



Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Sede Ibarra

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES

INFORME FINAL DEL PROYECTO

TEMA:

Evaluación de cultivo *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) con segmentos nodales utilizando *Murashige & Skoog* (MS) y *Woody Plant Medium* (WPM), enriquecidos con dos concentraciones de 6-BAP

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

INGENIERO AGROPECUARIO

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:

SUBLINEA:

AUTOR: YEIKOB SAID SILVA CASTRO

ASESOR: SANTIAGO XAVIER MAFLA ANDRADE

Ibarra, julio de 2026

Ibarra, julio de 2026

CERTIFICACIÓN TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de integración curricular titulado: **Evaluación de cultivo in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) con segmentos nodales utilizando Murashige & Skoog (MS) y Woody Plant Medium (WPM), enriquecidos con dos concentraciones de 6-BAP**, presentado por el estudiante **YEIKOB SAID SILVA CASTRO** con cédula de ciudadanía N° 1004413454, para obtener el Título de Ingeniero Agropecuario.

Certifico que el trabajo cumple con todos los parámetros establecidos, mediante el cual el estudiante demuestra el desarrollo de competencias en el campo de conocimiento de su profesión con un nivel de argumentación coherente, para ser sometido a la evaluación por parte de los lectores.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de originalidad de TURNITIN.

Captura:

TFT Silva

INFORMACIÓN DE ORIGINALIDAD

5%	5%	2%	9%
ÍNDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIO

PLANTAS POTENCIALES

1	repositorio.puce.edu.ec	Fuente de Internet
2	dspace.pucesi.edu.ec	Fuente de Internet
3	repositorio.uta.edu.ec	Fuente de Internet
4	agrotiencia-colpos.org	Fuente de Internet

Excluir citas Activo Excluir coincidencias x 1%

Excluir bibliografía Activo

Santiago Xavier Mafla Andrade

(f).....

Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI):



(f).....

Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399



(f).....

Gonzalo Sebastián Yáñez Segovia

C.C.: 1713201059



(f).....

Dra. Cintya Gordon Falconí

C.C.: 1721991246

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo YEIKOB SAID SILVA CASTRO, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 de Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derecho de disponer de sus derechos o autorizar de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, julio del 2026



f):

YEIKOB SAID SILVA CASTRO

C.C.: 1004413454

AUTORÍA

Yo, YEIKOB SAID SILVA CASTRO, portador de la cédula de ciudadanía N° 1004413454, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.



f):

YEIKOB SAID SILVA CASTRO

C.C.: 1004413454

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, YEIKOB SAID SILVA CASTRO, con C.C.: 1004413454, autor del trabajo de grado intitulado: EVALUACIÓN DE CULTIVO IN VITRO DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) CON SEGMENTOS NODALES UTILIZANDO MURASHIGE & SKOOG (MS) Y WOODY PLANT MEDIUM (WPM), ENRIQUECIDOS CON DOS CONCENTRACIONES DE 6-BAP, previo a la obtención del título profesional de Ingeniería Agropecuaria/Ambiental/Zootecnia, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCESI el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Ibarra, julio del 2026



f):

YEIKOB SAID SILVA CASTRO

C.C.: 1004413454

DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA ELABORACIÓN, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación de Proyecto de Titulación: EVALUACIÓN DE CULTIVO IN VITRO DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) CON SEGMENTOS NODALES UTILIZANDO MURASHIGE & SKOOG (MS) Y WOODY PLANT MEDIUM (WPM), ENRIQUECIDOS CON DOS CONCENTRACIONES DE 6-BAP, lo propuesto en el Código de Ética de la investigación y el aprendizaje de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, aprobado por el Consejo Superior de la PUCE con fecha de de 2020

Para constancia firma:



f):

Yeikob Said Silva Castro
Estudiante que ejecuta el trabajo de Titulación
C.C/ Pasaporte: 1004413454
Carrera: Ingeniería Agropecuaria

Ibarra, julio del 2026

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE

Contenido

DEDICATORIA.....	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
ÍNDICE	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xiv
RESUMEN	15
ABSTRACT	16
CAPÍTULO I.....	17
INTRODUCCIÓN.....	17
CAPÍTULO II.....	19
OBJETIVOS.....	19
2.1. Objetivo general	19
2.2. Objetivos específicos.....	19
2.3. Hipótesis.....	19
2.3.1. Hipótesis nula (H0)	19
2.3.2. Hipótesis alternativa (Ha).....	20
CAPÍTULO III	21
ESTADO DEL ARTE	21
3.1. Generalidades del arándano variedad Biloxi	21
3.1.1. Características del arándano variedad Biloxi	21
3.2. Propagación del arándano	22
3.2.1. Micropropagación	22
3.2.2. Uso de segmentos nodales como explantes.....	23
3.3. Medios nutritivos empleados en cultivo <i>in vitro</i>	23
3.3.1. Medio Murashige & Skoog.....	24
3.3.2. Woody Plant Medium	24
3.4. 6-bencilaminopurina.....	24

CAPÍTULO IV	26
MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
4.1. Enfoque y tipo de investigación	26
4.2. Localización y duración del experimento.....	26
4.3. Procedimiento experimental.....	27
4.3.1. Recolección y transporte del material vegetal.....	27
4.3.2. Lavado preliminar	28
4.3.3. Desinfección superficial.....	28
4.3.4. Incorporación de la 6-BAP.....	28
4.3.5. Distribución del medio de cultivo	29
4.3.6. Esterilización.....	29
4.3.7. Trasplante de los segmentos nodales, condiciones y seguimiento	29
4.4. Equipos, materiales y reactivos	29
4.5. Preparación de los medios de cultivo	30
4.6. Diseño experimental.....	31
4.7. Tratamientos.....	32
4.8. Variables.....	33
4.8.1. Variables independientes.....	33
4.8.2. Variables dependientes.....	33
CAPÍTULO V	35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
5.1. Análisis estadístico DCA de las variables evaluadas	35
5.1.1. Análisis estadístico del número de brotes	35
5.1.2. Análisis estadístico de la altura de brotes.....	36
5.1.3. Análisis estadístico de la supervivencia	38
5.2. Discusión.....	39
CAPÍTULO VI.....	44
CONCLUSIONES.....	44
CAPÍTULO VII.....	45
RECOMENDACIONES	45
CAPÍTULO VIII	46
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

ANEXOS.....49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de los medios de cultivo utilizadas en el experimento	30
Tabla 2. Estructura del diseño experimental.....	31
Tabla 3. Tratamientos utilizados en el cultivo in vitro de arándano variedad Biloxi	32
Tabla 4. Operacionalización de las variables del estudio	33
Tabla 5. ANOVA de la interacción medios de cultivo y 6-BAP en la evaluación del número de brotes por cada semana	35
Tabla 6. Comparación de Tukey correspondiente al número de brotes.....	36
Tabla 7. ANOVA de la interacción medios de cultivo y 6-BAP en la evaluación de la altura de brotes por cada semana	36
Tabla 8. Prueba de Tukey por concentración	37
Tabla 9. Porcentaje de supervivencia por tratamiento	38
Tabla 10. ANOVA de la interacción medios de cultivo y 6-BAP en la evaluación de la supervivencia por cada semana.....	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización de la Finca “Aranpejo” en el cantón Bolívar en la provincia del Carchi	26
---	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Invernadero de la finca “Aranpejo” en el cantón de Bolívar	49
Anexo 2. Recolección de explantes jóvenes y vigorosos	49
Anexo 3. Equipos y materiales en el proceso de esterilización para su uso en el experimento	50
Anexo 4. Desinfección y lavado de los segmentos nodales para su siembra en el medio de cultivo	50
Anexo 5. Resultados del tratamiento T6 con medio WPM en la semana 3 de evaluación.....	51
Anexo 6. Revisión de la viabilidad de los explantes en la cuarta semana	51
Anexo 7. Medición semanal del crecimiento de los brotes de arándano	52
Anexo 8. Crecimiento de los explantes en las estanterías	52

RESUMEN

La presente investigación evaluó la respuesta in vitro de los segmentos nodales del cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) variedad Biloxi en los medios de cultivo Murashige & Skoog (MS) y Woody Plant Medium (WPM), suplementados con concentraciones de citoquinina 6-bencilaminopurina 6-BAP. Con la finalidad de evaluar crecimiento de brotes bajo condiciones controladas de laboratorio. Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 2 x 3, en donde interactuaron los dos medios de cultivos con las diferentes concentraciones de 6-BAP (0,0; 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹), los frascos se consideraron como las unidades experimentales y las evaluaciones se realizaron semanalmente hasta completar 4 evaluaciones. Las variables fueron el número de brotes, altura de los brotes y porcentaje de supervivencia, las unidades experimentales contaminadas se no consideraron en la evaluación para evitar interpretaciones erróneas. El análisis permitió comprobar que las concentraciones de 6-BAP (1,5 y 3,0 mg·L⁻¹) obtuvieron respuestas en la crecimiento y formación de brotes que en el medio de cultivo nutritivo sin aplicación de 6-BAP. La interacción del medio WPM con la concentración de 6-BAP (3,0 mg·L⁻¹) presentó una mejor formación y crecimiento de los brotes, manteniendo una supervivencia del 100%. El análisis de varianza realizado por semana determinó que la concentración de 6-BAP produjo un efecto significativo sobre el número de brotes en las semanas 3 ($F = 4,111$; $p = 0,044$) y 4 ($F = 6,125$; $p = 0,015$). En la altura de los brotes, el efecto de la concentración hormonal fue significativo desde la semana 2 ($F = 4,246$; $p = 0,040$), se mantuvo en la semana 3 ($F = 5,111$; $p = 0,025$) y fue altamente significativo en la semana 4 ($F = 8,702$; $p = 0,005$). Al finalizar el ensayo, la concentración de 3,0 mg·L⁻¹ alcanzó un promedio de 2,33 brotes y 6,78 mm de altura, mientras que el tratamiento sin 6-BAP registró 1,00 brote y 1,40 mm. Estos resultados demuestran que la concentración de 6-BAP y las características del medio de cultivo influyeron en la respuesta in vitro de los segmentos nodales del arándano variedad Biloxi.

Palabras clave: arándano, cultivo in vitro, micropropagación, segmentos nodales, 6-bencilaminopurina.

ABSTRACT

This study evaluated the *in vitro* response of nodal segments from the 'Biloxi' blueberry cultivar (*Vaccinium corymbosum* L.) cultured on Murashige & Skoog (MS) and Woody Plant Medium (WPM) media supplemented with varying concentrations of the cytokinin 6-benzylaminopurine (6-BAP), with the aim of assessing shoot growth under controlled laboratory conditions. A Completely Randomized Design (CRD) with a 2 x 3 factorial arrangement was used, involving the interaction between the two culture media and three 6-BAP concentrations (0.0, 1.5, and 3.0 mg·L⁻¹); culture vessels served as the experimental units, and assessments were conducted weekly over a total of four evaluations. The variables measured were shoot number, shoot height, and survival percentage; contaminated experimental units were excluded from the evaluation to avoid erroneous interpretations. The analysis showed that 6-BAP concentrations of 1.5 and 3.0 mg·L⁻¹ resulted in superior shoot growth and formation compared to the nutrient medium without 6-BAP. The interaction between WPM and a 6-BAP concentration of 3.0 mg·L⁻¹ yielded the best shoot formation and growth while maintaining 100% survival. Weekly analysis of variance determined that the 6-BAP concentration had a significant effect on the number of shoots during weeks 3 ($F = 4.111$; $p = 0.044$) and 4 ($F = 6.125$; $p = 0.015$). Regarding shoot height, the effect of hormone concentration was significant starting at week 2 ($F = 4.246$; $p = 0.040$), persisted at week 3 ($F = 5.111$; $p = 0.025$), and was highly significant at week 4 ($F = 8.702$; $p = 0.005$). At the end of the trial, the 3.0 mg·L⁻¹ concentration yielded an average of 2.33 shoots and a height of 6.78 mm, whereas the treatment without 6-BAP recorded 1.00 shoot and a height of 1.40 mm. These results demonstrate that the 6-BAP concentration and culture medium characteristics influenced the *in vitro* response of nodal segments from the 'Biloxi' blueberry variety.

Keywords: blueberry, *in vitro* culture, micropropagation, nodal segments, 6-benzylaminopurine.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) es una especie que pertenece a la familia *Ericaceae* que ha adquirido importancia dentro de la elevada producción en la agricultura por su alto valor comercial de los frutos y el contenido de los compuestos bioactivos. Las antocianinas, flavonoides y diferentes compuestos fenólicos presentes en las bayas favorecen al consumo y al posicionamiento en los mercados interesados en adquirir el alimento fresco con estas características. ha incrementado la demanda de plantas homogéneas, vigorosas y con adecuada condición fitosanitaria; por ello, la micropropagación constituye una alternativa para producir material vegetal en condiciones controladas y reducir algunas limitaciones de los métodos convencionales de propagación (Cappai et al., 2020; Correia et al., 2024).

En el Ecuador, el arándano aún se encuentra en una gran etapa de expansión y establecimiento, de acuerdo con el Ministerio de Agricultura y Ganadería, en el año 2021 se registraron alrededor de 50 hectáreas totalmente cultivadas y la mayoría distribuidas en provincias de la Sierra especialmente en la zona norte, contando con una producción aproximada de 750 toneladas y con una alta posibilidad de exportación al mercado internacional. La demanda y la necesidad por aumentar el área cultiva en el país, permite mejorar la adaptación a diferentes condiciones agroecologías, resistencia a enfermedades y fortalecer los métodos utilizados para la micropropagación o multiplicación de plantas de excelente calidad (Ministerio de Agricultura y Ganadería [MAG], 2022).

La respuesta de los segmentos nodales depende de los medios de cultivo nutritivos y de las concentraciones de los reguladores de crecimiento que se aplican. El medio Murashige & Skoog (MS) contiene alta concentración de sales minerales, mientras que el medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM) contiene una mezcla equilibrada de macro, micronutrientes y vitaminas diseñada para especies leñosas y semileñosas. Diversos estudios señalan que la respuesta in vitro depende de la variedad de arándano, por lo que un medio favorable para un

genotipo no necesariamente produce el mismo resultado en otro (Figiel-Kroczyńska et al., 2022; Kharel et al., 2022).

La citoquinina 6-bencilaminopurina (6-BAP) es utilizada para estimular crecimiento celular, reducir la dominancia apical, además favorece el crecimiento y formación de brotes. No obstante, su efecto está altamente relacionado con la concentración aplicada al medio de cultivo (Kharel et al., 2022).

En este contexto, la presente investigación evaluó segmentos nodales de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), variedad Biloxi cultivados en dos medios de cultivo MS y WPM, suplementados con diferentes concentraciones de 6-BAP (0,0; 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹). Se registraron los datos durante 4 semanas, con evaluaciones a los 7, 14, 21 y 28 días, las variables analizadas fueron la supervivencia, número y crecimiento de brotes en los segmentos nodales con la finalidad de identificar el medio de cultivo y la concentración de citoquinina más favorable para la propagación *in vitro*.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Evaluar la interacción de dos medios de cultivo Murashige & Skoog (MS) y Woody Plant Medium (WPM), enriquecidos con diferentes concentraciones de 6-BAP (0,0; 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹) en el desarrollo de los brotes *in vitro* de segmentos nodales de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), variedad Biloxi.

2.2. Objetivos específicos

- Comparar las respuestas de los segmentos nodales que se trasplantaron en los dos medios MS y WPM evaluando brotación, crecimiento y supervivencia de los segmentos nodales.
- Determinar el efecto de las concentraciones de 6-BAP (0,0; 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹) respecto a la brotación, crecimiento y supervivencia de los segmentos nodales.
- Analizar la brotación y crecimiento de los segmentos nodales con la interacción del medio cultivo MS y WPM enriquecido con las concentraciones de 6-BAP (0,0; 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹) para identificar la respuesta más favorable durante la micropropagación *in vitro* de arándano variedad Biloxi.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis nula (H0)

Los medios de cultivo adicionados con 6-BAP no producen diferencias estadísticamente significativas en el número, altura y supervivencia de los brotes de los segmentos nodales de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), de la variedad Biloxi.

2.3.2. Hipótesis alternativa (Ha)

Al menos uno de los medios de cultivo con concentración de 6-BAP produce diferencias estadísticamente significativas en el número, altura y supervivencia de los brotes en los segmentos nodales de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), de la variedad Biloxi.

CAPÍTULO III

ESTADO DEL ARTE

3.1. Generalidades del arándano variedad Biloxi

Es arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) es un cultivo que pertenece a la familia *Ericaceae* y comprende un grupo de arbustos que son cultivados por el interés alimentario y nivel comercial que ofrecen sus bayas. Las variedades disponibles presentan diferencias en su vigor, los requerimientos de frío, su época de maduración y la diferente adaptación que tienen según las condiciones agroclimáticas. Esta variabilidad ha permitido ampliar este cultivo hasta las regiones reconocidas como más productivas y tradicionales, siempre que se seleccionen ejemplares que tengan una excelente respuesta a las condiciones ambientales y manejo local (Correia et al., 2024). Dentro de los denominados arándanos altos se encuentra el grupo conocido como *southern highbush*, desarrollado mediante el cruzamiento de diversas especies de *Vaccinium*. Estos ejemplares se caracterizan por su requerimiento a una acumulación baja de horas frío que los otros arándanos tradicionalmente conocidos, lo cual ayuda a su establecimiento en zonas con inviernos moderados. Sin embargo, el comportamiento que tiene cada cultivo de arándano depende de sus características genéticas como las condiciones bajo las que se somete para debida producción y propagación de material vegetal (Cappai et al., 2020).

3.1.1. Características del arándano variedad Biloxi

La variedad Biloxi es conocida por su forma tetraploide que pertenece al grupo *southern highbush*. Fue desarrollada por programas de mejoramiento del Servicio de Investigación Agrícola del gobierno de los Estados Unidos, se caracteriza por presentar ejemplares que tienen un crecimiento erecto y vigoroso y una temprana producción. Sus frutos son de tamaño medio y presentan algunas características como firmeza, color y sabor. Estas diversas cualidades favorecieron su utilización en las zonas con baja acumulación de frío y con la finalidad de tener cosechas tempranas de este cultivo (Spiers et al., 2002).

La variedad Biloxi presenta una alta capacidad de adaptación a condiciones cálidas o de invierno moderadamente estable, el comportamiento que se obtiene en cultivo *in vitro* no necesariamente es igual al de otros cultivos. La respuesta que se obtiene de una variedad puede cambiar según el origen del explante, la desinfección del explante, medio de cultivo nutritivo, la diferente concentración hormonal y las condiciones de incubación. Por esta razón, los protocolos que existen para la micropropagación deben evaluarse antes de ser aplicados de manera comercial (Cappai et al., 2020).

3.2. Propagación del arándano

El arándano es un cultivo que se puede propagar de manera sexual mediante el uso de semillas o vegetativamente por medio de estacas y técnicas de cultivo de los tejidos. La propagación de semillas se utiliza por los programas de mejoramiento genético principalmente, debido a que las plantas que se obtienen pueden presentar diferentes características en comparación con la planta madre (Correia et al., 2024).

En la producción comercial se prefieren los métodos vegetativos, ya que permiten conservar las características del cultivo. La multiplicación mediante material vegetativo como estacas es uno de los procedimientos convencionales más empleados en este cultivo. No obstante, la eficiencia de este procedimiento puede variar por la edad que tenga el brote, nivel de lignificación, temporada de recolección, humedad, temperatura y las diferentes condiciones de enraizamiento. Además, determinados ejemplares presentan una capacidad baja al momento de producir raíces, lo que prolonga el tiempo necesario para que las plantas puedan estar listas para el trasplante. Estas limitaciones han impulsado el uso del cultivo *in vitro* como una alternativa para multiplicar materiales seleccionados en condiciones controladas (Correia et al., 2024).

3.2.1. Micropropagación

La técnica de micropropagación consiste en el cultivo de pequeñas fracciones o fragmentos de tejido vegetal en recipientes preparado con un medio de cultivo nutritivo en conjunto con las condiciones establecidas para la sanidad o asepsia del lugar donde se vaya a

realizar la práctica, el control de temperatura, iluminación y fotoperiodo. Generalmente este proceso comprende diferentes fases como el establecimiento y desinfección del material vegetal, la multiplicación de los brotes, elongación, enraizamiento y aclimatación (Kharel et al., 2022).

Esta técnica permite la mayor producción de número de plantas en lugares con un tamaño muy reducido y disminuyendo la dependencia que se tiene con respecto a la temporada o época que se adapta el cultivo para producir. También nos ayuda a la propagación de los genotipos que presentan ciertas dificultades al utilizar métodos convencionales. En el arándano se ha comprobado que la respuesta puede tener diversas variaciones respecto a la variedad utilizada, los medios de cultivos utilizados y las diferentes concentraciones de los reguladores de crecimientos aplicados (Cappai et al., 2020).

3.2.2. Uso de segmentos nodales como explantes

Los segmentos nodales son fragmentos extraídos del tallo porque están formados por una o más yemas axilares. La utilización de estos fragmentos en micropropagación permite obtener brotes jóvenes a partir de las estructuras meristemáticas que ya estaban formadas (Kharel et al., 2022).

Los segmentos nodales extraídos influyen en la respuesta de establecimiento el medio porque los explantes jóvenes y con un bajo nivel de lignificación presentan una mejor adaptabilidad al cultivo *in vitro*, aun que pueden ser más vulnerables al momento de aplicar los tratamientos en la fase de desinfección, por esta razón se debe evitar la recolección de ejemplares sin daños físicos, necrosados ni síntomas de enfermedades o señales de deshidratación (González, et al., 2020).

3.3. Medios nutritivos empleados en cultivo *in vitro*

Los medios de cultivo nutritivos establecidos proporcionan agua, sales minerales, vitaminas, fuente de carbono y si es necesario, aporta con pequeñas cantidades de reguladores de crecimiento. Su composición influye en el potencial que tiene un explante para adaptarse y sobrevivir en un ambiente establecido para la formación de brotes jóvenes y nuevos tejidos. Las

formulaciones dependen del cultivo seleccionado, la etapa en la que se encuentre de acuerdo con el protocolo y el tipo de respuesta esperada (Figiel-Kroczyńska et al., 2022).

3.3.1. Medio Murashige & Skoog

El medio Murashige & Skoog, conocida comúnmente como MS, es un medio formulado inicialmente para el crecimiento de los tejidos en el cultivo de tabaco. Se caracteriza por contener cantidades muy altas de nitrógeno y diferentes sales minerales. Por su composición se convirtió en uno de los medios más utilizados en el cultivo de tejidos vegetales, a pesar de que no todas las especies responden a favor de su composición nutricional original (Murashige & Skoog, 1962).

En las especies leñosas y semileñosas, la elevada concentración de las sales minerales puede ocasionar diferentes respuestas, principalmente durante la fase de establecimiento al medio y la elongación de los segmentos nodales. Por esta razón, en algunos protocolos se utiliza el medio MS diluido o se realiza comparaciones con otros resultados que contiene diversas formulaciones y presenta una menor fuerza iónica (Tetsumura et al., 2018).

3.3.2. Woody Plant Medium

El medio Woody Plant Medium fue desarrollado y establecido por Lloyd McCown para facilitar la propagación de los cultivos leñosos. En comparación con MS, este medio presenta una composición moderada de minerales y una menor concentración de macronutrientes, estas características favorecen el uso en las especies arbustivas y frutales, sobre todo en el género *Vaccinium*. Los diferentes protocolos para el cultivo de arándano ponen como uso primordial al medio WPM por sus buenos resultados en la fase de multiplicación. Sin embargo, su desempeño no igual que otros cultivos (Lloyd & McCown, 1980).

3.4. 6-bencilaminopurina

La 6-bencilaminopurina es una citoquinina sintética utilizada en cultivos de tejidos que ayuda a estimular la división celular, favoreciendo a la activación y formación de yemas. La

incorporación de 6-BAP al medio de cultivo favorece al crecimiento del brote principal y ayuda a promover la formación de las nuevas yemas axilares y brotes jóvenes (Fan et al., 2017).

El efecto de 6-BAP durante la propagación in vitro depende de la concentración aplicada con la interacción de los nutrientes establecidos que ya se encuentran en el medio de cultivo. La concentración que no tiene la correcta dosificación no genera resultados positivos en el crecimiento y multiplicación de los brotes, mientras que una alta dosificación produce pequeños brotes y con una menor elongación (Fan et al., 2017).

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Enfoque y tipo de investigación

El proyecto de investigación se realizó bajo un planteamiento de datos cuantitativos y experimentales, debido a la modificación de dos factores controlables: el diferente medio de cultivo utilizado y las dos concentraciones de 6-bencilaminopurina (6-BAP). La respuesta de los segmentos nodales se evaluó mediante las variables de estudio como el número de brotes, crecimiento de los brotes, porcentaje de supervivencia y contaminación (Montgomery, 2019).

El estudio tuvo un alcance comparativo, porque se centró en identificar cuál de las combinaciones entre los medios de cultivo MS y WPM fue la mejor, y determinar la concentración de citoquinina (0,0; 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹) para el crecimiento de los brotes y propagación *in vitro* de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) variedad Biloxi.

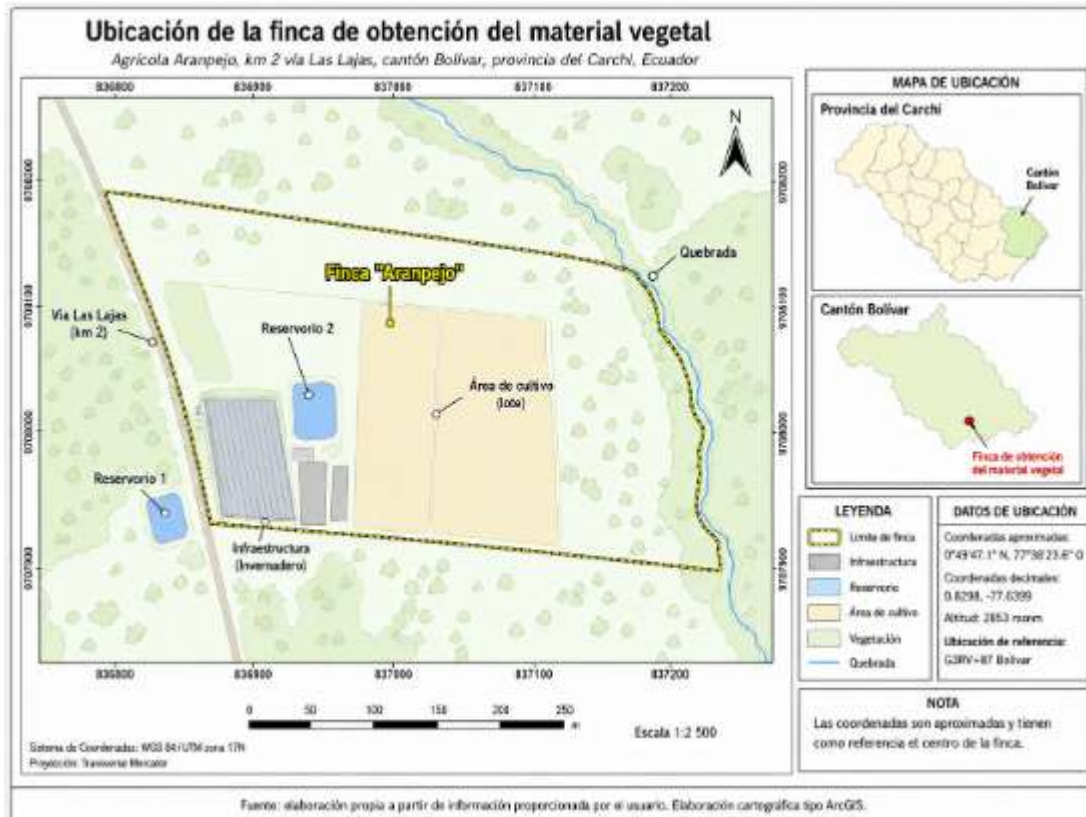
4.2. Localización y duración del experimento

Los segmentos nodales utilizados fueron extraídos de la finca “Aranpejo” (Figura 1) ubicada en el cantón Bolívar, provincia del Carchi. El seguimiento de las variables y control de las muestras se efectuaron a los 7, 14, 21 y 28 días después del trasplante.

La fecha de inicio del experimento fue el 01 de junio del 2026 y la fecha de finalización del experimento fue el 29 de junio del 2026, la primera toma de datos de las variables a evaluar fue el 08 de junio del 2026.

Figura 1.

Localización de la Finca “Aranpejo” en el cantón Bolívar en la provincia del Carchi



Nota. Elaboración propia.

La fase experimental se realizó en el laboratorio de Germoplasma de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador – Sede Ibarra destinado para el proceso de propagación de los meristemas y cultivos in vitro. En estas instalaciones se realizó los procesos de esterilización y siembra de los explantes dentro del medio del cultivo, además de la inoculación de los explantes y del mantenimiento del cuarto especialmente para el crecimiento.

4.3. Procedimiento experimental

4.3.1. Recolección y transporte del material vegetal

Se seleccionaron brotes jóvenes semileñosas de las plantas madre de arándano variedad Biloxi que presentan buen vigor y sin mostrar síntomas visibles por plagas, enfermedades o daños físicos, se trasladó en recipientes que protegen del calor y deshidratación con el fin de conservar la viabilidad de las yemas. Para el corte material vegetal se utilizaron herramientas

esterilizadas en la autoclave dentro de la cámara de flujo laminar (Cappai et al., 2020; Arista Bustamante et al., 2020).

4.3.2. Lavado preliminar

Los brotes fueron lavados con agua y jabón neutro durante un período de 15 a 30 minutos, aplicando una agitación suave para retirar los restos de polvo o tierra si es el caso, restos de materia orgánica y algunos microorganismos de la superficie de las plantas. Después del lavado, el material se lavó con mucho cuidado sin dañar los brotes y eliminando las partes dañadas o en mal estado (Correia et al., 2024).

4.3.3. Desinfección superficial

Los brotes de aproximadamente 2 cm se sometieron a una desinfección secuencial. Primero se colocó en una solución de detergente con agua destilada estéril durante 5 minutos, después se realizó 2 lavados con agua destilada; se siguió con un lavado de hipoclorito de sodio al 1% durante 10 minutos, se realizaron nuevamente 2 lavados con agua destilada estéril y 0,5 mL de Tween 20 durante otros 10 minutos. Finalmente, se realizó un lavado en alcohol etílico al 70% durante 1 minuto y 2 lavados con agua estéril antes de la inoculación (Schuchovski & Biasi, 2019).

4.3.4. Incorporación de la 6-BAP

La 6-bencilaminopurina se disolvió con hidróxido de sodio (NaOH) al 4%, debido a su baja solubilidad en agua. Después de esta preparación se agregó a cada uno de los medios de cultivo MS y WPM en las concentraciones correspondientes 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹, mientras que en los tratamientos testigo no recibieron hormonas y la aplicación dependió del tratamiento asignado para cada frasco (Kharel et al., 2022; Wang et al., 2023).

4.3.5. Distribución del medio de cultivo

Los medios MS y WPM se prepararon con 30 g de sacarosa, 1 g de carbón activado, 6,5 g de agar y la concentración correspondiente de 6-BAP (1,5 y 3,0 mg·L⁻¹). El pH se ajustó en 5,75 para MS y WPM antes de colocarlo en el agar. Después se distribuyeron 30 mL en cada uno de los frascos, se utilizaron nueve frascos con MS y nueve más para WPM, en total 18 frascos considerados como unidades experimentales (Correia et al., 2024).

4.3.6. Esterilización

Los frascos con el medio de cultivo y los materiales que se utilizaron, se esterilizaron en la autoclave a 121 °C y 15 psi, durante un tiempo aproximado de 1 h y 45 min. Al finalizar el proceso, los frascos se dejaron enfriar hasta que el medio se solidificó y se verificó que los medios no presentaron alteraciones, precipitados o defectos de solidificación (Cappai et al., 2020; Correia et al., 2024).

4.3.7. Trasplante de los segmentos nodales, condiciones y seguimiento

La inoculación se realizó dentro de la cámara de flujo laminar desinfectada con cloro y exposición luz UV durante 15 minutos, utilizando pinzas y bisturíes estériles. En cada frasco se colocaron dos segmentos nodales, procurando que la base quedara en contacto con el medio y que las yemas permanecieran orientadas hacia arriba. Al final, los frascos se sellaron e identificaron con el tratamiento, repetición y fecha de establecimiento (Cappai et al., 2020).

Los frascos fueron colocados dentro de un cuarto con las estanterías de luz blanca artificial, programadas con un temporizador para brindar iluminación y de esta manera se pudo aplicar un fotoperiodo de 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad. El seguimiento se realizó durante 4 semanas seguidas, con evaluaciones a los 7, 14, 21 y 28 días, de esta manera se registró las variables de supervivencia, contaminación, oxidación, número y elongación de brotes (Correia et al., 2024).

4.4. Equipos, materiales y reactivos

Para la elaboración del experimento se utilizaron los siguientes equipos: Cámara de flujo laminar Thermo Scientific Heraguard ECO 1.2 con UV, autoclave Tuttnauer 2540ML, balanza digital OHAUS Pioneer PX224/E, pHmetro OHAUS AQUASEARCHER AB23PH-F, refrigerador Thermo Scientific TSX1205G y estanterías con iluminación artificial de luz blanca para el fotoperíodo con 16 horas luz y 8 horas oscuridad.

Entre los materiales de laboratorio se emplearon: Frascos con vidrio transparente autoclavable, con tapa metálica o de polipropileno, frascos para el medio DWK DURAN Original GL 45 con vidrio de borosilicato 3.3; vasos de precipitación con vidrio de borosilicato y capacidad de 1000 mL, probetas de vidrio o polipropileno con capacidades de 100, 500 y 1000 mL, varillas magnéticas IKAFLON 20, 30 y 40, pinzas de acero inoxidable autoclavable, rectas y curvas; bisturí de mango de acero inoxidable con hojas desechables números 10 u 11; micropipetas Gilson PIPETMAN P20, P200 y P1000; papel de aluminio, servilletas, guantes, mascarillas, etiquetas y recipientes para el lavado y la desinfección del material vegetal.

Los reactivos e insumos utilizados fueron las sales comerciales de los medios MS y WPM, sacarosa, agar, carbón activado, 6-BAP, hidróxido de sodio, ácido cítrico, detergente, hipoclorito de sodio 1%, Tween 20, alcohol etílico al 70% y agua destilada estéril.

4.5. Preparación de los medios de cultivo

Los medios MS y WPM se prepararon con el 50 % de la concentración comercial recomendada para uso en el laboratorio.

El carbón activado se mantuvo con una concentración igual para la preparación de los dos medios de cultivo, con la finalidad de tener las mismas condiciones al momento de comparar los resultados. La incorporación de este insumo fue para combatir con la oxidación de los explantes ya que liberaban compuestos fenólicos desde los tejidos lesionados y con el tiempo se evitaba la necrosis completa de los explantes (Cappai et al., 2020; Correia et al., 2024).

Tabla 1.

Composición de los medios de cultivo utilizadas en el experimento

Componente	Medio MS	Medio WPM
Medio basal	2,41 g·L ⁻¹	2,41 g·L ⁻¹
Sacarosa	30 g·L ⁻¹	30 g·L ⁻¹
Carbón activado	1000 mg·L ⁻¹	1000 mg·L ⁻¹
Agar	6,5 g·L ⁻¹	6,5 g·L ⁻¹
6-BAP	0,0; 1,5 o 3,0 mg·L ⁻¹	0,0; 1,5 o 3,0 mg·L ⁻¹
pH	5,76	5,75
Volumen por frasco	30 mL	30 mL

Nota. Elaboración propia. Los medios se utilizaron al 50% de su concentración; solo variaron el medio de cultivo con la dosis de 6-BAP.

4.6. Diseño experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial 2 x 3. El factor A representa al tipo de medio de cultivo, con dos niveles:

- Medio Murashige & Skoog (MS)
- Medio Woody Plant Medium (WPM)

El factor B corresponde a las diferentes concentraciones de 6-bencilaminopurina 6-BAP, con tres niveles de concentraciones:

- 0,0 mg·L⁻¹
- 1,5 mg·L⁻¹
- 3,0 mg·L⁻¹

Tabla 2.

Estructura del diseño experimental

Componente	Descripción
Tipo de diseño	Diseño de Bloques Completamente al Azar
Arreglo factorial	2×3
Factor A	Medio de cultivo
Niveles del factor A	MS y WPM
Factor B	Concentración de 6-BAP
Niveles del factor B	0,0; 1,5 y 3,0 mg·L ⁻¹
Número de tratamientos	6
Repeticiones por tratamiento	3, distribuidas una en cada bloque
Unidades experimentales	18 frascos
Unidad experimental	Frasco de vidrio con medio y dos segmentos nodales
Duración de la evaluación	4 semanas
Días de evaluación	7, 14, 21 y 28 días

Nota. Elaboración propia. El medio MS = Murashige & Skoog; WPM = Woody Plant Medium.

4.7. Tratamientos

La combinación de dos medios de cultivo con las tres concentraciones hormonales generó un total de seis tratamientos. Cada tratamiento se repitió tres veces, por lo que se establecieron 18 unidades experimentales. Cada unidad experimental fue establecida en un frasco de vidrio con 30 mL de medio de cultivo y con dos segmentos nodales. En total se cultivaron 36 explantes.

Tabla 3.

Tratamientos utilizados en el cultivo in vitro de arándano variedad Biloxi

Tratamiento	Medio de cultivo	6-BAP (mg·L ⁻¹)	Número de frascos	Explantos iniciales
T1	MS	0,0	3	6
T2	MS	1,5	3	6
T3	MS	3,0	3	6
T4	WPM	0,0	3	6
T5	WPM	1,5	3	6
T6	WPM	3,0	3	6
Total	—	—	18	36

Nota. Elaboración propia. Cada tratamiento contó con tres frascos y dos explantes por frasco.

4.8. Variables

4.8.1. Variables independientes

- Tipo de medio de cultivo MS y WPM
- Concentraciones de 6-BAP (0,0; 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹)

4.8.2. Variables dependientes

Tabla 4.

Operacionalización de las variables del estudio

Variable	Definición operacional	Unidad o forma de expresión	Unidad evaluada
Número de brotes	Cantidad de brotes visibles desarrollados en el explante viable	Brotes por frasco	Fracos viables
Altura de los brotes	Distancia desde la base hasta el ápice del brote principal	Milímetros (mm)	Fracos viables

Supervivencia	Frascos que conservaron al menos un explante vivo	Porcentaje (%)	18	frascos iniciales
---------------	---	----------------	----	-------------------

Nota. Elaboración propia. Cada frasco aportó un valor por semana; cuando sobrevivieron ambos explantes se utilizó su promedio

Número de brotes

Se registró con el conteo directo de las estructuras visibles que presentaban un crecimiento de las yemas que crecían o se formaban. Cuando los dos explantes seguían viables para la obtención de datos, se calculó la cantidad de brotación de las yemas para obtener el promedio y al final contar con un solo valor por unidad experimental evaluada.

Altura de los brotes

Se midió con una regla en milímetros desde la base hasta el ápice del brote, de los que seguían creciendo y de los que se estaban adaptando al medio.

Supervivencia

Se determinó que los frascos que iban a estar disponibles para la evaluación de esta variable serían los que aún mantenían al menos un explante viable para la evaluación, este resultado se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Supervivencia} = \frac{\text{Frascos con al menos un explante vivo}}{\text{Total de frascos establecidos}} \times 100$$

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Análisis estadístico DCA de las variables evaluadas

5.1.1. Análisis estadístico del número de brotes

Mediante el análisis de varianza (ANOVA) para el número de brotes, se observó que en la semana 3 con fuente de variación 6-BAP ($F = 4,111$; $P\text{-valor} = 0,044$) existen diferencias significativas al igual que en la semana 4 con fuente de variación 6-BAP ($F = 6,125$; $P\text{-valor} = 0,015$), por lo tanto, las diferentes concentraciones de 6-BAP (0,0; 1,5 y 3,0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) tienen un efecto en el número de brotes (Tabla 5).

Tabla 5.

ANOVA de la interacción medios de cultivo y 6-BAP en la evaluación del número de brotes por cada semana

Semana	Fuente de variación	gl	F	P-valor	Significancia
1	Medio de cultivo	1	0,000	1,000	ns
1	6-BAP	2	2,111	0,164	ns
1	Medio $\times$ 6-BAP	2	0,333	0,723	ns
2	Medio de cultivo	1	0,000	1,000	ns
2	6-BAP	2	2,111	0,164	ns
2	Medio $\times$ 6-BAP	2	0,333	0,723	ns
3	Medio de cultivo	1	0,000	1,000	ns
3	6-BAP	2	4,111	0,044	*
3	Medio $\times$ 6-BAP	2	0,333	0,723	ns
4	Medio de cultivo	1	0,125	0,730	ns

4	6-BAP	2	6,125	0,015	*
4	Medio $\times$ 6-BAP	2	0,875	0,442	ns

Nota. F = estadístico de Fisher; gl = grados de libertad. Nivel de significancia 95 %. * estadísticamente significativo.

Tabla 6.

Comparación de Tukey correspondiente al número de brotes

Concentración	Semana 3: número de brotes	Significancia	Semana 4: número de brotes	Significancia
3,0 mg·L ⁻¹	2,17 $\pm$ 0,41	a	2,33 $\pm$ 0,52	a
1,5 mg·L ⁻¹	1,50 $\pm$ 0,84	ab	1,83 $\pm$ 0,75	ab
0,0 mg·L ⁻¹	1,00 $\pm$ 0,63	b	1,00 $\pm$ 0,63	b

Nota. Nivel de significancia 99 %. En las semanas 3 y 4, la concentración de 3,0 mg·L⁻¹ difirió de 0,0 mg·L⁻¹; la concentración intermedia de 1,5 mg·L⁻¹ no difirió significativamente de las otras dos.

5.1.2. Análisis estadístico de la altura de brotes

Mediante el análisis de varianza (ANOVA) para el número de brotes, se observó que en la semana 2 con fuente de variación 6-BAP (F = 4,246; P-valor = 0,040) existen diferencias significativas al igual que en la semana 3 con fuente de variación 6-BAP (F = 5,111; P-valor = 0,025) y semana 4 (F = 8,702; P-valor = 0,005), por lo tanto, las diferentes concentraciones de 6-BAP (0,0; 1,5 y 3,0 mg·L⁻¹) tienen un efecto en el número de brotes (Tabla 7).

Tabla 7.

ANOVA de la interacción medios de cultivo y 6-BAP en la evaluación de la altura de brotes por cada semana

Semana	Fuente de variación	gl	F	P-valor	Significancia
1	Medio de cultivo	1	1,138	0,307	ns
1	6-BAP	2	2,385	0,134	ns
1	Medio $\times$ 6-BAP	2	1,084	0,369	ns
2	Medio de cultivo	1	1,171	0,300	ns
2	6-BAP	2	4,246	0,040	*
2	Medio $\times$ 6-BAP	2	0,685	0,523	ns
3	Medio de cultivo	1	1,167	0,301	ns
3	6-BAP	2	5,111	0,025	*
3	Medio $\times$ 6-BAP	2	0,545	0,594	ns
4	Medio de cultivo	1	3,118	0,103	ns
4	6-BAP	2	8,702	0,005	**
4	Medio $\times$ 6-BAP	2	1,617	0,239	ns

Nota. F = estadístico de Fisher; gl = grados de libertad. Nivel de significancia 95 %. * = estadísticamente significativo y ** = altamente significativo.

Tabla 8.

Prueba de Tukey por concentración

Concentración	Semana 2	Significancia	Semana 3	Significancia	Semana 4	Significancia
3,0 mg·L ⁻¹	3,26 $\pm$	a	4,43 $\pm$	a	6,78 $\pm$	a
	1,50		2,43		4,61	

1,5 mg·L ⁻¹	1,54 ± 0,27	ab	1,65 ± 0,34	ab	2,13 ± 0,49	b
0,0 mg·L ⁻¹	1,23 ± 0,19	b	1,30 ± 0,24	b	1,40 ± 0,32	b

Nota. Concentraciones que comparten al menos una letra no presentan diferencias significativas según Tukey, nivel de significancia 95 %.

5.1.3. Análisis estadístico de la supervivencia

Tabla 9.

Porcentaje de supervivencia por tratamiento

Tratamiento	Semana 1 (%)	Semana 2 (%)	Semana 3 (%)	Semana 4 (%)
T1	100,00	66,67	33,33	33,33
T2	100,00	100,00	66,67	66,67
T3	100,00	100,00	100,00	100,00
T4	100,00	100,00	66,67	66,67
T5	100,00	100,00	100,00	100,00
T6	100,00	100,00	100,00	100,00

Nota. Cada porcentaje se calculó con tres unidades experimentales por tratamiento. Por esta razón, cada unidad representó 33,33 %.

Tabla 10.

ANOVA de la interacción medios de cultivo y 6-BAP en la evaluación de la supervivencia por cada semana

Semana	Fuente de variación	gl	F	P-valor	Resultado
1	Medio de cultivo	1	—	—	No evaluable
1	6-BAP	2	—	—	No evaluable
1	Medio $\times$ 6-BAP	2	—	—	No evaluable
2	Medio de cultivo	1	1,000	0,337	No significativo
2	6-BAP	2	1,000	0,397	No significativo
2	Medio $\times$ 6-BAP	2	1,000	0,397	No significativo
3	Medio de cultivo	1	1,333	0,271	No significativo
3	6-BAP	2	2,333	0,139	No significativo
3	Medio $\times$ 6-BAP	2	0,333	0,723	No significativo
4	Medio de cultivo	1	1,333	0,271	No significativo
4	6-BAP	2	2,333	0,139	No significativo
4	Medio $\times$ 6-BAP	2	0,333	0,723	No significativo

Nota. F = estadístico de Fisher; gl = grados de libertad. Nivel de significancia 95 %. Durante la semana 1 no fue posible calcular el estadístico F porque las 18 unidades experimentales presentaron supervivencia y, por tanto, no existió variación residual.

5.2. Discusión

Los resultados demostraron que la respuesta in vitro de los segmentos nodales de arándano variedad Biloxi cambió progresivamente durante las cuatro semanas de evaluación. En las primeras evaluaciones las diferencias entre concentraciones fueron reducidas; sin embargo, conforme avanzó el ensayo, el efecto de 6-BAP se hizo más evidente en el número y altura de brotes. Por el contrario, el medio de cultivo y la interacción medio $\times$ 6-BAP no presentaron efectos significativos en los ANOVA semanales. Esto indica que, dentro de las

condiciones ensayadas, la concentración hormonal fue el factor que explicó principalmente el crecimiento del material vegetal, aunque descriptivamente algunas combinaciones, especialmente WPM con $3,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de 6-BAP, mostraron un comportamiento superior.

Número de brotes

Durante las semanas 1 y 2, la concentración de 6-BAP no presentó un efecto significativo sobre el número de brotes, con valores de $p = 0,164$ en ambas evaluaciones. Esta respuesta inicial puede relacionarse con el período de adaptación de los explantes a las condiciones del cultivo in vitro, durante el cual las yemas axilares todavía no habían expresado completamente su respuesta al regulador de crecimiento

En la semana 3, el efecto de la 6-BAP fue significativo ($F = 6,125$; $p = 0,015$). En ambas evaluaciones, la concentración de $3,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ presentó un número de brotes significativamente superior al tratamiento sin hormona, mientras que $1,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ mostró una respuesta intermedia.

Los promedios también evidenciaron esta respuesta progresiva. La concentración de $3,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ pasó de 1,83 brotes en la primera semana a 2,33 en la cuarta; la dosis de $1,5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ aumentó de 1,50 a 1,83 brotes, mientras que el tratamiento sin 6-BAP permaneció con un promedio de 1,0 brote. Esto permite señalar que la aplicación de 6-BAP favoreció principalmente la activación y formación de nuevas yemas axilares a partir de la tercera semana, más que durante el establecimiento inicial de los explantes.

Este comportamiento concuerda con Arista Bustamante et al. (2020), quienes determinaron que la respuesta de los segmentos nodales de Biloxi, Legacy, Star y Bluecrop estuvo condicionada por el tipo y la concentración de citoquinina. Aunque esos autores utilizaron diferentes formas de zeatina y no 6-BAP, encontraron que una concentración adecuada aumentó el número de brotes y otras variables de crecimiento. Por tanto, ambos trabajos coinciden en que la estimulación hormonal es necesaria para superar la brotación limitada observada en medios sin citoquininas.

Los resultados también guardan relación con Kharel et al. (2022), quienes comprobaron que la incorporación de BAP incrementó la producción de brotes en las variedades Farthing y

Legacy. En dicho estudio, la concentración más favorable varió entre 4,0 y 8,0 mg·L⁻¹ según la variedad y el explante. En el presente ensayo, 3,0 mg·L⁻¹ fue la mejor concentración dentro de la evaluación; no obstante, no debe considerarse todavía como a dosis óptima definitiva para Biloxi, debido a que no se probaron concentraciones superiores ni intermedias cercanas a ese valor. La diferencia entre ambos estudios reafirma que la respuesta al BAP depende del explante y medio nutritivo.

Asimismo, Schuchovski & Biasi (2019) observaron en el arándano ‘Delite’ que la zeatina y el 2-iP produjeron mejores respuestas que el BAP durante el establecimiento. El contraste con la respuesta favorable obtenida en Biloxi confirma que una misma citoquinina no se comporta de forma uniforme en todos los genotipos de *Vaccinium*. En consecuencia, la eficiencia de 3,0 mg·L⁻¹ encontrada en esta investigación debe interpretarse como una respuesta específica de la variedad Biloxi y de las condiciones del ensayo.

Altura de los brotes

En la altura de los brotes se observó una respuesta hormonal más temprana que en el número de brotes. Durante la semana 1 no se encontraron diferencias significativas por efecto de la 6-BAP ($p = 0,134$), sin embargo, la concentración hormonal fue significativa en la semana 2 ($F = 4,246$; $p = 0,005$). Por tanto, la elongación de los brotes comenzó a diferenciarse estadísticamente antes que su multiplicación.

La altura promedio con 3,0 mg·L⁻¹ aumentó de 2,08 mm en la primera semana a 6,78 mm en la cuarta evaluación. En comparación, la concentración de 1,5 mg·L⁻¹ alcanzó 2,13 mm y el tratamiento sin hormona solamente 1,40 mm. En las semanas 2 y 3, Tukey separó a 3,0 mg·L⁻¹ del tratamiento sin 6-BAP, mientras que 1,5 mg·L⁻¹ mostró un comportamiento intermedio. En la cuarta semana, 3,0 mg·L⁻¹ fue significativamente superior a las otras dos concentraciones, que compartieron el mismo grupo estadístico.

El incremento progresivo de la altura coincide con la función de las citoquininas en la división celular, activación de yemas y desarrollo de nuevos brotes. Correia et al. (2024) señalan que la respuesta durante la micropropagación de *Vaccinium* depende del tipo de regulador, u

concentración, el medio y el genotipo utilizado. Los resultados obtenidos demuestran que 3,0 mg·L⁻¹ se mantuvo dentro de un intervalo favorable para Biloxi, ya que no se observó una reducción de la elongación ni síntomas evidentes de inhibición hormonal durante las cuatro semanas.

La respuesta obtenida también se aproxima a la observada por Kharel et al. (2022), quienes encontraron que la combinación de WPM con BAP promovió la formación de brotes de Farthing y Legacy. Sin embargo, las dosis óptimas variaron, por lo que la respuesta obtenida en Biloxi no debe extrapolarse directamente a otras variedades. Del mismo modo, Wang et al. (2023) comprobaron que la formulación del medio y los reguladores de crecimiento modificaron conjuntamente la inducción, número y longitud de los brotes de arándano.

Supervivencia de las unidades experimentales

La supervivencia fue del 100 % en todos los tratamientos durante la primera semana, por lo que no existió variación suficiente para calcular el ANOVA. En las evaluaciones posteriores, el medio, la concentración de 6-BAP y su interacción no mostraron efectos significativos. En las semanas 3 y 4, el efecto de 6-BAP presentó $p = 0,139$, valor superior al nivel de significancia de 0,05. Por esta razón, las diferencias porcentuales observadas deben interpretarse descriptivamente y no como una demostración estadística de que las concentraciones altas aumentaron la supervivencia.

Descriptivamente, T3, T5 y T6 mantuvieron el 100 % de las unidades experimentales viables hasta la cuarta semana; T2 y T4 finalizaron con 66,67 %, mientras que T1 alcanzó solamente 33,33 %. El medio WPM presentó 88,89 % de supervivencia promedio en las semanas 3 y 4, frente a 66,67 % en MS. Asimismo, la concentración de 3,0 mg·L⁻¹ conservó el 100 %, mientras que 0,0 mg·L⁻¹ registró 50 %. Sin embargo, cada frasco representó 33,33 % del tratamiento, por lo que la pérdida de una sola unidad ocasionó cambios porcentuales considerables y redujo la precisión de las comparaciones.

Correia et al. (2024) destacan que la supervivencia durante el establecimiento no depende exclusivamente del regulador hormonal, sino también del estado fisiológico del

explante, la planta madre, la desinfección, el daño ocasionado durante el corte. Esta interpretación explica por qué los porcentajes de supervivencia variaron incluso entre frascos pertenecientes a un mismo tratamiento. Además, Tetsumura et al. (2018) encontraron que la supervivencia respondió de manera diferente al medio según la variedad de arándano, lo cual vuelve a demostrar la importancia del componente genético y de las condiciones específicas del protocolo.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

La concentración de 6-BAP fue el factor que influyó principalmente en el desarrollo in vitro de los segmentos nodales de arándano variedad Biloxi. Su efecto sobre el número de brotes fue significativo en las semanas 3 y 4, mientras que para la altura fue significativo desde la semana 2 y altamente significativo en la semana 4.

La concentración de 3,0 mg·L⁻¹ de 6-BAP presentó los mejores resultados dentro de las dosis evaluadas. En la cuarta semana alcanzó un promedio de 2,33 brotes y una altura de 6,78 mm, superando principalmente al tratamiento sin aplicación de hormona.

El medio de cultivo y la interacción medio x 6-BAP no presentaron diferencias estadísticamente significativas en el número ni en la altura de los brotes. Por esta razón, la respuesta obtenida se atribuyó principalmente a la concentración de 6-BAP y no exclusivamente al uso de MS o WPM.

La combinación T6, correspondiente a WPM con 3,0 mg·L⁻¹ de 6-BAP, mostró el mejor comportamiento descriptivo al presentar mayor crecimiento, 100 % de supervivencia y ausencia de contaminación. Sin embargo, al no existir una interacción significativa entre el medio y la hormona, no puede afirmarse que T6 fue estadísticamente superior por efecto conjunto de ambos factores.

La supervivencia no presentó diferencias estadísticamente entre los factores evaluados, No obstante, T3, T5 y T6 conservaron descriptivamente el 100 % de sus unidades experimentales viables, mientras que T1 finalizó con 33,33 %. El reducido número de tres repeticiones por tratamiento limitó la precisión de esta variable.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

Utilizar el medio WPM con la concentración $3,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de 6-BAP como base primordial para futuros proyectos de cultivo in vitro de arándano variedad Biloxi, debido a su gran respuesta de adaptación, viabilidad, multiplicación y crecimiento general de los explantes. Las concentraciones que estén cerca a la mayor dosis de citoquinina $3,0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de 6-BAP, para determinar con mayor precisión la dosis óptima y verificar si las concentraciones más altas puedan incrementar la multiplicación y elongación de brotes sin afectar su calidad.

Aumentar el número de las repeticiones para obtener más unidades experimentales y de esta manera aumentar el periodo de evaluación, con el propósito de mejorar los resultados estadísticos y confirmar las diferencias evaluadas en la supervivencia, contaminación, multiplicación y altura de los brotes.

Continuar con las fases de enraizamiento y aclimatación, debido a que la elevada formación de brotes no garantiza la obtención de la planta completa y apta para su establecimiento en condiciones de invernadero y campo.

Para reducir o controlar la contaminación de los explantes de arándano variedad Biloxi, se recomienda seleccionar ejemplares jóvenes provenientes de plantas madre de buena calidad productiva y sin presencia de enfermedad o con presencia de plagas, evitar la recolección de los segmentos nodales en época lluviosa y cuidar los tejidos vegetales de la deshidratación, dentro del laboratorio realizar un lavado para eliminar restos o residuos orgánicos que se encuentran en la superficie de los tejidos. Ajustar la concentración y tiempo de exposición al hipoclorito de sodio, evitando periodos extensos que pueden dañar las yemas jóvenes.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arista Bustamante, J. P., Leiva Espinosa, S. T., Guerrero Abad, J. C., y Collazos Silva, R. (2020). Efecto de las citoquininas en la multiplicación in vitro de cuatro variedades de *Vaccinium corymbosum*, a partir de segmentos nodales. *Revista Científica UNTRM: Ciencias Naturales e Ingeniería*, 2(2), 55–62. doi: 10.25127/ucni.v2i2.520
- Cappai, F., García, A., Cullen, R., Davis, M., & Muñoz, P. R. (2020). Advancements in low-chill blueberry *Vaccinium corymbosum* L. tissue culture practices. *Plants*, 9(11), 1624. <https://doi.org/10.3390/plants9111624>
- Correia, S., Matos, M., y Leal, F. (2024). Advances in blueberry (*Vaccinium* spp.) in vitro culture: A review. *Horticulturae*, 10(6), 533. doi: 10.3390/horticulturae10060533
- Fan, S., Jian, D., Wei, X., Chen, J., Beeson, R. C., Zhou, Z., & Wang, X. (2017). Micropropagation of blueberry ‘Bluejay’ and ‘Pink Lemonade’ through in vitro shoot culture. *Scientia Horticulturae*, 226, 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.052>
- Figiel-Kroczyńska, M., Krupa-Mańkiewicz, M., y Ochmian, I. (2022). Efficient micropropagation protocol of three cultivars of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(4), 12856. doi: 10.15835/nbha50412856
- González, M. V., López, M., Valdes, A. E., & Ordas, R. J. (2020). Micropropagation of three berry fruit species using nodal segments from field-grown plants. *Annals of Applied Biology*, 137(1), 73–78. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2000.tb00059.x>
- Kharel, P., Creech, M. R., Nguyen, C. D., Vendrame, W. A., Muñoz, P. R., y Huo, H. (2022). Effect of explant type, culture medium, and BAP concentration on in vitro shoot

- development in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivars. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 58, 1057–1065. doi: 10.1007/s11627-022-10299-0
- Lloyd, G., y McCown, B. H. (1980). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Combined Proceedings of the International Plant Propagators' Society*, 30, 421–427.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería. (2022). Ecuador entra a competir en el mercado internacional de arándanos. Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador. Obtenido de: <https://www.agricultura.gob.ec/ecuador-entra-a-competir-en-el-mercado-internacional-de-arandanos/>
- Murashige, T., y Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497. doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., y Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. doi: 10.1038/nmeth.2089
- Schuchovski, C. S., & Biasi, L. A. (2019). In vitro establishment of ‘Delite’ rabbiteye blueberry microshoots. *Horticulturae*, 5(1), 24. <https://doi.org/10.3390/horticulturae5010024>
- Spiers, J. M., Stringer, S. J., Draper, A. D., y Gupton, C. L. (2022). ‘Biloxi’ southern highbush blueberry. *Acta Horticulturae*, 574, 153–155. doi: 10.17660/ActaHortic.2002.574.21
- Tetsumura, T., Matsumoto, Y., Sato, M., Honsho, C., Yamashita, K., Komatsu, H., Sugimoto, Y., & Kunitake, H. (2018). Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 119(1), 72–74. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.06.028>

Wang, Y., Zhang, X., Jiang, Z., Yang, X., Liu, X., Ou, X., Su, W., y Chen, R. (2023). Establishment and optimization of micropropagation system for southern highbush blueberry. *Horticulturae*, 9(8), 893. doi: 10.3390/horticulturae9080893

ANEXOS

Anexo 1.

Invernadero de la finca “Aranpejo” en el cantón de Bolívar



Nota. Elaboración propia.

Anexo 2.

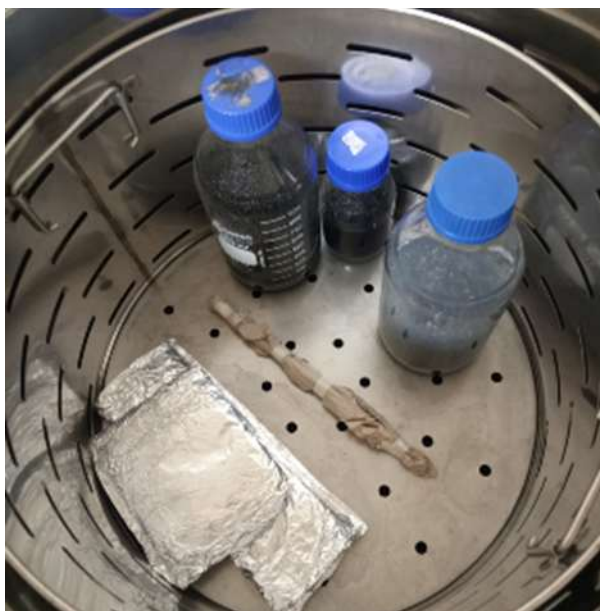
Recolección de explantes jóvenes y vigorosos



Nota. Elaboración propia.

Anexo 3.

Equipos y materiales en el proceso de esterilización para su uso en el experimento



Nota. Elaboración propia.

Anexo 4.

Desinfección y lavado de los segmentos nodales para su siembra en el medio de cultivo



Nota. Elaboración propia.

Anexo 5.

Resultados del tratamiento T6 con medio WPM en la semana 3 de evaluación



Nota. Elaboración propia.

Anexo 6.

Revisión de la viabilidad de los explantes en la cuarta semana



Nota. Elaboración propia.

Anexo 7.

Medición semanal del crecimiento de los brotes de arándano

**Anexo 8.**

Crecimiento de los explantes en las estanterías



Nota. Elaboración propia.