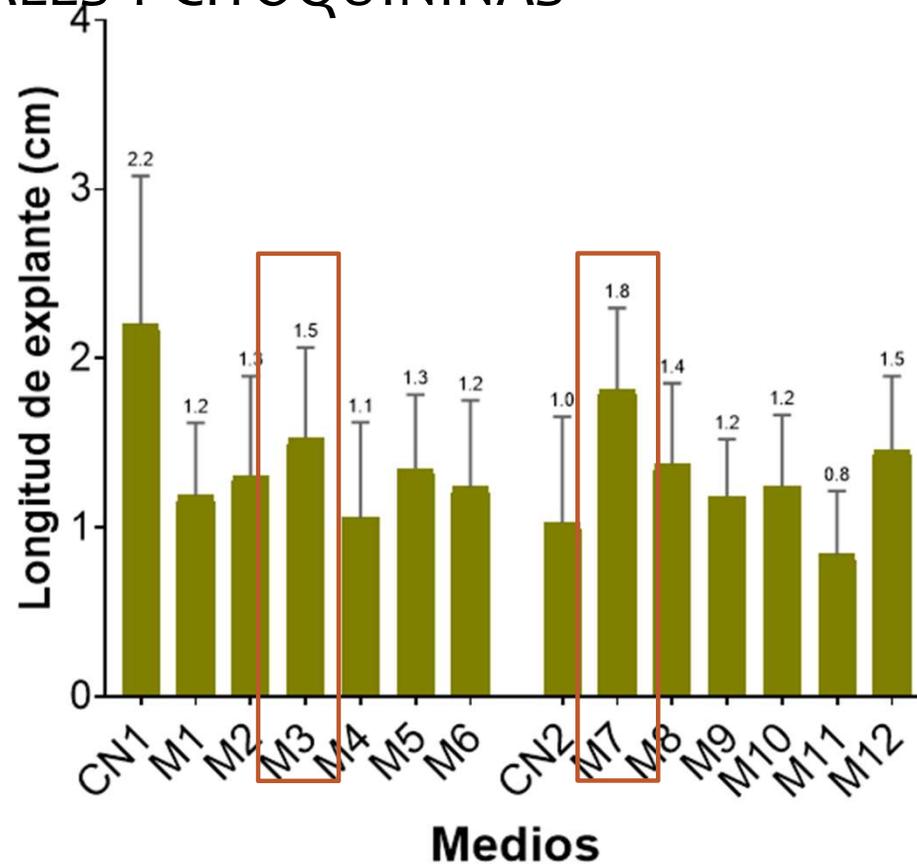


(Ostrolucká et al., 2004)



FASE II: MEDIO BASALES Y CITOQUININAS

El tipo de Citoquinina influye en esta variable.



(Lerma et al., 2019)

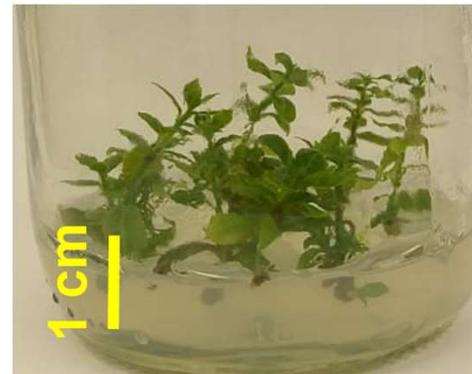


RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FASE II: MEDIO BASALES Y CITOQUININAS



Quinta semana de cultivo en medio "M7"



Quinta semana de cultivo en medio "M3"

Resultados del medio de multiplicación más eficiente.

| Tratamiento | Medio Basal | Citoquinina | Concentración (mg/L) | % Clorosis | Brotación | IM | Longitud (cm) |
|-------------|-------------|-------------|----------------------|------------|-------------|-------------|---------------|
| M7 | AN | ZEA | 1,0 | 51,7 | 2,03 ± 0,43 | 1,63 ± 0,20 | 1,82 ± 0,48 |
| M3 | WPM | ZEA | 3,0 | 27,8 | 3,34 ± 3,12 | 1,38 ± 0,37 | 1,53 ± 0,54 |

(Wolfe et al., 1983)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FASE II: EFECTO DE IBA

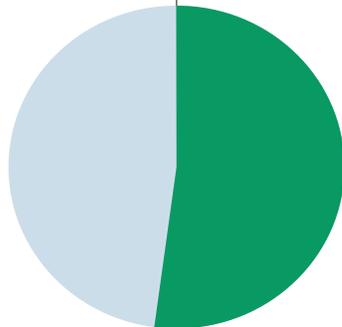
Síntomas de Clorosis

Medio 7

AN + 1 mg/L ZEA



51,7 %

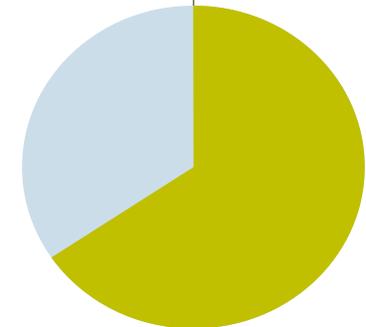


Medio 7 + IBA

AN + 1 mg/L ZEA + 0,1 mg/L IBA



69,12 %



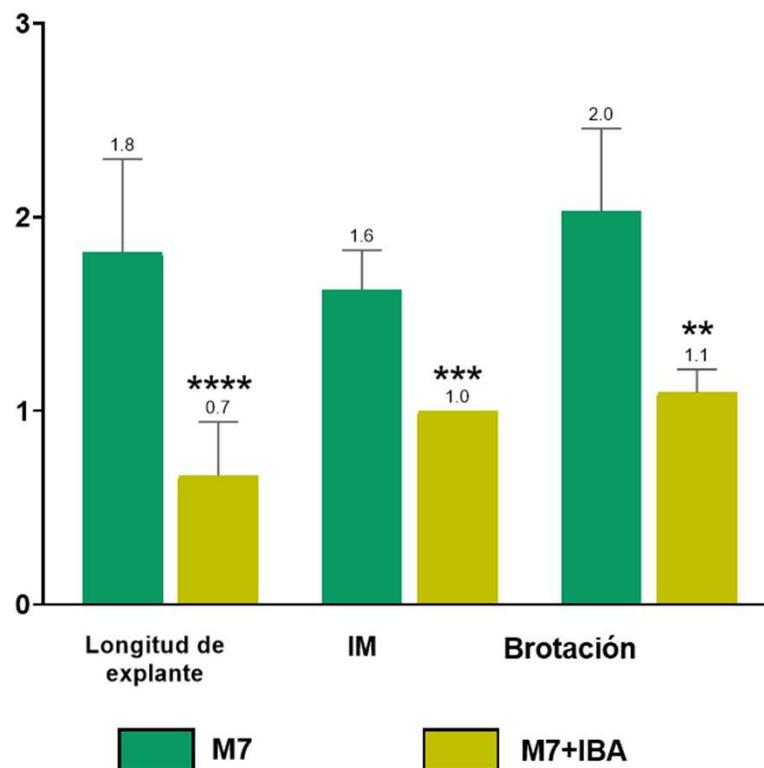
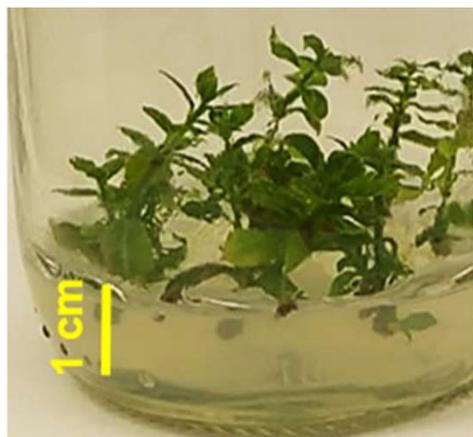
(Ružić et al., 2012; Litwińczuk & Wadas, 2009)



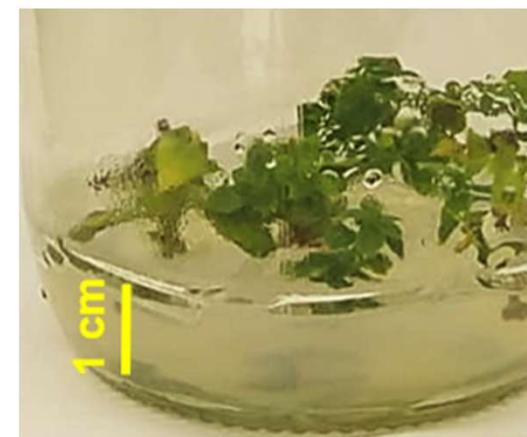
ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

FASE II: EFECTO DE IBA

Medio 7
AN + 1 mg/L ZEA



Medio 7 + IBA
AN + 1 mg/L ZEA + 0,1 mg/L IBA

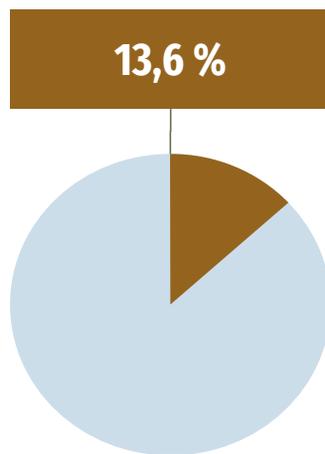


RESULTADOS Y DISCUSIÓN

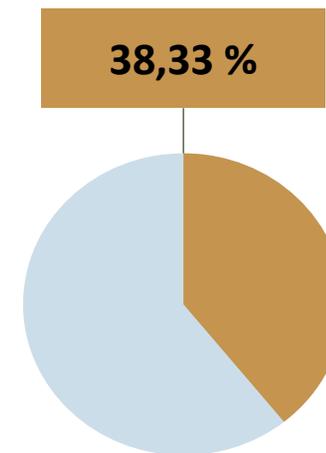
FASE II: EFECTO DE IBA

Síntomas de clorosis

Medio 3
WPM + 3 mg/L ZEA



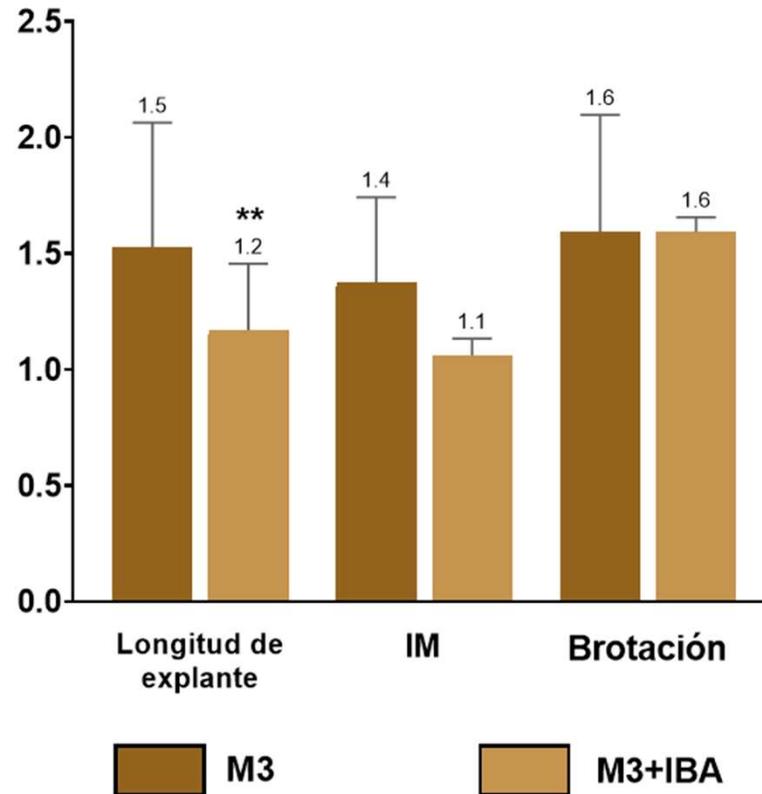
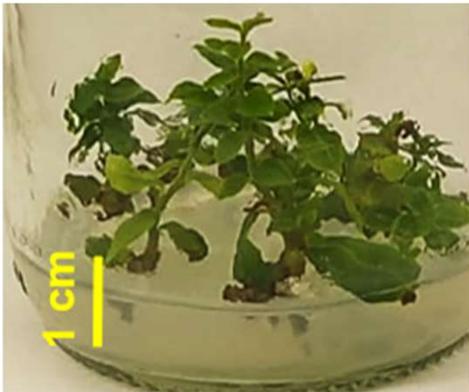
Medio 7 + IBA
WPM + 3 mg/L ZEA + 0,1 mg/L IBA



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

FASE II: EFECTO DE IBA

Medio 3
WPM + 3 mg/L ZEA



Medio 7 + IBA
WPM + 3 mg/L ZEA + 0,1 mg/L IBA



(Mohamed et al., 2018; Litwińczuk & Wadas, 2008, Ružić et al., 2012)



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

CONCLUSIONES



El medio basal y el tipo y concentración de citoquinina tienen influencia significativa en la inducción de brotes. Se determina que el medio I4 es el medio más óptimo.



Existe una interacción entre el medio basal, tipo y concentración de citoquininas influye en la proliferación de brotes. Se determinó que el medio M7 es el más óptimo.



La presencia de 0,1 mg/L IBA disminuye la eficiencia de los medios en comparación con los medios suplementados sólo con ZEA.



RECOMENDACIONES



Evaluar la densidad de explantes y el volumen de medio usado para el cultivo.



Evaluar fuentes de hierro y nitrógeno en el medio basal para optimizar el desarrollo.



Optimizar la concentración del IBA implementada en los medios de multiplicación.



AGRADECIMIENTOS

Raluca Mihai, Ph.D.

Directora del Proyecto de Investigación

CONECTIFLORANDINO CIA LTDA.

Empresa auspiciante del Proyecto de Investigación

Ing. Xavier Montalvo

Revisor de empresa CONECTIFLORANDINO CIA
LTDA.

Familia

Amigas y Amigos



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA