



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES
CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PROPAGACIÓN IN VITRO DEL CULTIVO DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L) EN EL CANTÓN CEVALLOS PROVINCIA TUNGURAHUA

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniero/a Agrónomo/a

Autores:

Cayo Toaquizza Nallely Yamilex

Peralta Piedmag Eduardo Antonio

Tutor:

Ing. Espinosa Cunuhay Kleber Augusto MSc.

LA MANÁ-ECUADOR
FEBRERO-2021

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Nosotros, Cayo Toaquiza Nallely Yamilex y Peralta Piedmag Eduardo Antonio, declaramos ser los autores del presente proyecto de investigación “PROPAGACIÓN IN VITRO DEL CULTIVO DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L) EN EL CANTÓN CEVALLOS PROVINCIA TUNGURAHUA”, siendo el Ing. Kleber Augusto Espinosa Cunuhay tutor del presente trabajo, y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certificamos que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo son de nuestra exclusiva responsabilidad.



Cayo Toaquiza Nallely Yamilex
C.I:050405262-2



Peralta Piedmag Eduardo Antonio
C.I: 172653839-8

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte, Cayo Toaquiza Nallely Yamilex identificada/o con C.C. N° 050405262-2, y Peralta Piedmag Eduardo Antonio identificada/o con C.C. N° 172653839-8 de estado civil solteros y con domicilio en Latacunga, a quien en lo sucesivo se denominará **LA/EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ph.D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA/EL CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de **Ingeniería Agronómica**, titulares de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**Propagación in vitro del cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L) en el Cantón Cevallos Provincia de Tungurahua**” la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico. – Febrero 2016-Marzo 2021.

Aprobación HCA.-

Tutor.- Ing. MSc. Kleber Augusto Espinosa Cunuhay

Tema: “**Propagación in vitro del cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L) en el Cantón Cevallos Provincia de Tungurahua**”

CLÁUSULA SEGUNDA.- LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA.- Por el presente contrato, **LA/EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA.- OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA/EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.

b) La publicación del trabajo de grado.

c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA.- El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA.- El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA.- CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD.- Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA.- LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.- LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA.- El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en las cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la

resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA.- En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA.- Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga a los 10 días del mes de Marzo del 2021



Cayo Toaquiza Nallely Yamilex
EL CEDENTE



Peralta Piedadmag Eduardo Antonio
EL CEDENTE

Ph. D. Nelson Rodrigo Chiguano Umajinga
EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En la calidad de tutor del trabajo de Investigación sobre el título:

“PROPAGACIÓN IN VITRO DEL CULTIVO DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum L*) EN EL CANTÓN CEVALLOS PROVINCIA TUNGURAHUA”, de los señores Cayo Toaquiza Nallely Yamilex y Peralta Piedmag Eduardo Antonio, de la carrera de Ingeniería Agronómica, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requisitos metodológicos y aportes científicos- técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación de tribunal de Validación de Proyectos que el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe para su correspondiente estudio y calificación.

La Maná, 15 de febrero del 2021



Ing. Mg. Kleber Augusto Espinosa Cunuhay
CI: 0502612740
TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACION

En calidad del Tribunal de Lectores, aprueban el presente informe de investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales: por cuenta de los postulantes Cayo Toaquiza Nallely Yamilex y Peralta Puedmag Eduardo Antonio, con el Título de Proyecto de Investigación, “PROPAGACIÓN IN VITRO DEL CULTIVO DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L) EN EL CANTÓN CEVALLOS PROVINCIA TUNGURAHUA” ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto Sustentación del Proyecto.

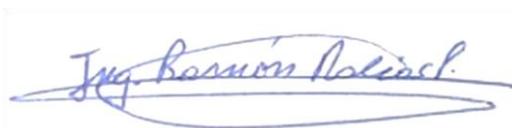
Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

La Maná, febrero.2021

Para constancia firman:



Ing. Tapia Ramírez Cristian Santiago
C.I:050278441-6
LECTOR 1 PRESIDENTE



Ing. Macías Pettao Ramón Klever
C.I:091074328-5
LECTOR 2 MIEMBRO



Ing. Pincay Ronquillo Wellington Jean
C.I:120638458-6
LECTOR 3 SECRETARIO

AGRADECIMIENTO

A Dios quien nos hizo más valientes en todas las adversidades presentadas en el trayecto de esta etapa de nuestras vidas, a nuestros padres y hermanos que con su amor y trabajo nos educaron y apoyaron en toda nuestra formación profesional.

Al Ing. Eduardo Quinatoa quien fue un pilar más para poder concluir esta investigación gracias por su experiencia y sus enseñanzas durante la culminación de esta etapa.

También queremos expresar nuestro agradecimiento más sincero a la Universidad Técnica de Cotopaxi por haber sido la casa del saber al mismo tiempo un agradecimiento muy especial a todos los docentes por tener el don y la capacidad de ser verdaderos maestros y por compartir con todos nosotros sus alumnos dejando huellas y enseñanzas del saber.

**Nallely
Eduardo**

DEDICATORIA

A Dios por darnos cada día su bendición la vida, sabiduría y fortaleza para culminar con éxito una etapa más de nuestras vidas.

A nuestros padres por habernos forjado en las personas que somos en la actualidad que con su amor infinito y apoyo incondicional nos motivaron día a día a culminar esta meta, por medio de este escrito demostramos nuestro compromiso y gratitud ante todo su trabajo y apoyo económico, que gracias a ellos llegamos a ser profesionales.

Gracias padres amados.

**Nallely
Eduardo**

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TEMA: PROPAGACIÓN IN VITRO DEL CULTIVO DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum L*) EN EL CANTÓN CEVALLOS PROVINCIA TUNGURAHUA.

Autores:

Cayo Toaquiza Nallely Yamilex

Peralta Piedmag Eduardo Antonio

RESUMEN

La investigación se realizó en el laboratorio de biotecnología “VITRO Plantas”, en las coordenadas geográficas latitud 1°25’0” Sur, longitud 78°35’22” Oeste con una altitud de 2855msnm, ubicado en el Barrio San Fernando, cantón Cevallos, provincia de Tungurahua. El arándano (*Vaccinium corymbosum L*), se ha convertido en una fruta muy apetecible debido a los beneficios que aporta tanto en la salud como en la economía de la sociedad, su propagación se ha visto afectada por la pérdida de calidad de la planta y de sus frutos, por esta razón se desarrolló la investigación teniendo como objetivo desarrollar la propagación in vitro de esta especie, elaborar un protocolo de propagación para el cultivo de arándano, evaluar el medio de cultivo adecuado para la multiplicación in vitro de arándano, utilizando diferentes tipos de hormonas de crecimiento y determinar el mejor medio de cultivo y la mejor hormona de crecimiento para la propagación del cultivo de arándano, se validó la etapa de establecimiento in vitro y se incluyó el uso de desinfectantes más efectivos como la combinación de agua destilada, alcohol al 70% e hipoclorito de sodio al 70%, con las micro estacas establecidas asépticamente se evaluó el efecto de tres hormonas de crecimiento en los diferentes tratamientos MS1.5g/L, (Z)1mg/L, (2iP)2.5mg/L, (AIA)1mg/L; WPM2g/L, (Z)1mg/L, (2iP)2.5mg/L, (AIA)1mg/L; observando que el tratamiento 4 (WPM+Z) fue muy efectivo para la brotación y multiplicación, mejora las condiciones nutricionales del cultivo reflejando resultados en mayor crecimiento y mejor apariencia de los brotes cabe mencionar que las debidas condiciones de esterilización dan como resultado un 4% de contaminación in vitro.

Palabras claves: Arándano, in vitro, explante, hormonas, brotación.

ABSTRACT

The research was carried out in the “VITRO Plantas” biotechnology laboratory in the geographical coordinates latitude 1°25,0 south, longitude 78°35,22” west with an altitude of 2855 masl (meters above the sea level) located in the San Fernando neighborhood of Cevallos canton, Tungurahua province. The blueberry (*Vaccinium corymbosum* L) has become a very appetizing fruit due to the benefits it brings to both health and the economy of society, its propagation has been affected by the loss of quality of the plant and its fruits due to this reason, the research was developed with the objective of developing the in vitro propagation of this species, develop a propagation protocol for the cultivation of blueberry, evaluate the appropriate culture medium for in vitro multiplication of blueberry, the in vitro establishment stage was validated and the use of more effective disinfectants such as the combination of distilled water, 70% alcohol and 70% sodium hypochlorite with the aseptically established micro stakes, the effect of 3 growth hormones in the different treatments was evaluated, observing that the 4 (WPM+Z) treatment was very effective for sprouting and multiplication, it improves the nutritional conditions of the crop reflecting results in higher growth and better appearance of the sprouts, it should be mentioned that the proper sterilization conditions result in 4% in vitro contamination.

Keywords: blueberry, in vitro, explant, hormones, sprouting



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal CERTIFICO que: La traducción del resumen del proyecto de investigación al idioma Inglés presentado por los estudiantes Egresados de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Cayo Toaquiza Nallely Yamilex y Peralta Piedmag Eduardo Antonio, cuyo título versa “PROPAGACIÓN IN VITRO DEL CULTIVO DE ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum L*) EN EL CANTÓN CEVALLOS PROVINCIA TUNGURAHUA”, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a los peticionarios hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimaren conveniente.

La Maná, Febrero del 2021

Atentamente,

MSc. Ramón Amores Sebastián Fernando
C.I: 050301668-5
DOCENTE DEL CENTRO DE IDIOMAS

ÍNDICE GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	I
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	II
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	V
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACION.....	VI
AGRADECIMIENTO	VII
DEDICATORIA	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
AVAL DE TRADUCCIÓN.....	XI
ÍNDICE DE TABLA	XV
ÍNDICE DE FIGURA	XVI
ÍNDICE DE ANEXOS	XVI
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	3
4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	4
5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	4
6. OBJETIVOS	5
7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	6
8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	7
8.1. ARÁNDANO (<i>VACCINIUM CORYMBOSUM L.</i>).....	7
8.1.1. GENERALIDADES	7
8.2. SITUACIÓN DE CULTIVO EN EL ECUADOR	7
8.2.1. CULTIVOS DE ARÁNDANO EN EL ECUADOR.....	7
8.3. BOTÁNICA	9
8.3.1. RAÍZ.....	9
8.3.2. HOJAS	10
8.3.3. FLORES	10
8.3.4. FRUTO.....	10
8.4. REQUERIMIENTOS EDAFOCLIMÁTICAS.....	10
8.4.1. HORAS FRÍO.....	10
8.4.2. SUELO	11
8.4.3. CLIMA.....	11
8.4.4. AGUA.....	11
8.5. PLAGAS Y ENFERMEDADES	12
8.5.1. PLAGAS.....	12
8.5.1.2. Gallina ciega (<i>Anamola scarabaeidae</i>)	12
8.5.1.3. Trips de las flores (<i>Thysanoptera</i>).....	12
8.5.1.4. Mosca de la fruta (<i>Anastrepha fraterculus</i> y <i>Ceratitis capitata</i>).....	12
8.5.2. ENFERMEDADES.....	12
8.5.2.1. Moho gris (<i>Botrytis cinerea</i>)	12
8.5.2.2. Tizón tardío o mildiu (<i>Phytophthora sp.</i>).....	13
8.5.2.3. Tizón temprano (<i>Alternaria tenuissima</i>)	13
8.5.2.4. Roya (<i>Pucciniastrum vaccinii</i>)	13
8.5.2.5. Antracnosis (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>).....	13
8.5.2.6. Agalla de corona (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>).....	14
8.6. MEDIO DE CULTIVO Y HORMONAS	14

8.6.1.	MURASHIGE Y SKOOG.....	14
8.6.2	WOODY PLANT MEDIUM.....	14
8.6.3.	ZEATINA	15
8.6.4.	(2-ISOPENTENILO) ADENINA.....	15
8.6.5.	ÁCIDO INDOL ACÉTICO.....	15
8.6.6.	ÁCIDO INDOL BUTÍRICO.....	15
8.6.7.	SACAROSA	16
8.6.8.	AGAR.....	16
8.7.	PROPAGACIÓN	16
8.7.1.	PROPAGACIÓN POR ACODO	16
8.7.2.	PROPAGACIÓN POR ESTACAS.....	17
8.7.3.	SELECCIÓN DE PLANTAS MADRES.....	17
8.7.4.	PROPAGACIÓN POR RAÍZ O FRAGMENTOS DE TALLO SUBTERRÁNEO.....	17
8.8.	ETAPAS DEL CULTIVO IN VITRO.....	17
8.8.1.	SELECCIÓN DEL EXPLANTE	17
8.8.2.	DESINFECCIÓN	18
8.8.3.	ESTABLECIMIENTO IN VITRO	18
8.8.4.	MULTIPLICACIÓN.....	18
8.8.5.	ENRAIZAMIENTO.....	18
8.8.5.1.	In vitro	19
8.8.5.2.	Ex vitro	19
8.8.6.	A-CLIMATIZACIÓN	19
8.8.6	CULTIVO DE MERISTEMOS	19
9.	PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.....	20
10.	METODOLOGÍAS.....	20
10.1.	UBICACIÓN Y DURACIÓN DEL ENSAYO.....	20
10.2.	CONDICIONES AGRO-METEOROLÓGICAS.....	21
10.3.	MATERIALES Y EQUIPOS	22
10.4.	TRATAMIENTOS	22
10.5.	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	23
10.6.	ESQUEMA DEL EXPERIMENTO	23
10.7.	MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	23
10.8.	MANEJO METODOLÓGICO DEL ENSAYO	25
10.8.1.	SELECCIÓN Y PREPARACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL DE PARTIDA.....	25
10.8.2.	ÁREA DE LAVADO Y DESINFECCIÓN	25
10.8.3.	ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO ASÉPTICO.....	25
10.8.4.	PRIMERA DESINFECCIÓN	25
10.8.5.	INGRESO Y DESINFECCIÓN DE LA CÁMARA DE FLUJO LAMINAR.....	26
10.8.6.	INTRODUCCIÓN DEL MATERIAL IN VITRO	26
10.8.7.	SIEMBRA DEL EXPLANTE EN EL MEDIO DE CULTIVO	26
10.8.8.	TRASLADO AL CUARTO DE CRECIMIENTO.....	27
10.8.8.1.	Número de explantes contaminados (NEC).....	27
10.8.8.2.	Fase de multiplicación	27
10.9.	VARIABLES A EVALUAR	28
10.9.1.	ALTURA DE BROTE (MM Y CM)	28
10.9.2	NÚMERO DE HOJAS POR EXPLANTE	28
10.9.3	NÚMERO DE BROTES FORMADOS POR EXPLANTE	28
10.9.4	PORCENTAJE DE CONTAMINACIÓN	29
11.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	29

11.1.	VARIABLES AGRONÓMICAS. NÚMERO DE EXPLANTES CONTAMINADOS (NEC) A LOS 2 3 DÍAS, ANTES DE INGRESAR EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN.	29
11.2.	VARIABLE DE LONGITUD DE LOS BROTES (LB) DURANTE LOS 70 DÍAS QUE SE ENCO NTRABA EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN.	30
11.3.	VARIABLE DEL NÚMERO DE BROTES POR EXPLANTE (NBE) DURANTE LOS 70 DÍAS QUE SE ENCONTRABA EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN.	32
11.4.	VARIABLE DEL NÚMERO DE HOJAS POR EXPLANTE (NHE) A LOS 70 DÍAS DE HABERSE ENCONTRADO EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN.	33
11.5.	PROTOCOLO ESTABLECIDO.	34
12.	ANÁLISIS DE COSTO.	37
13.	IMPACTO.	37
14.	PRESUPUESTO.	39
15.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	40
15.1.	CONCLUSIONES.	40
15.2.	RECOMENDACIONES.	41
16.	BIBLIOGRAFIA.	42
17.	ANEXOS.	46

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1: Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.....	6
Tabla 2: Composición nutricional del arándano.....	9
Tabla 3: Condiciones agro meteorológicas del cantón cevallos.....	21
Tabla 4: Condiciones agro-meteorológicas en el laboratorio.....	21
Tabla 5: Factores en estudio.....	22
Tabla 6: Tratamientos de la investigación.....	22
Tabla 7: Esquema de análisis de varianza.....	23
Tabla 8: Esquema del experimento.....	23
Tabla 9: Dosis de cada una de las hormonas y combinación que se realizó en la fase de multiplicación.....	28
Tabla 10: Resultado del número de explantes contaminados (nec) a los 30 días antes de entrar a la fase de multiplicación.....	30
Tabla 11: Resultado de la variable de longitud de los brotes (lb) durante los 70 días.....	31
Tabla 12: Resultado de la variable del número de brotes por explante (nbe) a los 70 días.....	32
Tabla 13: Resultado de a variable del número de hojas por explante (nhe) a los 70 días.....	33
Tabla 14: Análisis de costos de la investigación.....	37
Tabla 15: Presupuesto de la investigación.....	39

ÍNDICE DE FIGURA

Figura 1: Porcentaje de explantes contaminados a días de ser transferido a la fase de multiplicación.	30
--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Hoja de vida del docente tutor	46
Anexo 2: Hoja de vida del estudiante investigador	47
Anexo 3: Hoja de vida del estudiante investigador	48
Anexo 4: Preparación del material vegetativo de partida del arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i> l).....	49
Anexo 5: Fase de esterilización del material vegetativo de partida.....	50
Anexo 6: Fase de introducción in vitro	51
Anexo 7: Fase de multiplicación del arándano.....	52
Anexo 8: Fotografías de los diferentes tratamientos	54
Anexo 9: Toma de datos de las variables a evaluar.....	56
Anexo 10: Fase de enraizamiento.....	57
Anexo 11: Fase de a-climatización.....	58
Anexo 12. Análisis del anti-plagió	60

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del proyecto

“Propagación in vitro del cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum L*) en el Cantón Cevallos Provincia Tungurahua.”

Tiempo de ejecución: 6 meses

Fecha de inicio: Septiembre 2020

Fecha de finalización: Febrero 2021

Lugar de ejecución: Laboratorio de biotecnología que se encuentra ubicado en el
Cantón Cevallos
Provincia Tungurahua

Facultad que auspicia: Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia: Ingeniería Agronómica

Proyecto de investigación vinculado: Al Sector Agrícola

Equipo de trabajo: Cayo Toaquiza Nallely Yamilex

Peralta Piedmag Eduardo Antonio

Tutor: Ing. Kleber Augusto Espinosa Cunuhay

Tutor externo: Ing. Quinatoa Lozada Eduardo Fabián

Área de Conocimiento: Agricultura, Silvicultura, Pesca y Veterinaria

Línea de investigación: Desarrollo de Seguridad Alimentaria

Sub líneas de investigación de la Carrera: Producción Agrícola Sostenible

2. DESCRIPCION DEL PROYECTO

El arándano (*Vaccinium corymbosum L*) es una de las frutas con gran demanda y rentabilidad a nivel Internacional dentro de la producción agrícola, debido a los beneficios que tiene para la salud y la economía, en Ecuador la producción del cultivo es muy favorable debido a las condiciones de clima ya que es idóneo para el cultivo de arándano los requerimientos climáticos del cultivo permiten el desarrollo de la planta, pero por otro lado al momento de adquirir un material que no es considerado como elite para su propagación que no cumple con normas fitosanitarias y se desconoce su procedencia genética esto afectada la pérdida de calidad de la planta y de sus frutos, haciendo que sea más propensa a contraer diferentes tipos de enfermedades y plagas en el proceso vegetativo.

La investigación se desarrolló en el Cantón Cevallos, Provincia de Tungurahua en el laboratorio de biotecnología Vitro en Plantas, el proyecto se basó en la propagación in vitro de cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum L*), por lo cual se elaboró un protocolo de propagación in vitro para realizar la propagación de arándano, los procesos realizados fueron una asepsia total del material de partida antes de la introducción al laboratorio, se procedió a seleccionar los explantes de dos tipos de diámetro para la introducción a los medios de propagación, 30 días después se procedió a la propagación del material in vitro de arándano en los respectivos tratamientos con un total de 70 frascos de cultivo con diferentes tipos de hormonas (Zeatina, Adenina, Acido Indol Acético) y un testigo para poder llegar a determinar cuál de los hormonas es más factible en el desarrollo morfológico del arándano, y así poder evaluar las variables tales como altura de brote, número de hojas por explante, números de brotes formados en el explante y porcentaje de contaminación.

Por la cual se utilizó hormonas de crecimiento que cumplieron con el desarrollo vegetativo de la planta. La zeatina estimula la germinación de semillas, mejora la floración, la formación de frutas sin semillas y de brotes. La adenina en cambio muestra la formación del crecimiento de ápices meristemáticos, promueve la proliferación de brotes axilares y la formación de yemas adventicias formadas indirectamente desde callos o directamente del explante. El ácido Indol acético regula varios procesos en el crecimiento y desarrollo de la formación del xilema, raíz, yemas axilares y la estimulación de los

frutos. El objetivo de utilizar diferentes hormonas es garantizar una correcta propagación in vitro del cultivo y así poder adquirir una planta más rentable con mayor calidad genéticamente, que cumplen con las normas fitosanitarias, con mayor porcentaje de producción y resistentes a plagas y enfermedades.

3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La creciente demanda del consumo de arándano, se basa por ser considerado uno de los mejores alimentos, y un frutal muy rentable del mundo ha llegado a proporcionar una gran tendencia a toda la agro-industria (Muñoz, 2015).

A pesar de esto, este cultivo tiene grandes limitaciones en cuanto a su propagación vegetativa, ya que es realizada por técnicas tradicionales mediante acodos o estacas o por medios de semilleros, esta técnica prolifera plagas y enfermedades a la planta, además este tipo de propagación no garantiza un buen enraizamiento lo que genera baja producción y calidad del fruto, y esto a la vez representando pérdidas económicas para los agricultores.

Para evitar la práctica de cultivo de tejidos vegetales ha sido desarrollada con la finalidad de propagar de forma masiva las plantas con la característica semejante a la madre y libre de algún tipo de agentes patógenos o enfermedades existentes del cultivo.

La propagación se realizó a partir de un esqueje vegetal al que llamaremos (explante), garantizando la calidad genética y uniformidad de los nuevos clones que pueden ser comercializados en viveros, o a nivel de laboratorio generando ingresos económicos para quienes desarrollan la multiplicación de este tipo de material.

Por consiguiente se realizó un protocolo de propagación de arándano (*Vaccinium corymbosum L*), in vitro que reduzcan perdidas económicas a los agricultores al adquirir plantas en viveros las cuales están propensas a plagas y enfermedades, este protocolo permitirá obtener plantas con mayor calidad genética resistencia a plagas y enfermedades, incluso permitiendo la reducción de costos de producción, haciéndole un cultivo rentable.

4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

Beneficiarios Directos:

Los principales beneficiarios directos con la ejecución de este proyecto son los pequeños y medianos agricultores especialmente aquellos que se dedican a la producción de arándano ya que con ello podrán mejorar la productividad de sus fincas o parcelas y ampliar sus conocimientos mediante la propagación in vitro y así poder adquirir una planta con mayor calidad genética y uniformidad de los nuevos clones.

Beneficiarios Indirectos:

Este proyecto beneficia indirectamente a las personas que integran la Universidad Técnica de Cotopaxi entre ellos la población estudiantil y la planta docente del área de Agronomía, mediante los resultados obtenidos se admitirá desarrollar otras investigaciones y así poder adquirir conocimientos nuevos a través de este proyecto de propagación in vitro.

5. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

¿Qué efecto tiene la propagación in vitro del cultivo de arándano en la producción de plantas?

El género (*Vaccinium*) es una de las especies sin duda con mayor producción comercial en el mundo y muy diversos en cuanto a las características morfológicas y genéticas. Existe gran diversidad aproximadamente 450 y 500 especies silvestres entre las cultivadas son muy apreciadas por sus frutos comestibles (Muñoz, 2015).

Dentro de la producción del arándano en Ecuador existe gran demanda por el producto pero un bajo nivel de oferta, la producción en el país ha llegado a obtener 1 tonelada por hectárea siendo una de las razones que demuestra baja producción y no cubre con la demanda local, los causantes de baja producción se debe al mal manejo agronómico del cultivo, plantas mal enraizadas que presentan bajos porcentajes de producción son muy susceptibles a plagas y enfermedades, siendo los principales causantes que disminuyen la producción del arándano en el Ecuador (Ecuairandano, 2018).

Hoy en día el mercado nacional como internacional ha permitido crecer la demanda del fruto, ante este hecho es importante buscar estrategias para suplir estas necesidades, de oferta y demanda que permitan asegurar la explotación del producto, realizando una producción de forma sostenible para poder garantizar un producto de calidad, al contar con plantas más resistentes a plagas y enfermedades así poder favorecer a los agricultores en el crecimiento de su producción y del país.

Los arándanos se producen en Ecuador de manera ancestral, mediante el enraizamiento de estacas y de tallo herbáceos o leñosos. Sin embargo, al utilizar esta práctica se vuelve deficiente, ya que existen genotipos que muestran bajos porcentajes de enraizamiento lo que permite menor porcentaje de producción y diseminación de enfermedades siendo unos de los principales problemas a resolver.

En el país no existe un buen manejo de tecnología ya que el agricultor al momento de realizar la propagación mediante técnicas tradicionales contribuye al aumento de enfermedades por esta razón, se requiere de estudios que logren suplir todas estas falencias del cultivo y garantizar mayor producción del mismo.

6. OBJETIVOS

GENERAL

Desarrollar la propagación in vitro del cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum L*) en el Cantón Cevallos provincia Tungurahua.

ESPECÍFICOS

- Elaborar un protocolo de propagación para el cultivo de arándano.
- Evaluar el medio de cultivo adecuado para la multiplicación in vitro de arándano, utilizando diferentes tipos de hormonas de crecimiento.
- Determinar el mejor medio de cultivo y la mejor hormona de crecimiento para la propagación del cultivo de arándano.

7. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 1: Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.

OBJETIVOS	ACTIVIDADES	RESULTADOS	VERIFICACIÓN
Elaborar un protocolo de propagación para el cultivo de arándano.	Indagar los diferentes protocolos que se utilizan para el manejo de la propagación in vitro en otros frutales.	Guía de protocolo a utilizar.	Protocolo utilizado.
Evaluar el medio de cultivo adecuado para la multiplicación in vitro de arándano, utilizando diferentes tipos de hormonas de crecimiento.	Ejecutar esterilizaciones mediante soluciones de alcohol y con hipoclorito de sodio para eliminar cualquier tipo de agente patógeno.	Porcentaje de contaminación.	Frascos contaminados
Determinar el mejor medio de cultivo y la mejor hormona de crecimiento para la propagación del cultivo de arándano.	*Elaboración de los medios dentro del laboratorio. *Sembrar los explantes en los medios de cultivo con diferentes hormonas.	*Formación de callo organogénico. *Número de brotes por explante.	*Longitud del brote. *Número de hojas por brote.

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021)

8. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

8.1. Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)

8.1.1. Generalidades

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L) es un frutal que pertenece al género *Vaccinium*, familia de las *Ericáceas* y conforma un grupo extenso de especie que habitan por el Hemisferio Norte, Norteamérica, Europa Central y Eurasia, encontrándolas en América del Sur, a la misma vez existen pocas especies en África y Madagascar. Un aproximado de 30 especies del género *Vaccinium*, tienen importancia comercial por sus frutos comestibles (Muñoz, 2015).

El arándano presenta buena demanda mundial, por aquellos beneficios que brinda a la salud humana, y su comercio es de gran importancia (Muñoz, 2015).

Vaccinium corymbosum L., se trata de arbustos erectos o rastreros, que alcanzan una altura variable según su especie, presenta hojas alternas, caducas o perennes, y de una gran longevidad, logrando superar los 50 años de vida en muchos casos. Detallamos dos especies más relevantes para nuestra región, *V. corymbosum* L. y *Vaccinium virgatum*. Ambas, son muy similares en cuanto a su cultivo (Undurraga y Vargas, 2013).

Todos los cultivos provenientes de *Vaccinium* transformados hasta la actualidad han sido desarrollados de formas rústicas. Las variedades cultivadas es necesario ser sometidas a bajas temperaturas durante su periodo vegetativo para romper la dormancia, o época de reposo de las plantas (Muñoz, 2015).

8.2 Situación de cultivo en el Ecuador

8.2.1 Cultivos de arándano en el Ecuador

Patricio Ñacato argumento que la producción de arándano empezó en el año 2015 con la compra de plantulas para prueba, la misma que fueron de la variedad Biloxi, importadas desde Estados Unidos.

Terminada la fase de prueba los arándanos se adaptaron a las condiciones agroclimáticas del Ecuador seguidamente fueron sometidas a una segunda fase, de multiplicación vegetativa y por consiguiente la fase de promoción del cultivo entre pequeños y medianos productores a nivel local. Lo cual paso a convertirse en una fruta con gran rentabilidad favoreciendo a los productores por el alto precio de venta y a pesar que hubo poca oferta del cultivo hace que este fruto sea bastante rentable para los empresarios y todas las personas que incursionan este cultivo (Ñancato, 2018).

8.2.2. Superficie cultivada

Ecuador tiene una gran ventaja debido a que permite producir el fruto las 52 semanas al año. No es estacional, como en Chile o EE.UU. Dentro de los primeros años de vida cada planta ha llegado a producir alrededor de 800 g de fruta. Posteriormente, a partir del segundo año, la producción llega a oscilar en 1.500 g. En el año 2017 Ecuaarándano unas de las empresas pioneras alcanzo a producir 3 toneladas de arándano en una superficie de 3 hectáreas llegando a adquirir un precio de 3,99\$ por tarrinas de 125 g (Ñancato, 2018).

8.2.3. Importancia Económica

La ventaja que ha llegado a favorecer el arándano en Ecuador es por sus horas heliofanía que brindad la línea ecuatorial, permitiendo influir en el diámetro de su fruto, en la durabilidad y en los grados brix (Biovegetal, 2018).

Según Ñacato, P. (2018) argumento que el valor por kilogramo de arándano bordea los \$ 12, por ser una fruta nueva en el país, y por sus aportaciones de antioxidantes que brinda a la salud. Además presenta una considerable demanda por su fruta, toda la producción se vende. El cultivo no necesita de abonos costosos una mezcla de nitrógeno, fósforo y potasio es básica para su desarrollo debe suministrarse por medio del riego, de preferencia por goteo, para optimizar los recursos.

8.2.4 Composición nutricional del arándano

Dentro los estudios realizados por la Universidad de Clemson y el Departamento de Agricultura de Estados Unidos, ubicaron al arándano en la posición número uno por la capacidad de antioxidante en frente que tiene por encima de los demás frutos y vegetales.

Mediante el valor nutricional del arándano, según la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos, resume que presenta bajo porcentaje de grasas, sodio, colesterol y es rico en fibras, refrescante con vitamina C, lo cual muestra que es una fruta comestible con muchas características nutricionales (Mego, 2016).

En ellas se incluyen sus principales nutrientes así como como la proporción de cada uno.

Tabla 2: Composición nutricional del arándano

Factor Nutricional	Valor	Unidad
Valor calórico	41,68	Kcal
Grasa	0,60	G
Sodio	1	Mg
Carbohidratos	6,05	G
Fibra	4,90	G
Azúcares	6,05	G
Proteínas	0,63	G
Vitamina A	5,70	Ug
Vitamina C	22	Mg
Vitamina B3	0,09	Mg
Calcio	10	Mg
Hierro	0,74	Mg

Fuente: Mego, (2016)

Además el arándano se ha convertido en una fruta que contribuye a prevenir enfermedades degenerativas de los ojos como cataratas, retrasan el envejecimiento y son antiinflamatorias, gracias a su composición y valor nutricional se ha transformado en un tesoro para la salud humana.

8.3. Botánica

8.3.1. Raíz

Presenta un sistema radical ligero que se encuentra en los primeros 40 cm de profundidad, es decir que la raíz se encuentra muy cerca de la superficie la misma que posee raíces finas y fibrosas que carecen de pelos absorbentes. Se pueden asociar de forma natural con una micorriza formando una simbiosis, convirtiéndola esta un mayor desarrollo vegetativo. Es sensible al encharcamiento en suelos pesados, es decir que las raíces del arándano no son capaces de traspasar superficies compactados lo mismo que necesitan suelos sueltos y bien drenados (Undurraga y Vargas, 2013).

8.3.2. Hojas

Las hojas son simples y alterna que se distribuyen a lo largo de la ramilla. Las especies del genero *Vaccinium* poseen hojas caedizas, siempre presentan tonalidad verdes. Las hojas varían en tamaño según su especie de 1 a 8 cm de largo y su forma varía de ovada a lanceolada (Muñoz, 2015).

8.3.3. Flores

Las flores se presentan en racimos, y se pueden encontrar aproximadamente de 6 a 10 flores por cada racimo. Las corolas poseen entre 4 a 5 pétalos fusionados y los pistilos poseen entre 8 y 10 estambres. Los ovarios inferiores poseen entre 4 a 5 lóculos y en cada lóculo se encuentran los óvulos (Valdenegro, 2007).

8.3.4. Fruto

Su fruto es una baya esférica de 1 a 3 cm de diámetro, con un peso alrededor de 0,5 a 4,0 g y aproximadamente 20 a 100 en su interior relacionado con el tamaño del fruto. Las bayas, a medida que maduran, pasan por diferentes tonalidades de color, obteniendo un tono azul al finalizar la maduración, los frutos más cercanos a las ramas más gruesas producen frutos más vigorosos (Undurraga y Vargas, 2013).

8.4 Requerimientos edafoclimáticas

8.4.1 Horas frío

El origen del termino viene de las investigaciones acerca de los requerimientos de bajas temperaturas para la ruptura de la dormición de las yemas de los árboles frutales se iniciaron hace más de medio siglo (Costa y Ramina, 2014).

El Arándano dentro del hemisferio sur o norte mediante los países como EE, UU o Chile se demuestra que es una planta estacional necesitando unas horas frio de 1000 H pero al mejorar las variedades del arándano se llegó a requerir 200 horas frio. Mediante la nueva variedad que fue mejorada a partir de biloxi permitió reducir las horas frio para poder producir por esa razón el país de Ecuador llego a desarrollar una nueva planta para

promover dentro de la agricultura y la economía demostrando una buena adaptabilidad y producción en los diferentes pisos climáticos (Ecuavarandano, 2018).

8.4.2 Suelo

El cultivo de arándano requiere de suelos sueltos y bien drenados con buen contenido de materia orgánica se demuestra que el pH adecuado para este cultivo es de 4,5 y 5,5, deben presentar buen drenaje y aireación. Por lo tanto se debe mantener una humedad relativa alta pero sin llegar al encharcamiento ya que es frágil a sofocación radicular como a sequía (Carrera, 2012).

8.4.3. Clima

Los arándanos crecen en una gran variedad de climas ya que sus requerimientos de frío van desde las 400 a 1.100 horas de frío, las cuales corresponden al número acumulado de horas con temperaturas menores a 7.2 °C, para cumplir su receso invernal y romper la dormancia. Una vez que las plantas rompen la latencia se vuelven muy sensibles a las bajas temperaturas (Undurraga y Vargas, 2013).

Cuando se demuestran temperaturas altas con heladas severas las yemas trascienden a demostrar daño vascular produciendo necrosis en el área afectada. Mientras que en los climas calurosos mediante la cosecha de la fruta, reduce la calidad en el sabor y tamaño (Valenzuela, 1988).

8.4.4. Agua

Debido a sus raíces superficiales, fibrosas y de poca extensión, el arándano es muy sensible al déficit y exceso de agua. Donde no se conozca la calidad del agua de riego se recomienda realizar un análisis químico para determinar pH, sales solubles (conductividad eléctrica), y razón de adsorción de sodio (RAS). Además, deberá sacarse otra muestra de agua para análisis microbiológico para asegurar y demostrar que se regará con agua de buena calidad y limpia. Es importante que los sistemas de riego permitan mantener una buena humedad los primeros 15 a 20 cm del suelo, debido a que a esta profundidad se encuentra gran parte de las raíces. No obstante en lugares con peligro de heladas se debe utilizar el riego por aspersión para su control (Undurraga y Vargas, 2013).

8.5. Plagas y Enfermedades

8.5.1. Plagas

8.5.1.2. Gallina ciega (*Anamola scarabaeidae*)

Esta plaga mediante la fase adulta se caracteriza por afectar en la mayoría de los estadios la pérdida de la polinización y fructificación. Se alimenta directamente de las raíces causando la disminución de la absorción de nutrientes. La infestación de esta plaga se debe a las altas temperatura en las que se encuentran el cultivo (Carrera, 2012).

8.5.1.3. Trips de las flores (*Thysanoptera*)

Estos insectos se identifican por ser de 0,8 a 1,7 mm de longitud mediante el estado de madurez cuando las temperaturas son altas existen proliferación reproductiva estos insectos succionan la sabia de las hojas y flores ocasionando que la flor no se polinice de igual forma este insecto interfiere en el crecimiento y desarrollo de la planta. Además de ser vector de enfermedades, hongos, bacteria y virus para el cultivo (Hong, 2005).

8.5.1.4. Mosca de la fruta (*Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata*)

La mosca de la fruta ocasiona daños muy severos en su etapa larvaria se alimenta de la fruta ocasionando pérdida de calidad del fruto esta plaga es limitante para el cultivo “*Anastrepha fraterculus* y *Ceratitis capitata*”. Son pequeñas, de aproximadamente 2-3 mm con abdomen redondo y las hembras ovipositan directamente en la fruta. Ya que tienen la capacidad de generar daños muy limitantes para la venta del fruto al final de su cadena productiva (Muñoz, 2015).

8.5.2. Enfermedades

8.5.2.1. Moho gris (*Botrytis cinerea*)

Esta enfermedad se presenta bajo condiciones de humedad debido a los periodos extensos de lluvia ocasionando daños en las partes tiernas de la planta tales como tallos, flores y frutos. Sus síntomas presenta amarillamiento de los brotes, machas necróticas caída de flores y pudrición de los frutos (Hong, 2005).

8.5.2.2. Tizón tardío o mildiu (*Phytophthora sp.*)

Esta enfermedad causa muerte de la hoja los síntomas que tiene esta enfermedad es que presenta clorosis y enrojecimiento del follaje limitando el desarrollo de la planta El mal manejo agronómico de este cultivo por la excesiva fertilización y herbicidas ocasiona que esta enfermedad se prolifere. Además un mal manejo del sistema de drenaje y riego pueden causar esta enfermedad. Para su prevención se recomienda que sean libres de agentes patógenos y resistentes de los mismos se debe realizar un buen drenaje y controlar la fertilización (Hong, 2005).

8.5.2.3. Tizón temprano (*Alternaria tenuissima*)

La enfermedad se presenta en los tallos en manifestaciones de pequeñas manchas necróticas oscuras sobre las hojas y los frutos las mismas que se transforman en pequeños canchales. Para su control se recomienda la aplicación de fungicidas específicos durante la floración y una vez cosechada la fruta es necesario enfriarla rápidamente para preservar su calidad (Hong, 2005).

8.5.2.4. Roya (*Pucciniastrum vaccinii*)

Esta enfermedad se presenta en el haz de la hoja como lesiones cloróticas y con el avance de la enfermedad se convierten en manchas de color castaño oscuro y avanza en la gran parte de la hoja. Mientras que en el envés se observan necrosis de color amarillo anaranjado (Hong, 2005).

8.5.2.5. Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*)

La antracnosis es un hongo que al ingresar por heridas en hojas o tallos produce infección ocasionando pequeñas manchas de color marrón en las hojas también presenta muerte progresiva en el ápice, flores y frutos. Con una particularidad que en los frutos los síntomas se visualizan luego de la cosecha generando ablandamiento de los frutos. Se recomienda controlar las temperaturas (Hong, 2005).

8.5.2.6. Agalla de corona (*Agrobacterium tumefaciens*)

Todas las variedades de arándano son susceptibles a la agalla de corona estas forma tumores en la base de los tallos y en las raíces principales ocasionando déficit en el crecimiento y desarrollo de la planta ya que no permite una buena absorción de agua y nutrientes. La agallas en la base joven presentan características de color claro y blandas con el avance de esta enfermedad las agallas se vuelven rugosas, duras y de color marrón. Para el control de la agalla se debe plantar plántulas libres de agentes patógenos se debe adquirir plantas en viveros que garanticen una planta genéticamente idónea y libre de agente patógeno (Hong, 2005).

8.6. Medio de cultivo y hormonas

8.6.1. Murashige y Skoog

El Murashige y Skoog fue inventado por los científicos Toshio Murashige y Folke K.Skoog en el año de 1962, convirtiéndolas como los nuevos reguladores del desarrollo vegetal. De esta forma se consideran unos de los medios más comúnmente usados en el cultivo in vitro de tejidos vegetales (Rodríguez, 2014).

Siendo apto para la mayoría de las especies por lo que es de amplia utilización excepto para las más sensibles a la salinidad ya que se caracteriza por tener una elevada concentración salina. El Murashige y Skoog también es unos de los medios que contienen sustancia que incluye los macronutrientes, micronutrientes y vitaminas (Murashige y Skoog, 1962).

8.6.2 Woody Plant Medium

Woody Plant Medium fue originalmente formulado por Lloyd y McCown en 1981. Desde entonces es ampliamente utilizado para la propagación de muchas plantas. Su formulación es una mezcla de nutrientes inorgánicos, sales, vitaminas y aminoácidos. Woody Plant Medium proporciona toda lo macro esencial elementos y micro-elementos para el cultivo in vitro o tejido vegetal (Rathore, 2005).

8.6.3. Zeatina

Fue adoptada en 1964, por Letham se lo desarrollo como un compuesto fisiológicamente activo derivado de adenina, es esencial para los procesos de desarrollo en las plantas tales como el crecimiento vegetativo y la inducción floral. (Burriel, 2003).

La Zeatina incide en la germinación, equilibra la dormancia y retarda el envejecimiento de hojas y frutos. Uno de los efectos especiales que permite la Zeatina es la estimulación de la germinación de semillas, formación de frutas, ruptura del letargo sin semillas, induce a la formación de brotes, mejora la floración y ruptura la dominancia apical (Burriel, 2003).

8.6.4. (2-isopentenilo) adenina

Es un regulador dl crecimiento de la planta el mismo que permite estimulara la división celular, crecimiento y desarrollo se lo utiliza en cultivos in vitro para obtener callos de germinación. Además interactúa como un regulador de variedades de cultivos comerciales lo cual permite que aumente el rendimiento en un 20%-30% (Hine y Abdelnour, 2013).

8.6.5. Ácido Indol Acético

Esta auxina natural está presente en la mayoría de la planta y permite determinar hormonas vegetales que controlan varios procesos de desarrollo vegetal el mismo que es de gran importancia en la aplicación de la agricultura ecológica (Castillo, 2005).

Esta auxina incide en el crecimiento y desarrollo de las plantas generalmente en los procesos fisiológicos de igual forma cumple un rol importante en la formación del xilema, estimula la madurez y desarrollo de los frutos (Castillo, 2005).

8.6.6. Ácido Indol Butírico

Se lo considera como un estimulador de crecimiento vegetal el cual tiene una actividad auxínica a su vez se lo utiliza para iniciar la formación y el desarrollo de raíces en un

procedimiento llamado micro propagación, este permite causar la formación de masas de células indiferenciadas llamadas callos (Hernández et al, 2005).

8.6.7. Sacarosa

El azúcar es esencial en un medio nutritivo ya que permite el desarrollo de plantas in vitro por tal se lo considera fundamental ya que se utiliza para un rápido crecimiento heterotrófico y desarrollo de los tejidos.

Cuando la sacarosa ésta elevada, tiende a disminuir la capacidad fotosintética. Pero, cuando las concentraciones de azúcar son muy bajas, se tiende a incrementar la capacidad fotosintética y con ello se reducen los cambios fisiológicos de la planta para adaptarse al suelo y poder mejorar su respuesta al momento del trasplante (Troncoso et el, 2006).

8.6.8. Agar

El Agar es un medio de cultivo artificial rico en azúcar capaz de mantener vivo los microorganismos por un periodo determinado el mismo que fue diseñado para almacenar muestras vegetales libres de contaminación. Se lo utiliza como medio gelesificante el cual da rigidez en los medios de cultivo permitiendo el crecimiento y desarrollo de otros microorganismos que crecen dentro del agar (Flores, Robledo, y Jimarez, 2017).

8.7. Propagación

La propagación vegetativa de arándano se realiza de dos maneras, el enraizamiento de esquejes de tallo y la micropropagación. Dentro de la cual existen los siguientes tipos de propagación (Bonilla, 2018).

8.7.1. Propagación por acodo

Este método consiste que el acodo debe presentar formación de raíces en el tallo que aún se encuentra adherido a la planta madre. Este método de propagación genera plantas idénticas a la planta madre (Bonilla, 2018).

8.7.2. Propagación por estacas

Este método de propagación consiste en utilizar estacas tomadas de planta elites que se encuentren libres de cualquier agente patógeno.

Para la propagación de estacas se emplean ramas que procedan de plantas madres y que tengan características sobresalientes:

- Leñosas o semileñosas de plantas sanas.
- Provenientes de ramas que hayan fructificado.
- Deben tener un aproximado de 2 a 3 yemas en buen estado.

Este método consiste en seleccionar varetas vegetales de 35 cm de longitud, con un diámetro aproximado de 1cm y debe contener de 2 a 3 yemas útiles. Luego deben ser plantas en substrato utilizando hormonas de crecimiento luego de 60 días obtendremos lista para trasplante (Bonilla, 2018).

8.7.3. Selección de plantas madres

Se debe seleccionar plantas madres que se encuentren libres de cualquier patógeno y presenten cualidades sobresalientes de las demás tales como alto porcentaje de producción frutos grandes, sanas y vigorosas (Cruz, 2012).

8.7.4. Propagación por raíz o fragmentos de tallo subterráneo

Este método de propagación consiste en obtener fragmentos de raíz de plantas elites. Estos fragmentos serán divididos en pequeñas secciones de 10 a 15 cm de longitud y de 1 a 5 cm de diámetro con 2 a 3 yemas útiles que garanticen la brotación (Cruz, 2012).

8.8. Etapas del cultivo in vitro

8.8.1. Selección del explante

La selección del explante es muy importante ya que de este depende también la respuesta que se dé in vitro; mientras más joven sea la planta de la que se extrae el material vegetal

mejor será la respuesta, principalmente debido a que tiene zonas de crecimiento más activas que una planta adulta (Cruz, 2012).

Los explantes pueden ser de diferentes tipos como, por ejemplo: porciones de tejido, células, granos de polen, semillas, entre otros, para mantener una alta estabilidad genética se prefiere como explante los meristemas apicales y segmentos nodales (Cruz, 2012).

8.8.2. Desinfección

Seleccionado el explante se aplica un proceso de desinfección superficial que consiste en la utilización de distintos agentes desinfectantes como bactericidas, fungicidas en los cuales se destaca al hipoclorito de sodio o calcio. Terminado el proceso de desinfección el explante es trasladado a una cámara de flujo laminar para su siembra en un medio de cultivo estéril en condiciones de estricta asepsia (Gonzales, 2017).

8.8.3. Establecimiento in vitro

El establecimiento in vitro tiene como objetivo primordial obtener un cultivo libre contaminación, en el que los explantes se encuentren sembrados en un medio de composición química definida para su desarrollo y crecimiento; y así, tener plantas vigorosas para el proceso de propagación (Hine y Abdelnour, 2013).

8.8.4. Multiplicación

En la fase de multiplicación se espera que los explantes que sobrevivieron a las fases de desinfección y establecimiento generen periódicamente nuevos brotes por medio de división y resiembra al ser sub cultivados en un nuevo medio con diferentes hormonas (Cruz, 2012).

8.8.5. Enraizamiento

El enraizamiento es una de las etapas que se realiza al momento de finalizar el proceso del cultivo in vitro lo cual se utiliza mediante el proceso productivo de micropropagación después de pasar de una etapa de multiplicación e inicia esta fase.

8.8.5.1. In vitro

El enraizamiento se basa en aislar órganos y tejidos vegetales que permite la inducción de raíces adventicias en brotes alargados, los cuales son ingresados a ser conservados en un medio de cultivo con una composición de auxinas, con el propósito de conseguir plántulas completas que después llegaran hacer aclimatadas (Lencina et el, 2017).

8.8.5.2. Ex vitro

El enraizamiento ex vitro, se basa cuando la planta es retirada del medio de enraizamiento por consiguiente se debe eliminar el agar adherido a las raíces, para no causar proliferación de hongos y bacterias que fueron ingresados dentro del cultivo in vitro. Mediante este proceso los explantes pueden ser tratados con auxinas y plantados en sustrato para la formación de raíces para luego ser trasplantadas en el medio exterior (Lencina et el, 2017).

8.8.6. A-climatización

La a-climatización es la fase final y la de mayor importancia debido a que en esta se da la adaptación de las vitroplanta a un ambiente ex vitro (Vaca, 2012). En esta etapa es importante simular un ambiente con características similares in vitro hasta que el material vegetal se adapte a las nuevas condiciones (Carrera, 2012).

La siembra del material a aclimatar se realiza en una combinación de sustratos asépticos de origen natural o artificial que permitan el crecimiento de cada planta en condiciones ambientales controladas. Las raíces deben tener aireación, disponibilidad de agua y sostén mecánico para un mejor desarrollo (Carrera, 2012).

8.8.6 Cultivo de meristemos

El cultivo de meristemos es una técnica in vitro que permite la propagación de material vegetal genéticamente estable y libre de enfermedades (Gonzales, 2017).

Es útil para el saneamiento de especies vegetales. Es de importancia reconocer la zona en donde se encuentra el meristemo ya que este varía dependiendo de la especie; por lo cual,

estudios preliminares son necesarios para identificar su ubicación y manipulación adecuada y así facilitar la extracción (Gonzales, 2017).

Es una estructura donde se origina el crecimiento y división celular continuamente. Estos se clasifican según su origen, primarios, meristemas apicales y los secundarios en meristemas axilares (Gonzales, 2017).

9. PREGUNTAS CIENTIFICAS O HIPOTESIS

Ho: La propagación desarrollada en base a la combinación de agentes desinfectantes y concentración de componentes del medio de cultivo no permiten el establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum L*) a partir de meristemas axilares.

Ha: La propagación desarrollada en base a la combinación de agentes desinfectantes y concentración de componentes del medio de cultivo si permiten el establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum L*) a partir de meristemas axilares.

10. METODOLOGÍAS

10.1.Ubicación y duración del ensayo

El proyecto de investigación se ejecutó en el laboratorio de biotecnología “VITRO Plantas”, que se encuentra ubicado en el Cantón Cevallos en el Barrio San Fernando de la Provincia de Tungurahua, cuya ubicación geográfica, latitud 1°25'0” Sur, longitud 78°35'22” con una altitud de 2855msnm, la investigación tuvo una duración de 150 días de trabajo en el laboratorio.

10.2. Condiciones agro-meteorológicas

En el tabla 3 se presenta las condiciones agro-meteorológicas del Cantón Cevallos.

Tabla 3: Condiciones agro meteorológicas del cantón Cevallos

Parámetros	Promedios
Altitud m.s.n.m	2855
Temperatura máxima °C	18
Temperatura mínima °C	12
Temperatura media anual °C	12.85
Precipitación mm/año	250 a 500
Precipitación media mm/año	442.4
Heliofanía hora/luz/año	771
Humedad relativa %	75.8

Fuente: Estación del Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI), en Queracocha, 2015.

En el tabla 4 se presenta las condiciones ambientales controladas dentro del laboratorio.

Tabla 4: Condiciones agro-meteorológicas en el laboratorio.

Parámetros	Promedios
Temperatura	17°C – 27°C
Humedad relativa	30% - 70%
Luminosidad	24 h
Fotoperiodo	16-8 h

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021)

10.3. Materiales y equipos

Para la propagación in vitro del cultivo de arándano se utilizó los siguientes materiales y equipos lo cuales se detallan en siguiente tabla.

Tabla 5: Factores en estudio.

Materiales	Equipos
Vasos de precipitación	Cámara de flujo laminar
Mecheros	Autoclave
Probeta	Balanza analítica
Tubos de ensayo	Destilador de agua
Frascos de vidrio	Agitador magnético
Cajas Petri	pH – metro
Pinzas	Microondas
Bisturí	
Termómetro	
Sales minerales, (MS, WPM)	
Mascarilla	
Agua destilada	
Mandil	
Alcohol	
Servilletas	
Agar	
Hipoclorito de sodio	
Hormonas	

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021)

10.4. Tratamientos

Los tratamientos en la presente investigación serán resultado de la combinación de los factores dando un total de seis tratamientos y se añadirá un tratamiento testigo.

De la unión de los factores se obtendrán los tratamientos. Tabla 6.

Tabla 6: Tratamientos de la investigación.

Orden	Tratamiento	Código
1	Murashige y Skoog + Zeatina	MS+Z
2	Murashige y Skoog + N6-(2-isopentenilo)adenina	MS+2iP
3	Murashige y Skoog + Acido Indol Acético	MS+AIA
4	Woody Plant Medium + Zeatina	WPM+Z
5	Woody Plant Medium + N6-(2-isopentenilo)adenina	WPM+2iP
6	Woody Plant Medium + Acido Indol Acético	WPM+AIA
7	Testigo	Testigo

Elaborado por: Cayo y Peralta, (2021)

10.5. Diseño experimental

Se empleó un Diseño completamente al azar (DCA), con siete tratamientos y diez repeticiones. Además se utilizó la prueba de rangos múltiples de Tukey al 5% de probabilidad. Tabla 7.

Tabla 7: Esquema de análisis de varianza

Fuente de Variación	Grados de Libertad	
	Repeticiones	(r-1)
Tratamientos	(t-1)	6
Error experimental	(t-1) (r-1)	54
Total	(t.r-1)	69

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021)

10.6. Esquema del experimento

La metodología que se utilizó en la investigación se basa en aspectos técnicos basados en los procedimientos y métodos relacionados con las siguientes etapas: unidad experimental, área, forma, dimensión y asignación de tratamientos.

Tabla 8: Esquema del experimento

Tratamiento	Repeticiones	U.E	Total
Murashige y Skoog + Zeatina	10	5	50
Murashige y Skoog + N6-(2-isopentenilo)adenina	10	5	50
Murashige y Skoog + Acido Indol Acético	10	5	50
Woody Plant Medium + Zeatina	10	5	50
Woody Plant Medium + N6-(2-isopentenilo)adenina	10	5	50
Woody Plant Medium + Acido Indol Acético	10	5	50
Testigo	10	5	50
Total			350

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021)

UE= Unidades Experimentales

10.7. Manejo del Experimento

Se realizó visitas al campo para identificar el material vegetativo estos fueron recolectado en la misma zona o lugares aledaños al laboratorio se pasó a seleccionar una planta madre o elite joven la cual es libre de agentes patógenos, que cuente con características excelentes fisiológicamente y posea un historial bueno en producción, la recolección de los explantes se lo realiza de la parte inferior de la planta, es recomendable que el material

vegetativo seleccionado no sea maduro ni precoz para obtener buenos resultados en el desarrollo de los nuevos clones.

Mientras que el manejo del experimento se llevó de la siguiente manera se recolectaron varetas de arándano que estén libres de cualquier agente patógeno y se procedió a realizar cortes de 2 cm a las cuales llamaremos explantes o micro estacas, continuamos con el proceso de asepsia al material recolectado en campo antes de ingresar al laboratorio para ello se procedió a realizar varios lavados y enjuagues en agua destilada, alcohol y en una solución de hipoclorito de sodio esto a diferentes intervalos de tiempo como fueron 5min, 10min, 10min, a continuación se realizó la preparación de medios de cultivos para ello se realizó 90 minutos de autoclavado, los medios que se prepararon fueron (Murashige y Skoog, Woody Plant Medium) más la aplicación de tres hormonas a diferentes dosis, Zeatina (Z) a 1.0mg/L, N⁶-(2-isopentini)adenina (2iP) a 2.5mg/L y Acido Indol Acético (AIA) a 1.0mg/L, y se provino a hacer el establecimiento in vitro de micro estacas de arándano.

Luego se evaluó el porcentaje de contaminación y prendimiento de los explantes, en los respectivos medios a continuación se dejó bajo observación durante ocho semanas para realizar la micropropagación, una vez culminadas las ocho semanas de observación se procedió a realizar la micropropagación in vitro en los diferentes tratamientos luego se procederá a llevar los frascos al cuarto de crecimiento y deberán permanecer por 8 semanas para su respectiva evaluación de las variables propuestas, culminadas las 8 semanas se pasó a realizar la toma de las diferentes variables a evaluar y por último se efectuó el informe final.

También procedimos a realizar un medio de enraizamiento el mismo que fueron (Woody Plant Medium) a 1g/L, más la aplicación de Ácido Indol Butírico a 0.5mg/L.

Una vez que los explantes llegaron alcanzar una altura de 5cm con un buen contenido de raíces se procedió a realizar la aclimatación bajo cubierta en micro túneles lo cual se utilizó sustratos de cascarilla de arroz, piedra pómez, turba, y compost estos no deben estar compactados sino sueltos para realizar un buen trasplante.

10.8. Manejo metodológico del ensayo

10.8.1. Selección y preparación del material vegetal de partida

El explante de partida fue recolectado en la misma zona donde se encuentra ubicado el laboratorio, la recolección se realizó cuidadosamente seleccionando el mejor material vegetativo, estos fueron tomadas de la parte media de la planta madre o planta elite la cual presenta características sobresalientes a las demás plantas, fueron cortados a una longitud de 30 cm y tiene un aproximado de 3 a 15 yemas útiles, las mismas deben ser libres de cualquier agente patógeno, lo más recomendable para la selección del explante debe ser material vegetativo joven y en este caso la planta madre tiene 1 años de edad ya que garantiza mayor división celular.

10.8.2. Área de lavado y desinfección

Se realizó la extracción de las hojas del material vegetativo siendo cautelosos de no lastimar las yemas y de igual manera al material vegetativo, tenemos que tener presente que 5 cm de la parte inferior y superior del explante no son utilizados para obtener material vegetativo, por consiguiente se realizó un corte transversal de 1,5 cm a 2 cm aproximadamente para la obtención del material de partida, los explantes tuvieron un aproximado de 1 a 3 yemas las mismas no debían estar desarrolladas ni precoces.

10.8.3. Establecimiento del cultivo aséptico

Ya listo el material de partida las agrupamos en 12 micro estacas cada una de ellas con un aproximado de 10 explantes cabe mencionar que antes de ingresarlos al medio de cultivo se debe realizar una asepsia en agua destilada, alcohol y en una solución de (NaCl).

10.8.4. Primera desinfección

El proceso de asepsia se realiza en la cámara de flujo laminar una vez ya desinfectada seguidamente se realiza una mezcla de alcohol industrial al 70% más el 30% de agua destilada obteniendo el 100% de este compuesto, el proceso consistió en introducir las micro estacas en dicha solución durante 5 minutos manteniendo una agitación constante.

Seguidamente se realiza una desinfección en una solución de (NaCl), al 70% más el 30% de agua destilada obteniendo el 100% de este compuesto, por consiguiente se procedió a introducir las micros estacas en dicha solución durante 10 minutos agitando constante.

10.8.5. Ingreso y desinfección de la cámara de flujo laminar

Se realizó un último proceso de asepsia, antes de esto se realizó la limpieza total de la cámara de flujo laminar con alcohol al 97 % de concentración y utilizando papel de limpieza desechable, se desinfecto toda el área de trabajo donde se encontraban tres frascos con agua destilada, estos a su vez fueron auto clavados durante 90 minutos, es de suma importancia desinfectarse las manos para trasladar las micro estacas con ayuda de una pinza previamente desinfectada cerca del mechero que se encontraba encendido y el alcohol que servía para desinfectar las pinzas.

Luego que se realizó la desinfección de la cámara de flujo laminar se procedió a pasar las micro estacas en agua estéril, inmediatamente se descendió a introducir las micro estacas hacia los 3 frascos aquí los explantes permanecerían por un lapso de tiempo de 5, 10, 10, minutos manteniendo una agitación permanente, al concluir el lapso de tiempo termina la fase de asepsia del material vegetativo el cual esta idóneo para ser introducido in vitro.

10.8.6. Introducción del material in vitro

Al momento de introducir el material in vitro es necesario que realicemos un corte en la parte basal del material vegetativo, con la ayuda de una pinza y un bisturí, los cortes en la parte basal se realiza debido a que las micro estacas al pasar por la asepsia presenta quemazón y puede ser causante de contaminación o que la micro estaca no presenten brotes.

10.8.7. Siembra del explante en el medio de cultivo

Una vez cortada la parte basal del explante se procedió a sembrar o introducir de 2 a 3 explantes en los medios de cultivos, manteniendo el protocolo de asepsia en la cabina de flujo laminar para evitar contaminación en el respectivo medio y en los explantes.

10.8.8. Traslado al cuarto de crecimiento

Al terminar la siembra de todos los explantes se procedió a sellar con plástico stretch con la finalidad de disminuir el porcentaje de contaminación, por consiguiente la respectiva rotulación con la fecha que se realizó la siembra y el ingreso a la cámara de crecimiento, cabe mencionar que los explantes pasaron un periodo de 23 días con iluminación artificial con un fotoperiodo 16 horas de luz y 8 horas de oscuridad a temperatura de 17°C a 27°C, una vez conseguidos los brotes necesarios, se dio inicio la fase de multiplicación.

Durante la fase de introducción in vitro se tomó la siguiente variable como es el número de explantes contaminados (NEC).

10.8.8.1. Número de explantes contaminados (NEC)

La variable fue evaluada a los 23 días de haber sido introducidos en el medio de cultivo, y pasar en las cámaras de crecimiento, la misma que se observó y se contabilizó el número de explantes que estaban contaminados en los 70 frascos esto se lo ejecutó visualmente.

10.8.8.2. Fase de multiplicación

En esta fase realizamos la multiplicación axilar del arándano en los diferentes tratamientos planteados, se eligieron los brotes mejor desarrollados y los que estuvieron libres de contaminación en la fase de introducción.

Los explantes se trasladaron al medio de multiplicación con sus diferentes tipos de hormonas de crecimiento en el que se adiciono el agar. Durante esta fase de multiplicación se evaluaron los 7 tratamientos de las siguientes hormonas como son: Zeatina (Z) a 1.0mg/L, N6-(2-isopentínilo) adenina (2iP) a 2.5mg/L y Acido Indol Acético (AIA) a 1.0mg/L y la combinación entre las mismas ya mencionadas.

Tabla 9: Dosis de cada una de las hormonas y combinación que se realizó en la fase de multiplicación.

Tratamiento	Código	Descripción	Dosis
T1	MS+Z	Murashige y Skoog + Zeatina	1.5g/L+1mg/L
T2	MS+2iP	Murashige y Skoog + N6-(2-isopentenilo)adenina	1.5g/L+2.5mg/L
T3	MS+AIA	Murashige y Skoog + Acido Indol Acético	1.5g/L+1mg/L
T4	WPM+Z	Woody Plant Medium + Zeatina	2g/L+1mg/L
T5	WPM+2iP	Woody Plant Medium + N6-(2-isopentenilo)adenina	2g/L+2.5mg/L
T6	WPM+AIA	Woody Plant Medium + Acido Indol Acético	2g/L+1mg/L
T7	Testigo	Testigo	Testigo

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021)

Como unidad experimental se utilizó un contenedor (frasco) de vidrio autoclavable, con tapa (10,5cm de diámetro y 7cm de altura), con 5 a 6 explantes de arándano, provenientes de una misma planta madre.

Durante la fase de multiplicación se colectaron datos de las siguientes variables:

10.9. Variables a evaluar

10.9.1. Altura de brote (mm y cm)

Se evaluaron la altura de cada una de las plántulas en (cm), desde la base hasta el ápice de cada brote con un flexómetro.

10.9.2 Número de hojas por explante

Para esta variable se procedió a contar el número de hojas por explante que se presenta en cada brote.

10.9.3 Número de brotes formados por explante

Se procedió a contar la cantidad de nuevos brotes formados en cada explante, durante su permanencia en el medio.

10.9.4 Porcentaje de contaminación

En esta variable se procedió a tomar el número de brotes por explante, que se encuentran contaminados.

11. ANALISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

11.1. Variables agronómicas. Número de explantes contaminados (NEC) a los 23 días, antes de ingresar en la fase de multiplicación.

En esta variable estudiada se explicara los números de explantes que llegaron hacer contaminados a los 23 días, de los cuales se obtuvo un 4% de contaminación. Estos explantes contaminados se debe a la manipulación errónea, a la asepsia no adecuada al momento de extraer el material vegetativo, También debemos tomar en cuenta que se debe realizar los bueno cuidados fitosanitarios, al ingresar o introducir los explantes al medio del cultivo para que exista un buen material vegetativo y poder evitar un bajo porcentaje de contaminación. (Tabla 10 y Figura 1)

Al momento de realizar un promedio general se observó que no es significativo en los números de explantes contaminados lo cual podemos demostrar que no existe un mayor porcentaje de explantes contaminados.

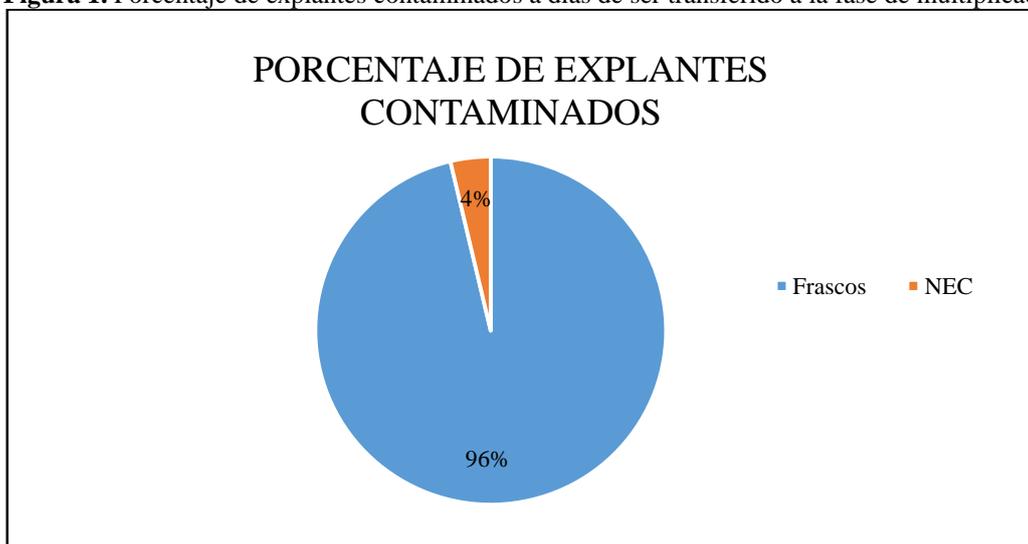
Las contaminaciones por patógenos son los mayores problemas durante el establecimiento de explantes bajo condiciones de laboratorio. Los resultados obtenidos con esta concentración de hipoclorito de sodio al 70% evidencian que la combinación de hipoclorito de sodio y alcohol al 70% presenta una gran alternativa para el protocolo de desinfección de explantes, lo cual permitieron obtener un porcentaje alto de sobrevivencia de los explantes del 96%. Esto con lleva a resultado similares que fueron obtenidos por Kaldmaes et al., (2006), donde manifiesta que con el 3% de Hipoclorito obtvieron 98% de sobrevivencia en explantes de *Vaccinium Angustifolium*. Mientras que el autor Razdan (2003) muestra que la contaminación en la propagación de tejidos se da por los patógenos que son agentes más eficiente en los experimento de cultivo de tejidos.

Tabla 10: Resultado del número de explantes contaminados (NEC) a los 30 días antes de entrar a la fase de multiplicación.

Tratamiento	Código	Frascos
T1	MS+Z	10
T2	MS+2iP	10
T3	MS+AIA	10
T4	WPM+Z	10
T5	WPM+2iP	10
T6	WPM+AIA	10
T7	Testigo	10
TOTAL DE FRASCOS		70
NEC		6

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021).

Figura 1. Porcentaje de explantes contaminados a días de ser transferido a la fase de multiplicación.



Elaborado por: Cayo y Peralta (2021).

NEC: Número de explantes contaminados

11.2. Variable de longitud de los brotes (LB) durante los 70 días que se encontraba en la fase de multiplicación.

Con el estudio que se realizó la hormona que mejor resultado obtuvo a los 70 días en la longitud de los brotes (LB) fue (WPM+Z) denominados como Woody Plant Medium más la composición de Zeatina en donde se manifiesta como el factor A con una longitud de 5,15cm, este expresó una mejor variación de todos los tratamientos en estudio, mientras que la variación que le sigue es (WPM+2iP)Woody Plant Medium más N6-(2-isopentenilo)adenina considerado como factor AB con una longitud de 3,23cm, siendo uno de los dos factores que mayor longitud de brote obtuvo entre todos los tratamientos aplicados. Seguido del factor B que fue (MS+2iP)Murashige y Skoog mas N6-(2-

isopentenilo)adenina esto demostró un menor resultado de longitud de 2,79 cm, sin embargo hay tratamientos que se considera como factor BC como son: (MS+Z) Murashige y Skoog mas Zeatina con una longitud de 2,34cm, (MS+AIA) Murashige y Skoog mas Acido Idol Acético con una longitud de 1,37cm, (T) Testigo con una longitud de 1,06, en donde no se expresó diferencia significativa con respecto a los demás tratamientos ya mencionados, por lo tanto en el factor C de (WPM+AIA) Woody Plant Medium más Acido Idol Acético con longitud 0,35 cm, esto demostró una diferencia de longitud significativa con respeto a los demás tratamientos. Al momento realizar el análisis respectivo los tratamientos no demostraron diferencia significativa.

Tabla 11: Resultado de la variable de longitud de los brotes (LB) durante los 70 días.

Tratamientos	Longitud de brotes
WPM+Z	5,15 a
WPM+2iP	3,23 ab
MS+2iP	2,79 b
MS+Z	2,34 bc
MS+AIA	1,37 bc
Testigo	1,06 bc
WPM+AIA	0,35 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021).

Al momento de ingresar el material vegetativo de la variable de longitud de brotes mediante los 70 días, las hormonas que tuvieron un mejor porcentaje de crecimiento fue (WPM+Z) Woody Plant Medium en composición con Zeatina con una longitud de 5,15 cm, seguido de la (WPM+2iP) Woody Plant Medium más N6-(2-isopentenilo)adenina con una longitud de 3,23 cm, mientras que en menor longitud fue (WPM+AIA) Woody Plant Medium más el Ácido Idol Acético con longitud de 0,35 donde existe un desacuerdo, a lo expuesto por el autor Angulo (2015) muestra que la longitud de brote mediante (Z) Zeatina genera brotes mayores de longitud ya que la hormona interviene en la inducción de formación de brotes y equilibra la dormancia apical. Por otro lado los autores Gómez y Esquivel (2013) determinan que al usar el 2ip respecto a otras citoquininas se infiere que se obtendría mayor longitud de brotes lo cual facilita su adaptabilidad y mejora las condiciones al momento de ingresar a los inverdaneros.

11.3. Variable del número de brotes por explante (NBE) durante los 70 días que se encontraba en la fase de multiplicación.

Mediante la investigación que se desarrolló se puede determinar que las hormona que mejor número de brotes por explante (NBE) fueron los tratamientos (MS+Z) Murashige y Skoog combinado con Zeatina con 1,4, (WPM+Z) Woody Plant Medium con el 1,4 así como también el tratamiento (WPM+2iP) Woody Plant Medium más N6-(2-isopentenilo)adenina con 1,3 de los cuales se los denominaron como factor A, estos fueron los tres tratamientos que mayor porcentaje de brotes por explantes obtuvo a los 70 días, seguido del factor AB (MS+2iP) Murashige y Skoog mas Adenina con 1,1,(T) Testigo con 0,4 denominado como factor BC por lo tanto los tratamientos que se consideran como factor C fueron los tratamientos (MS+AIA)Murashige y Skoog mas las combinación del Ácido Idol Acético con el 0,3 así como él (WPM+AIA) Woody Plant Medium más el Ácido Idol Acético con un 0,2 estos representan un porcentaje bajo de brotes por tal estos valores no son significativos para el factor A, sin embargo al realizar el análisis de estudio se demuestra que no son significativos al valor obtenido.

Tabla 12: Resultado de la variable del número de brotes por explante (NBE) a los 70 días.

Tratamientos	Número de brotes por explante
MS+Z	1,4 a
WPM+Z	1,4 a
WPM+2iP	1,3 a
MS+2iP	1,1 ab
Testigo	0,4 bc
MS+AIA	0,3 c
WPM+AIA	0,2 c

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021).

A partir de los resultados obtenidos se puede identificar que la variable evaluada de número de brotes por explantes, el mejor rendimiento se presentó en los tratamientos (MS+Z)Murashige y Skoog combinado con Zeatina con el 1,4 y el (WPM+Z) Woody Plant Medium más Zeatina con el 1,4 y el (WPM+2iP) Woody Plant Medium más Adenina con el 1,3 de brotes por explantes seguido de (MS +2iP) Murashige y Skoog mas N6-(2-isopentenilo)adenina con el 1,1, de brote por explante, así mismo se registró tratamientos con menor índices de brotes por explante como es el caso del (WPM+AIA) Woody Plant Medium más el Ácido Idol Acético con el 0,2, este resultado determina con

lo mencionado por Cüce y Sökmen (2015) que las (MS+Z),(WPM+Z) y la (WPM+2iP) es apreciado como los mejores medios que provoca un incremento llamativo de la tasa de multiplicación de los brotes ya que la Zeatina interviene como inductor en la división celular y el desarrollo de cloroplastos y el 2ip construye ADN - ARN y almacena la energía celular, por los cuales son los más utilizado para la obtención de mayor número de brotes.

11.4. Variable del número de hojas por explante (NHE) a los 70 días de haberse encontrado en la fase de multiplicación.

Con el resultado obtenido en el estudio se puede observar que la hormona de mayor porcentaje de números de hojas por explante (NBE) desarrolló fue el tratamiento (WPM+Z) Woody Plant Medium en combinación de Zeatina con el 20 de números de hojas denominado como factor A, seguido del tratamiento (MS+2iP) Murashige y Skoog mas N6-(2-isopentenilo)adenina con el 19, pero sin embargo hay otros tratamientos que fueron considerados como factor A como son:(WPM+2iP) Woody Plant Medium más N6-(2-isopentenilo)adenina con el 18,3,(MS+Z) Murashige y Skoog combinado con Zeatina demostrando el 17,3, estos tratamientos no muestran diferencia significativa y como factor B está el (T) testigo con el 3,3,continua del (MS+AIA) Murashige y Skoog mas Acido Idol Acético con el 3 y el (WPM+AIA) Woody Plant Medium más Acido Idol Acético con el 1,2 de números de hojas.

Tabla 13: Resultado de a variable del número de hojas por explante (NHE) a los 70 días.

Tratamientos	Número de hojas por explante
WPM+Z	20 a
MS+2iP	19 a
WPM+2iP	18,3 a
MS+Z	17,3 a
Testigo	3,3 b
MS+AIA	3,0 b
WPM+AIA	1,2 b

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021).

Con el estudio realizado de las diferentes hormonas de crecimiento se obtuvo un significado en la variable de números de hojas de acuerdo a los resultados expresados en la tabla 13 (WPM+Z) Woody Plant Medium más la combinación de Zeatina con el 20,

seguido del tratamiento (MS+2iP) con el 19, de los cuales se demostró que estos dos tratamientos expresaron un mayor resultado en cuanto a al número de hojas por explante, mientras que el tratamiento de menor eficacia desarrollo fue (WPM+AIA)Woody Plant Medium más el Ácido Indol Acético con el 1,2 de números de hojas por explante, esto no concierne con lo expuesto por Rodríguez y Morales (2015), donde identifica que la actividad del cultivo in vitro del arándano con el (WPM+Z) refleja en la continuidad de crecimiento de brotes y sus hojas, lo cual repercute en mayor área foliar para maximizar la eficiencia fotosintética de los cultivos. Sin embargo Quispe (2010) señala que la terminación de los medios de cultivos combinados permite incrementar la capacidad de regenerar un mayor número de hojas expandidas tanto en el color y vigor.

Transcurrido los 30 días se observó que la mayoría de los brotes presentaron raíces con una formación moderada de callos y una longitud de brote de 5cm, por ende el medio de enraizamiento (WPM+B) conocido como Woody Plant Medium más la combinación de Ácido Indol Butírico en dosis (WPM 1g/L)/(B 0,5mg/L), garantiza buenos resultados de enraizamiento, de acuerdo con (Castro et al., 2013), el enraizamiento in vitro de la mayoría de especies del género *Vaccinium* no ha sido efectivo, según Pereira (2009), el enraizamiento en especies leñosas presentan problemas de contaminación y dormancia y baja respuesta de enraizamiento.

Al lapso de 15 días después del trasplante las plantas de arándano han alcanzado una altura promedio de 10cm y se encuentran aclimatizadas al medio exterior, por ende son trasladadas del micro túnel al invernadero, según Paganni (2002), el encharcamiento es un enemigo mortal del arándano, George (1996), antes del trasplante incrementa la proporción de raíces y sobrevive a la aclimatación.

11.5. Protocolo establecido

- **Protocolo de recolección**

El material vegetativo debe ser recolectado en la misma zona o lugares aledaños al laboratorio se debe seleccionar una planta madre o elite joven la cual es libre de agentes patógenos, que cuente con características excelentes fisiológicamente y posea un historial bueno en producción, la recolección de los explantes se lo realiza de la parte inferior de

la planta, es recomendable que el material vegetativo seleccionado no sea maduro ni precoz para obtener buenos resultados en el desarrollo de los nuevos clones.

También es de importancia que la selección de los explantes sea de una planta joven y que los explantes sean de mayor diámetro ya que estas son las que mayores resultados presentan.

- **Protocolo de preparación del material vegetativo**

Es de importancia realizar la desinfección del área de trabajo así como los materiales a utilizarse, cabe mencionar que el lavado de manos es muy esencial para evitar cualquier contaminación al momento de extraer las hojas del material vegetativo para la introducción a la cámara de flujo laminar, la extracción de hojas se lo debe hacer con cautela para evitar daños en las yemas que serán utilizadas, seguidamente se realiza cortes transversales de aproximadamente 1.5 a 2 cm con dos yemas que no estén en mal estado ni hayan alcanzado su madurez ni mucho menos precoces, una vez realizado este proceso se procede a realizar agrupaciones donde se puede clasificar los explantes por su grosor, ya terminado la agrupación se prosigue a la asepsia del material vegetativo.

- **Protocolo de desinfección:**

El protocolo de desinfección consiste en realizar el lavado de manos con agua y jabón comercial para eliminar todo tipo de patógenos existentes en nuestras manos y poder manipular el material vegetativo, todo este proceso se lo realiza en la cámara de flujo laminar así mantenemos una mejor asepsia, seguidamente se realiza un proceso de asepsia en tres fases de desinfección la primera consiste en una desinfección en una mezcla de alcohol industrial al 70% más el 30% de agua destilada obteniendo el 100% de este compuesto aquí se introduce el material vegetativo por 5 minutos, la segunda desinfección se basa en una solución de 70% de hipoclorito de sodio (NaCl) más el 30% de agua destilada, obteniendo una concentración del 100% de esta solución, el material vegetativo es introducido por 10 minutos y se debe agitar continuamente, la tercera desinfección consiste realizar 3 enjuagues en agua destilada en intervalos de tiempo de 5min, 10min, 10min una vez terminado este lapso de tiempo el proceso de asepsia culmina y obtenemos un material idóneo para ser introducido in vitro.

Seguidamente se debe esterilizar los materiales a utilizar estos deben ser autoclavados y esterilizados con alcohol industrial y alcohol antiséptico, al mismo tiempo se encendió la luz ultravioleta de la cámara de flujo laminar con el objetivo de tener una desinfección más eficaz antes de realizar el ensayo.

- **Preparación de Introducción del material vegetativo para establecimiento in vitro:**

En esta fase consiste en preparar el medio de introducción (MS+2iP) que corresponde al nombre de Murashige y Skoog en dosis de 1.5g mas la combinación de la hormona de crecimiento N6-(2-isopentinilo) adenina (2iP) en dosis de 2.5mg/L este medio se realiza para hacer la introducción al laboratorio por 8 semanas para luego iniciar la fase de multiplicación.

- **Multiplicación axilar del arándano in vitro:**

Concluida la fase de introducción in vitro procedemos a realizar el medio de multiplicación por ende detallare el medio más idóneo para la multiplicación in vitro del arándano, por consiguiente a los resultados obtenidos mencionamos al medio (WPM+Z) que corresponde al nombre de Woody Plant Medium más la combinación de la hormona de crecimiento Zeatina (Z), en dosis de WPM 2g/L+Z 1mg/L, obteniendo resultados sobresalientes de longitud, número de brotes por explantes y hojas por explante obteniendo un resultado de 8.85 con respecto a los demás tratamientos.

Cabe mencionar que el tratamiento (MS+2iP) que corresponde al nombre de Murashige y Skoog mas la combinación de la hormona de crecimiento N6-(2-isopentinilo) adenina (2iP) en dosis de MS 1.5g/L+ 2iP 2.5mg/L obtuvo resultados viables en longitud, número de brotes por explantes y hojas por explante, obteniendo un resultado de 7.63 de desarrollo en los explantes.

- **Enraizamiento y A-climatización**

El medio de enraizamiento idóneo para el arándano es (WPM+B) que corresponde al nombre de Woody Plant Medium más la combinación de Ácido Indol Butírico en dosis

de WPM 1g/L/B 0.5mg/L la fase de a-climatización consiste en trasplantar las plántulas de arándano en una mezcla de cascarilla de arroz, turba, piedra pómez y compost, debe permanecer por un lapso de 15 días con 50% de sombra luego se trasladan a invernadero.

12. ANÁLISIS DE COSTO

Para este respectivo análisis de costos de los tratamientos se logró demostrar que unos de los mayores precios que se obtuvo dentro de los tratamientos fue el T1 con una dosis 1.5g/L+1mg/L y el T4 con una dosis de 2g/L+1mg/L con un precio de 64,00 USD. Esto representa un aproximado de 5 explantes por los 10 frascos llegando a tener 50 platas por tratamiento.

Tabla 14: Análisis de costos de la investigación.

Costos	Material vegetativo	Alquiler de materiales y equipos	Transporte	Costo de hormonas	Costo total
MS+Z 1.5g/L+1mg/L	0,10	40	20	4,00	64,00
MS+2iP 1.5g/L+2.5mg/L	0,10	40	20	2,00	62,00
MS+AIA 1.5g/L+4mg/L	0,10	40	20	1,25	61,00
WPM+Z 2g/L+1mg/L	0,10	40	20	4,00	64,00
WPM+2iP 2g/L+2.5mg/L	0,10	40	20	2,00	62,00
WPM+AIA 2g/L+1mg/L	0,10	40	20	1,25	61,25
T	0,10	40	20	0,00	60,00

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021).

13. IMPACTO (técnico, social, ambiental o económico)

- **Técnicos**

Esta investigación realizada genero impactos técnicos de gran importancia en el ámbito agrícola, ya que presenta resultados eficientes en cuanto a la propagación del cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum L*), siendo así una alternativa con impactos beneficiosos para los agricultores ya que obtienen plantas genéticamente viables libres de cualquier tipo de agente patógeno.

- **Social**

El impacto social generado en este proyecto es muy grande, debido a la sociedad que hoy en día vivimos, necesitan plantas de buena calidad y de mayor producción, con el cultivo in vitro o de tejidos se puede obtener una multiplicación acelerada o masiva de cualquier especie vegetal y a la vez se precautela el material genético de nuestras especies.

- **Ambiental**

El impacto ambiental con la utilización de la propagación de cultivos in vitro se ha mostrado que es de gran importancia ya que con esta técnica se pueden obtener una multiplicación masiva de especies vegetales esto permite reducir el impacto ambiental producido al multiplicar plantas en viveros permitiendo reducir fundas plásticas gavetas de germinación y el mal uso de agroquímicos que terminaran en el ambiente y en el planeta.

- **Económicos**

En este proyecto realizado genero impactos económicos beneficiosos en el uso de cultivos in vitro, debido a que genera efectos considerables en el cultivo y así obteniendo unos buenos resultados, en cuanto a la propagación, ya que en la actualidad las especies vegetales que son mejoradas genéticamente tienen un costo alto, con esta técnica se trata de obtener plantas de buena calidad que conserven su material genético libres de agentes patógenos y a un menor costo.

14. PRESUPUESTO

El presupuesto establecido se presenta en la siguiente Tabla 15

Tabla 15: Presupuesto de la investigación.

Recursos	Unidad	Cantidad	Valor unitario (USD)	Valor total (USD)
A. Costos Directos				
1. Mano de obra				
Recolección del material vegetativo	jornal	10	0,2	2
Preparación del material vegetativo	jornal	2	12	24
Establecimiento del material aséptico	jornal	2	12	24
Instalación de los frascos	jornal	2	12	24
Control de condiciones ambientales	jornal	3	1,5	4,5
Subtotal				78,5
2. Insumos				
Hormonas	l	6	70	420
Hipoclorito de sodio	l	1	10	10
Agar	l	1	30	30
Alcohol	gl	1	20	20
Agua destilada	l	1	10	10
Sales minerales	kg	2	25	50
Subtotal				540
Total, cotos directos				
B. Costos indirectos				
Materiales				
Vasos de precipitación	Unidad	70	0,5	35
Caja de bisturí	Unidad	1	10	10
Paquete de servilletas	Unidad	2	2	4
Paquete de mascarillas	Unidad	1	0,1	4
Tubos de ensayo	Unidad	2	0,5	1
Mechero	Unidad	2	15	30
Probeta	Unidad	6	5	30
Frascos de vidrio	Unidad	70	0,25	17,5
Pinzas	Unidad	2	2	4
Mandil	Unidad	2	8	16
Trasporte	Unidad	15	4	60
Viáticos	Unidad	15	4	60
Equipos				
Cámara de flujo laminar	Unidad	1	50	50
Autoclave	Unidad	1	50	50
Balanza analítica	Unidad	1	50	50
Plancha de calentamiento	Unidad	1	50	50
Agitador magnético	Unidad	1	50	50
pH – Metro	Unidad	1	30	30
Microondas	Unidad	1	12	12
Subtotal de costos indirectos				563,5
Total de costos directos				618,5
TOTAL DE COSTOS				1182,00

Elaborado por: Cayo y Peralta (2021)

15. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

15.1. Conclusiones

Luego de realizar el proyecto de investigación se puede concluir que:

- Para el manejo del explante de partida que fue introducido al laboratorio llegó a obtener un sin número de resultados en los diferentes tratamientos que se realizó, lo cual se determina que el material elite demostró ser idóneo para la propagación in vitro ya que no se obtuvo un alto porcentaje de contaminación del arándano (*Vaccinium corymbosum L.*).
- Al concluir la investigación podemos mencionar que las condiciones idóneas para la esterilización de los materiales y del explante de partida se basa en el cumplimiento de la asepsia lo cual consiste en realizar varios lavados y enjuagues en diferentes sustancias teniendo como resultado el 4% de contaminación lo que a nivel de laboratorio este resultado es viable.
- El medio adecuado para la multiplicación in vitro del arándano es el tratamiento 4 denominado (WPM+Z), fue el que desarrollo mayores resultados de longitud de brote, número de brotes por explante y número de hojas por explante.
- Por lo tanto aceptamos la hipótesis alternativa la misma que menciona que la propagación desarrollada en base a la combinación de agentes desinfectantes y concentración de componentes del medio de cultivo si permiten el establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*) a partir de meristemas axilares.

15.2. Recomendaciones

- Realizar una buena selección del explante de partida, este debe estar libre que cualquier agente patógeno ya que estos podrían ser agentes causales de contaminación in vitro, la planta madre o elite debe presentar características sobresalientes sobre las demás debe tener 1 año de edad y cerciorarse que el material recolectado no esté en su madurez total ni tampoco prematuro ya que las yemas no resistirán la asepsia y no podrán desarrollarse.
- También se recomienda hacer controles fitosanitarios a las plantas seleccionadas como madre o plantas elite para así bajar la carga de agentes patógenos de la planta, es de importancia realizar un proceso de asepsia antes de introducir el material vegetativo al cuarto de cultivo.
- De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación recomendamos utilizar el tratamiento 4 denominado (WPM+Z), ya que este obtuvo resultados insólitos de desarrollo como son longitud de brotes en 5,15cm, número de brotes por explantes de 1,4% y número de hojas por explante de 20%, en comparación a los demás, cabe mencionar que el tratamiento 2 denominado (MS+2iP), recomendamos de igual manera ya que demostró longitud de brotes en 2,79cm, número de brotes por explantes de 1,1% y número de hojas por explante de 19%, lo que le convierte en un tratamiento viable.
- Se recomienda dar seguimiento a la investigación luego de la fase de aclimatización de igual forma a la planta que ya se encuentre establecida en el cultivo.

16. BIBLIOGRAFIA

- Angulo, A. (2015). Micropropagación de cuatro cultivares de arandano (*Vaccinium* spp) a partir de segmentos foliares de dos procedencias. *Agronomía Costarricense*, 7-23.
- Biovegetal. (21 de junio de 2018). El arándano, un fruto de reciente producción en el país. Obtenido de <https://www.revistalideres.ec/lideres/arandano-fruto-reciente-produccion-ecuador.html>
- Bonilla, A. (2018). Protocolo de micropropagación de arándano nativo de Costa Rica (*Vaccinium* spp). *Tecnología en Marcha*. Vol. 31. pp, 144-146.
- Burriel, P. (2003). Efecto de la aplicación de trans-zeatina ribósido sobre el crecimiento de banano (*Musa* AAA Simmonds) cv. Williams en etapa juvenil. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias Agrarias, Departamento de Agronomía, Bogota, Colombia.
- Castillo, A. (2010). Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos Acompaña hace mucho tiempo. Recuperado de: <http://www.inia.uy/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Castillo, G. (2005). Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana. Instituto Cubano de Investigaciones de los
- Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA) *Anales de Biología*. Vol. 27. 137-142.
- Carrera, J. (2012). Manual práctico para la creación y desarrollo de plantaciones de arándanos. *Tecnología agroalimentaria*, pp, 9-15.
- Costa y Ramina, A. (2014). *Especies de frutas templadas*.
- Cruz, F. (2012). Micropropagación de arándano; Manual de prácticas. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de estudios superiores.
- Cüce, M., y Sökmen, A. (2015). Micropropagación de (*Vaccinium myrtillus* L.) Arándano de forma natural creciendo en la flora turca. *Revista turca de biología*, 233-240.
- Ecuaarandano. (16 de junio de 2018). Un pionero en cultivar arándano. Obtenido de <https://www.revistalideres.ec/lideres/cultivos-arandano-fruta-empresa-guayllabamba.html>

- Ecuuarandano. (31 de mayo de 2018). Ecuador emprende producción de arándanos para consumo interno. Obtenido de <https://www.revistalideres.ec/lideres/arandano-fruto-reciente-produccion-ecuador.html>
- Flores, L., Robledo, A., & Jimarez, M. (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento in vitro de orquídeas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8, 1.
- Gómez, H., y Esquivel, A. (2013). Establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). *Tecnología en Marcha*, 64-71
- Gonzales, A. (2017). Protocolos de desinfección de explantes durante la micropropagación de *Cedrela odorata*. Universidad Estatal del Sur Manabí.
- Hernández, J., Aramendiz, H., y Cardona, C. (2005). Influencia del ácido indolbutírico y ácido naftalenoacético sobre el enraizamiento de esquejes de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl). *Temas Agrarios*, 10, 2.
- Hine y Abdelnour, A. (2013). Establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L). *Tecnología en Marcha*, 26(4), 64-71.
- Hine, A., y Abdelnour, A. (2013). Establecimiento in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L). *Tecnología en Marcha*, Vol. 26, N°4. pp, 64-71.
- Hong, S. (2005). Enfermedades en el cultivo de arándano. *Experiencia Tucumán, Info Berry*. Vol. 11. pp, 24-25.
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología (INAMHI). 2015. Registro anual de observaciones meteorológicas. Estación Agrometeorológica Querochaca. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Ambato, Ecuador.
- Kaldmaes, H., Karp, K., y Paal, T. (2006). Efecto de la condición fisiológica de la planta donante en la estabilización in vitro de explantes de brotes de (*Vaccinium angustifolium*). *Acta Horticulturae*, 433-438
- Lencina, K., Bisognin, D., Kielse, P., & Pimentel, N. (2017). Enraizamiento y aclimatación de plantas de *Apuleia leiocarpa*. *Agrociencia*, 51, 3.
- Mego, M. (2016). El cultivo de los “berries”. *Revista de la Escuela de Posgrado*. Obtenido de <file:///C:/Users/Usuario/Downloads/625-25-1183-1-10-20190405.pdf>

- Muñoz, C. (2015). Arándano; antecedentes generales. Obtenido de <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/seriesinia/NR06972.pdf>
- Murashige, T & Skoog, F. (1962). Un medio revisado para un rápido crecimiento y bioensayos con cultivos de tejidos de tabaco. *Physiol. Plant.* Vol. 15. pp, 473-497.
- Ñancato, P. (6 de junio de 2018). 1. Obtenido de <https://www.revistalideres.ec/lideres/cultivos-arandano-fruta-empresa-guayllabamba.html>
- Quispe, A. (2010) Auxinas y citoquinina en la micro propagación de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) de las variedades biloxi y misty en Arequipa. Arequipa: tesis de grado.
- Razdan, A. (2003). Introducción al cultivo de tejidos vegetales. Science Publishes, 35-40.
- Rathore, J.; Vinod, N.; Shekhawat, N.; Sigh, R., Liler, G.; Phulmaria, M.; Dagla, H. (2005). Micropropagation de woodg phants. Unidad de Biotecnología, Departamento de botanica, Universidad JNV, Jodhpur, India.
- Rodríguez, M.; Chacon, M.; Carillo, R. (2014). Efecto de la concentración y de los componentes del medio de cultivo MS sobre la germinación in vitro de *Ugni molinae*. Universidad Católica de Temuco, Facultad de Recursos Naturales, Escuela de Agronomía, Rudecindo Ortega 02950, Temuco, Chile. Vol. 35, N° 1. pp,119-122.
- Rodríguez, M., y Morales, D. (2015). Efecto de la densidad de explante y el volumen de medio de cultivo sobre la multiplicación in vitro de arandano (*Vaccinium corymbosum* L.) variedades Brigitta y Legacy. *SciELO Peru*, 6(1), 31-40.
- Troncoso, A., Matte, C., Venega, M., y Cantos, M. (2006). Influencia de la concentración de sacarosa en el medio, sobre la respuesta de material de vid "in vitro". .
- Undurraga, P y Vargas, S. (2013). Manual de arandano. Boletín INIA N° 263. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Centro Regional Quilamapu, Chillan, Chile. Obtenido de <http://biblioteca.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR39094.pdf>

- Valdenegro, E. (2007). Plan de negocios para empresa productora y comercialización de arándano. Universidad de Chile.
- Valenzuela, J. (1988). Requerimientos agroclimáticos de las especies de arandano.
- Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Estación Experimental Carillanca, Temuco Chile.

17. ANEXOS

Anexo 1: Hoja de vida del docente tutor



CURRICULUM VITAE

Apellidos: Espinosa Cunuhay
Nombres: Kleber Augusto
Cédula de Identidad: 050261274-0
Teléfonos: 0995463215-032250251
Correo electrónico: kleber.espinosa@utc.edu.ec
[/espinosakleber23@yahoo.es](mailto:espinosakleber23@yahoo.es)

- Universidad Técnica de Cotopaxi, Maestría en Gestión de la Producción
- Coordinador de la Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Técnica de Cotopaxi – Extensión La Maná
- Docente Investigador- Responsable del Comité de Editorial, Universidad Técnica de Cotopaxi – Extensión La Maná
- Responsable del proyecto de Creación de la Unidad Educativa, Unidad Educativa Comunitaria Intercultural Bilingüe Cesar Sandoval Viteri
- Responsable del Proyecto de Germoplasma de Semillas de Papas Nativas del Sector Maca Ugshaloma con el Plan Internacional y el INIAP

TEXTOS ESCRITOS

- Evaluación agronómica de hortalizas de hoja, Col china y nabo ISBN: 978-3-8417-6367-9 Editorial Académica Española Disponible en: <https://www.eapublishing.com/catalog/details/store/es/book/978-3-8417-63679/evaluaci%C3%B3n-agron%C3%B3mica-de-hortalizas-de-hoja?search=hortalizas>.

ARTICULOS CIENTIFICOS

- **Efecto de diferentes abonos orgánicos en la producción de tomate (*Solanum lycopersicum*, L)**, publicado en la revista Biotecnia Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 11 de diciembre 2016 disponible en: <http://biotecnia.unison.mx>
- **Evaluación agronómica del babaco (carica pentagona), con dos fertilizantes químicos en diferentes dosis en el Cantón Pangua**, publicado en la revista UTC ciencia latindex, agosto de 2016 ISSN 1390- 6909. Disponible en <http://www.utc.edu.ec/LinkClick.aspx?fileticket=o0SU5nuTvrs%3d&portalid=043>
- **Respuesta de variedades de papa (*Solanum Tuberosum*, L) a la aplicación de abonos orgánicos y fertilización química**, publicado en la revista Ciencia y Tecnología de la UTEQ latindex, junio de 2016 con ISSN 1390-4051 Impreso.

Anexo 2: Hoja de vida del estudiante investigador

CURRICULUM VITAE**DATOS PERSONALES:**

NOMBRES: Nallely Yamilex
APELLIDOS: Cayo Toaquiza
NÚMERO DE CÉDULA: 050405262-2
FECHA DE NACIMIENTO: 19 de Julio de 1997
LUGAR DE NACIMIENTO: La Maná
NACIONALIDAD: Ecuatoriana
ESTADO CIVIL: Soltera
DIRECCIÓN DOMICILIARIA: El Tingo Pujilí – Recinto Guayacán
CELULAR: 0984666112
E-MAIL: nallely.cayo2622@utc.edu.ec

FORMACIÓN ACADÉMICA

PRIMARIA: Dr. Leónidas García Ortiz
SECUNDARIA: Colegio de Bachillerato Once de Noviembre
SUPERIOR: Universidad Técnica de Cotopaxi “La Maná”

TÍTULOS OBTENIDOS

BACHILLER: Contabilidad y Administración

CURSOS REALIZADOS

Suficiencia en inglés: Universidad Técnica de Cotopaxi.
2017. II. Jornadas Científicas Agronómicas. UTC – La Maná, Ecuador.
2018. III. Jornadas Científicas Agronómicas. UTC – La Maná, Ecuador.
2019. AGROCALIDAD y la Universidad Técnica de Cotopaxi – Extensión La Maná.
2019. Segundo Congreso Internacional de Ciencias Agropecuarias para la Soberanía Alimentaria – Santa Elena, Ecuador

Anexo 3: Hoja de vida del estudiante investigador

CURRICULUM VITAE**DATOS PERSONALES:**

NOMBRES: Eduardo Antonio
APELLIDOS: Peralta Piedadmag
NÚMERO DE CÉDULA: 172653839-8
FECHA DE NACIMIENTO: 04 de Julio de 1993
LUGAR DE NACIMIENTO: Quito
NACIONALIDAD: Ecuatoriana
ESTADO CIVIL: Soltero
DIRECCIÓN DOMICILIARIA: Quito - Píntag
CELULAR: 0999048720
E-MAIL: eduardo.peralta8398@utc.edu.ec

FORMACIÓN ACADÉMICA

PRIMARIA: Escuela Cristóbal Colón
SECUNDARIA: Colegio Nacional Rumiñahui
SUPERIOR: Universidad Técnica de Cotopaxi “La Maná”

TÍTULOS OBTENIDOS

BACHILLER: Ciencias Generales

CURSOS REALIZADOS

Seminario: Tercer Congreso sobre la Mosca de la Fruta
Dictado: AGROCALIDAD y la Universidad Técnica de Cotopaxi – Extensión La Maná
Lugar y Fecha: La Maná 19, 20, 21 de junio de 2019
Seminario: Segundo Congreso Internacional de Ciencias Agropecuarias para la Soberanía Alimentaria
Dictado: Universidad Estatal Península de Santa Elena
Lugar y Fecha: Santa Elena, 15 de noviembre de 2019

Anexo 4: Preparación del material vegetativo de partida del arándano (*Vaccinium corymbosum* L).

Fotografía 1: Material vegetativo arándano



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 2: Extracción de hojas de los explantes



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 3: Corte de explantes de 1 a 3 yemas



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 4: Agrupación de explantes



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Anexo 5: Fase de esterilización del material vegetativo de partida

Fotografía 5: Solución Hipoclorito de Sodio al 70%



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 6: Alcohol al 70%



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 7: Enjuague en la cámara de flujo laminar



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 8: Agua estéril 30%



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Anexo 6: Fase de Introducción in vitro**Fotografía 9: Preparación de medio****Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).****Fotografía 10: Medio (MS+2iP)****Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).****Fotografía 11: Introducción del explante****Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).****Fotografía 12: Cámara de crecimiento****Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).**

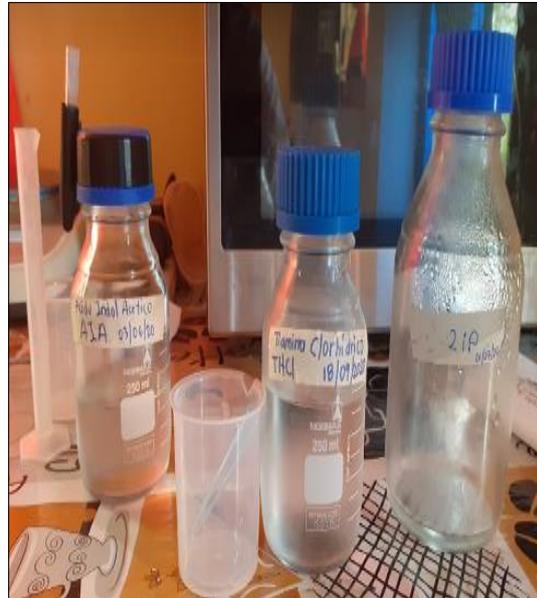
Anexo 7: Fase de multiplicación del arándano

Fotografía 13: Medios (MS) y (WPM)



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 14: Hormonas de crecimiento



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 15: Tratamientos



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 16: Fase de multiplicación



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 17: Multiplicación de los explantes



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 18: Tratamientos de desarrollo de brotes



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 19: Traslado hacia la cámara de crecimiento



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Anexo 8: Fotografías de los diferentes tratamientos

Fotografía 20: T1 Murashige más Zeatina



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 21: T2 Murashige más 2iP



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 22: T3 Murashige más Ácido Indol Acético



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 23: T4 Woody Plant Medium más Zeatina



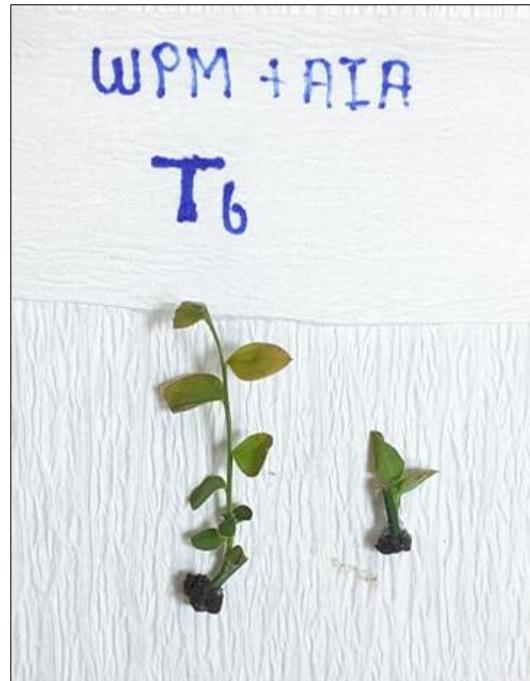
Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 24: T5 Woody Plant Medium más 2iP



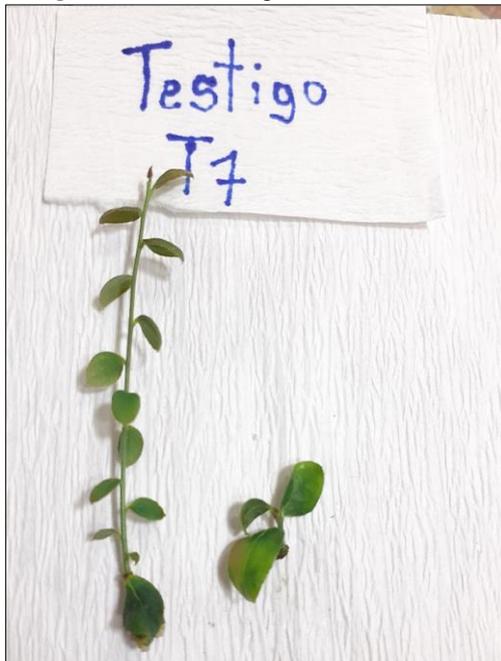
Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 25: T6 Woody Plant Medium más Ácido Indol Acético



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 26: T7 Testigo



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Anexo 9: Toma de datos de las variables a evaluar

Fotografía 27: Porcentaje de contaminación



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 28: Explantes contaminados



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 29: Longitud de Brote por explante



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

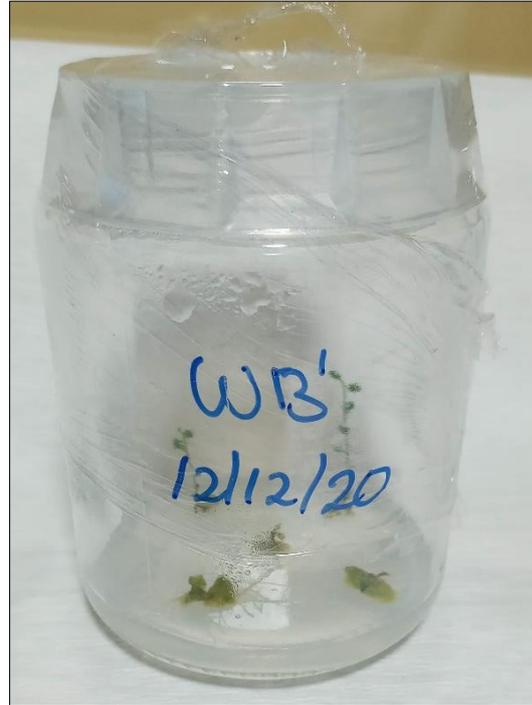
Fotografía 30: Número de brote por explante



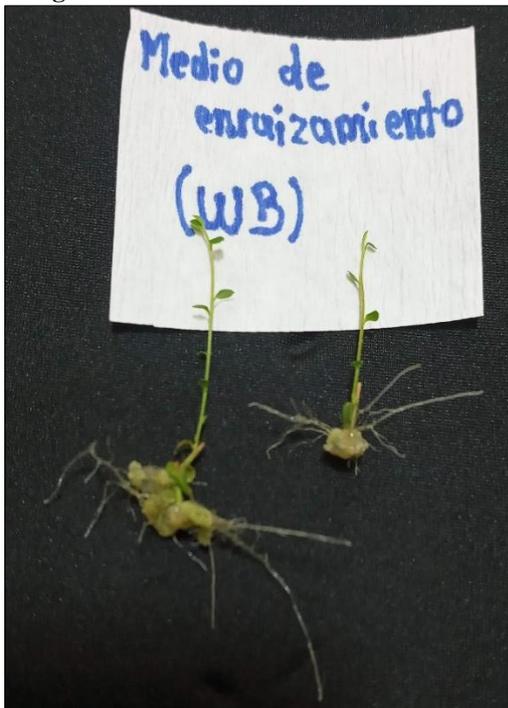
Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Anexo 10: Fase de enraizamiento**Fotografía 31: Micro estacas con 1 yema**

Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 32: Medio de enraizamiento (W+B)

Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 33: Brotes enraizados

Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Anexo 11: Fase de A-climatización

Fotografía 34: Preparación de tierra antes de trasplante cascarilla de arroz, piedra pomex, turba y compost.



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 35: Mezcla homogénea



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 36: Llenado de tierra



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 37: Trasplante de arándano



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 38: Plántulas bajo micro túnel



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 39: Plántulas aclimatizadas al medio exterior



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Fotografía 40: Plántulas bajo invernadero



Elaborado por: Cayo & Peralta (2021).

Anexo 12. Análisis del anti-plagió

Document Information

Analyzed document	WORD-CAYO NALLELY-PERALTA EDUARDO.docx (D97653959)
Submitted	3/8/2021 9:20:00 PM
Submitted by	
Submitter email	kleber.espinosa@utc.edu.ec
Similarity	7%
Analysis address	kleber.espinosa.utc@analysis.arkund.com