



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS  
NATURALES

CARRERA DE AGRONOMÍA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

**“EVALUACIÓN DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO CON  
LA APLICACIÓN DE TRES HORMONAS: ÁCIDO INDOLBUTÍRICO  
(IBA), 6-BENCILAMINOPURINA (BAP) Y ÁCIDO GIBERÉLICO  
(GA3) EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN IN VITRO DEL  
MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*).”**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de

Ingeniera Agrónoma.

**Autora:**

Toapanta Vilca Lady Mercedes

**Tutor:**

Cuadrado Barreto Geraldo Ariolfo

LATACUNGA – ECUADOR

Julio 2025

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Toapanta Vilca Lady Mercedes, con cédula de ciudadanía No. 0550209365, declaro ser autora del presente Proyecto de Investigación: grado “**EVALUACIÓN DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO CON LA APLICACIÓN DE TRES HORMONAS: ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (IBA), 6-BENCILAMINOPURINA (BAP) Y ÁCIDO GIBERÉLICO (GA3) EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN IN VITRO DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*)**”, siendo el Ingeniero Mg. Geraldo Ariolfo Cuadrado Barreto 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, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 22 de julio del 2025

Lady Mercedes Toapanta Vilca

C.C: 0550209365

**ESTUDIANTE**

## 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 **TOAPANTA VILCA LADY MERCEDES** identificada con cédula de ciudadanía **0550209365** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, 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 CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Agronomía, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Evaluación de diferentes medios de cultivo con la aplicación de tres hormonas: ácido indolbutírico (IBA), 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido giberélico (GA3) en la fase de multiplicación in vitro del mortino (*Vaccinium floribundum*).”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

### **Historial Académico**

Inicio de la carrera: octubre 2020 - marzo 2021

Finalización de la carrera: abril – agosto 2025

Tutor: Ing. Geraldo Ariolfo Cuadrado Barreto, Mg.

Tema: “**EVALUACIÓN DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO CON LA APLICACIÓN DE TRES HORMONAS: ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (IBA), 6-BENCILAMINOPURINA (BAP) Y ÁCIDO GIBERÉLICO (GA3) EN LA FASE DE MULTIPLICACION IN VITRO DEL MORTINO (*Vaccinium floribundum*).**”

**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 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 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.

e) 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 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 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 CEDENTE** en forma escrita.

**CLÁUSULA NOVENA.** - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la 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 22 días del mes de julio del 2025.

Lady Mercedes Toapanta Vilca  
**LA CEDENTE**

Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.  
**LA CESIONARIA**

## **AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACION**

En calidad de Tutor del Proyecto de Investigación con el título:

**“EVALUACIÓN DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO CON LA APLICACIÓN DE TRES HORMONAS: ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (IBA), 6-BENCILAMINOPURINA (BAP) Y ÁCIDO GIBERÉLICO (GA3) EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN IN VITRO DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*)”** de Toapanta Vilca Lady Mercedes, de la carrera de Agronomía, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la pre-defensa.

Latacunga, 22 de julio del 2025

Ing. Geraldo Ariolfo Cuadrado Barreto, Mg.  
C.C: 0603109737  
**DOCENTE TUTOR**

## **AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN**

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos 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 cuanto, la postulante Toapanta Vilca Lady Mercedes, con el título del Proyecto de Investigación: **“EVALUACIÓN DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO CON LA APLICACIÓN DE TRES HORMONAS: ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (IBA), 6-BENCILAMINOPURINA (BAP) Y ÁCIDO GIBERÉLICO (GA3) EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN IN VITRO DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*)”**, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

Latacunga, 22 julio del 2025

Ing. Guido Yauli Chicaiza, Mg.

C.C: 0501604409

**Lector 1 (PRESIDENTE)**

Ing. Francisco Hernán Chancusig. Mg

C.C.0501883920

**Lector 2 (MIEMBRO)**

Ing. Diana Toapanta Gallegos. Mg.

C.C: 1002749800

**Lector 3 (MIEMBRO)**

## **AGRADECIMIENTO**

*Quiero expresar mi sincero agradecimiento a los docentes de la Universidad Técnica de Cotopaxi que me brindaron sus conocimientos en la formación académica. A mi tutor Ing. Mg. Geraldo Cuadrado Barreto gracias por brindarme su apoyo moral y profesional.*

*Mis sinceros agradecimientos al tribunal revisor: Ing. Mg. Guido Yauli Chicaiza, Ing. Mg. Diana Toapanta Gallegos y al Ing. Mg. Francisco Hernán Chancusig por el tiempo empleado para la revisión, orientación, recomendaciones y paciencia que ha sido fundamental para mejorar el documento.*

*Mi agradecimiento en especial a la Ing. Valeria Recalde y su familia quienes me dieron la oportunidad de realizar mi investigación en el Laboratorio de biotecnología vegetal AliPlants y a Erika Sarabia por acompañamiento y profesionalismo. Quienes, desde el primer momento, su generosidad y calidez humana marcaron una huella profunda en esta etapa de mi vida universitaria.*

***Lady Mercedes Toapanta Vilca***

## **DEDICATORIA**

*Este trabajo de investigación está dedicado a mi familia, y en especial a mi padre, Jorge Toapanta, quien, con su amor y apoyo incondicional, ha estado a mi lado en cada etapa de mi formación universitaria. Sus consejos y sabiduría han sido fundamentales para mantenerme firme a lo largo de este camino. Esta dedicatoria es un reconocimiento al esfuerzo y respaldo constante que me brindo durante todo este proceso. También agradezco profundamente a mis compañeros, quienes me motivaron a seguir por mis sueños. Su compañía fue parte importante en mi desarrollo académico y profesional.*

***Lady Mercedes Toapanta Vilca***

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**TÍTULO: “EVALUACIÓN DE DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVO CON LA APLICACIÓN DE TRES HORMONAS: ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (IBA), 6-BENZILAMINOPURINA (BAP) Y ÁCIDO GIBERÉLICO (GA3) EN LA FASE DE MULTIPLICACIÓN IN VITRO DEL MORTIÑO (*Vaccinium floribundum*)”.**

**Autora:**  
Toapanta Vilca Lady Mercedes

**RESUMEN**

La presente investigación “Evaluación de diferentes medios de cultivo con la aplicación de tres hormonas: ácido indolbutírico (IBA), 6-benzilaminopurina (BAP) y ácido giberélico (GA3) en la fase de multiplicación in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum*)” se realizó en el laboratorio de biotecnología vegetal AliPlants. El problema es el bajo desarrollo, las limitaciones de propagación convencional, la baja germinación de semilla, escaso enraizamiento por estacas y lento crecimiento, lo que dificulta la conservación y uso productivo de esta especie. El objetivo fue evaluar diferentes combinaciones hormonales en la fase de multiplicación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) a partir de segmentos nodales. Se trabajó con vitroplantas previamente establecidas, obtenidas de material vegetal recolectado en el cerro Pulpito, cantón Sigchos, provincia de Cotopaxi. Se estableció un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con 24 tratamientos y 3 repeticiones. Se utilizó el medio Woody Plant Medium (WPM) con 3 ml por tubo de ensayo suplementado con ácido indolbutírico (IBA) en tres concentraciones (0,5 ppm, 1 ppm y 1,5 ppm), 6-benzilaminopurina (BAP) en tres concentraciones (0,5 ppm, 0,8 ppm y 1 ppm) y ácido giberélico (Ga3) en tres concentraciones (0,8 ppm, 1 ppm y 1,2 ppm). Los cultivos permanecieron bajo condiciones estériles, con un fotoperíodo de 16 horas de luz y una temperatura de 22 °C. Se evaluaron variables como la altura del brote, número de brotes, número de hojas y grado de callogénesis, registrando los datos cada 8 días durante 2 meses. El análisis estadístico se realizó mediante anova y prueba Tukey al 5 % de significancia. Con los resultados obtenidos a los 2 meses se concluye que el medio más eficiente para la multiplicación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) varió según la variable evaluada, destacando el T10 en altura con una media de 2.25 cm, el T1 en número de brotes con una media de 4.33, el T16 en número de hojas con una media de 47 y los tratamientos T10, T13, T18, T19, T4, T5 y T9 en grado de callogénesis con una media de grado 3. Se recomienda continuar con los estudios iniciados de la fase de multiplicación, a fin de establecer un protocolo de propagación in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum*), especie de alto valor ecológico en los ecosistemas andinos.

**Palabras clave:** multiplicación in vitro, mortiño (*Vaccinium floribundum*), segmentos nodales, vitroplantas, hormonas, tratamientos.

# TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

## NATURE RESOURCES AND AGRICULTURAL SCIENCES FACULTY

**THEME: “EVALUATION OF DIFFERENT CULTURE MEDIA WITH THE APPLICATION OF THREE HORMONES: INDOLBUTYRIC ACID (IBA), 6-BENCYLAMINOPURINE (BAP) AND GIBBERELIC ACID (GA3) IN THE IN VITRO MULTIPLICATION PHASE OF THE MORTIÑO (VACCINIUM FLORIBUNDUM)”**

**Author:**

Toapanta Vilca Lady Mercedes

### ABSTRACT

The current research “Evaluation of different culture media with the application of three hormones: indolbutyric acid (IBA), 6-bencylaminopurine (BAP) and gibberellic acid (GA3) in the in vitro multiplication phase of the mortiño (*Vaccinium floribundum*)” It was carried out at the AliPlants biotechnology laboratory. The problem is the low development, limitations of conventional propagation, low seed germination, poor rooting by cuttings and slow growth, which it does not allow the conservation and productive use of this species. The objective was to evaluate different hormonal combinations in the in vitro multiplication phase of mortiño (*Vaccinium floribundum*) from the nodal segments. It was taken with previously established vitroplants, it was obtained from plant material collected in Pulpito hill, Sigchos canton, Cotopaxi province. it was established a completely randomized block design (CRBD) with 24 treatments and 3 replications. At the same time, it was used Woody Plan Medium (WPM) with 3 ml per test tube supplemented with indolbutyric acid (IBA) at three concentrations (0.5 ppm, 1ppm and 1.5 ppm), 6-benzylaminopurine (BAP) at three concentrations (0.5 ppm, 0.8 ppm and 1 ppm) and gibberellic acid (Ga3) at three concentrations (0.8 ppm, 1 ppm and 1.2 ppm). The cultures was remained under sterile conditions, with a photoperiod of 16 hours of light and a temperature of 22 °C. it was evaluated variables such as shoot height, number of shoots, number of leaves and degree of callogenesis, recording data every 8 days for 2 months. The Statistical analysis was performed by anova and Tukey test at 5% significance. the outcomes obtained after 2 months, it was concluded that the most efficient medium for in vitro multiplication of mortiño (*Vaccinium floribundum*) varied according to the variable evaluated, highlighting T10 in height with a mean of 2.25 cm, T1 in number of shoots with a mean of 4.33, T16 in number of leaves with a mean of 47 and treatments T10, T13, T18, T19, T4, T5 and T9 in degree of callogenesis with grade 3. It is recommended to carry on with the studies initiated in the multiplication pase in order to establish a protocol for in vitro propagation of mortiño (*Vaccinium floribundum*), a species of high ecological value in Andean ecosystems.

**Key words:** in vitro propagation, mortiño (*Vaccinium floribundum*), nodal segments, vitroplants, hormones, treatments

## INDICE DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACION.....	v
AVAL DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	x
INDICE DE CONTENIDO.....	xi
INDICE DE TABLAS.....	xvi
INDICE DE ILUSTRACIONES.....	xviii
INFORMACIÓN GENERAL.....	1
1 INTRODUCCION.....	3
2 JUSTIFICACIÓN.....	5
3 BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	6
3.1 Beneficiarios directos.....	6
3.2 Beneficiarios indirectos.....	7
4 EL PROBLEMA DE INVESTIGACION.....	7
5 OBJETIVOS.....	8
5.1 Objetivo General.....	8
5.2 Objetivos Específicos.....	8
6 ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACION A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	9
7 FUNDAMENTACION CIENTIFICA TECNICA.....	11
7.1 Generalidades del Mortiño.....	11
7.1.1 Descripción del mortiño.....	11

7.1.2 Clasificación taxonómica .....	12
7.2 Descripción Botánica .....	12
7.2.1 Tallo: .....	13
7.2.2 Hojas: .....	13
7.2.3 Flores:.....	13
7.2.4 Fruto: .....	14
7.3 Importancia para la comunidad .....	14
7.3.1 Importancia de la conservación de las especies autóctonas .....	15
7.3.2 Beneficios para la salud.....	15
7.4 Métodos de propagación del mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ) .....	16
7.4.1 Sexual:.....	16
7.4.2 Asexual:.....	16
7.4.3 Propagación in vitro .....	17
7.5 Etapas del cultivo in vitro.....	17
7.5.1 Etapa 0: Preparación de la planta madre .....	18
7.5.2 Etapa 1: Desinfección del material.....	18
7.5.3 Etapa 2: Introducción del material in vitro.....	18
7.5.4 Etapa 3: Multiplicación .....	19
7.5.5 Etapa 4: Enraizamiento .....	19
7.5.6 Etapa 5: Aclimatación .....	19
7.6 Importancia del cultivo de tejidos vegetales .....	20
7.6.1 Cultivo in vitro .....	21
7.7 Medios de cultivo.....	21
7.7.1 Murashige y Skoog.....	22
7.7.2 Woody Plant Medium .....	23
7.8 Composición del medio de cultivo.....	24
7.8.1 Sales inorgánicas .....	24

7.8.2 Sales Minerales .....	24
7.7 Fuentes de carbono.....	24
7.7.1 Sacarosa: .....	25
7.7.2 D-Manitol:.....	25
7.7.3 D-Sorbitol:.....	25
7.8 Vitaminas .....	25
7.9 Reguladores de crecimiento .....	25
7.9.1 Auxinas: .....	26
7.9.2 Citoquininas: .....	27
7.9.3 Giberelinas .....	28
7.10 Agua .....	29
7.10.1 Destilación:.....	30
7.10.2 Deionización: .....	30
7.10.2 Osmosis reversa: .....	30
7.11 Mecanismo de soporte.....	30
7.11.1 Agar:.....	31
7.11.2 Phytigel:.....	31
8 HIPOTESIS .....	31
8.1 Hipótesis afirmativa .....	31
8.2 Hipótesis nula.....	31
9 METODOLOGIA Y DISEÑO EXPERIMENTAL .....	31
9.1 Ubicación del área de estudio.....	31
9.1.1 Ubicación geográfica.....	32
9.2 Condiciones del laboratorio .....	32
9.3 Materiales.....	33
9.3.1 Material biológico .....	33
9.3.2 Materiales y equipos de laboratorio .....	33

9.3.3	Indumentaria personal de laboratorio.....	35
9.4	Metodología .....	35
9.4.1	Selección del material vegetal.....	35
9.5	Medios de cultivo.....	35
9.5.1	Medio (Enriquecido) 1 .....	35
9.5.2	Medio (Enriquecido) 2 .....	36
9.5.3	Medio (Enriquecido) 3 .....	36
9.7	Variables y métodos de evaluación <i>in vitro</i> .....	37
9.7.1	Longitud de los brotes multiplicados .....	37
9.7.2	Numero de brotes .....	38
9.7.3	Numero de hojas.....	38
9.7.4	Porcentaje de formación de callo .....	38
9.8	Análisis de datos .....	38
9.9	Especificaciones del campo experimental.....	38
9.9.1	Diseño experimental.....	38
9.9.2	Factores en estudio .....	39
9.9.3	Tratamientos.....	40
9.9.4	Operacionalización de variables.....	41
10.	ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS .....	43
10.1	Análisis de variables.....	43
10.1.1	Altura de los brotes .....	43
10.1.2	Número de segmentos nodales brotados .....	47
10.1.3	Número de hojas.....	51
10.1.4	Grado de callogénesis.....	55
10.1.5	Discusión .....	57
11.	IMPACTOS.....	59
11. 1	Impacto técnico .....	59

11.2 Impacto social .....	59
11.3 Impacto ambiental .....	60
12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	60
12.1 Conclusiones .....	60
12.2 Recomendaciones.....	61
13. BIBLIOGRAFIA.....	62

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Objetivos, actividades, resultados de la actividad (técnicas e instrumentos) .....	9
<b>Tabla 2.</b> Clasificación taxonómica del mortiño ( <i>V. floribundum</i> ). .....	12
<b>Tabla 3.</b> Composición del medio de cultivo Murashige y Skoog.....	22
<b>Tabla 4.</b> Composición I medio de cultivo Woody Plant Medium. ....	23
<b>Tabla 5.</b> Características de los principales reguladores de crecimiento utilizados en cultivos de tejidos. ....	29
<b>Tabla 6.</b> Coordenadas del lugar de estudio.....	32
<b>Tabla 7.</b> Condiciones del laboratorio.....	33
<b>Tabla 8.</b> Lista de materiales, equipos y reactivos utilizados en el cultivo in vitro .....	33
<b>Tabla 9.</b> Indumentaria y elementos de protección personal para el laboratorio. ....	35
<b>Tabla 10.</b> Para la preparación del medio de cultivo en la fase de multiplicación de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ).....	36
<b>Tabla 11.</b> Descripción de la escala empleada por Santana (1982) .....	38
<b>Tabla 12.</b> Esquema del ADEVA.....	39
<b>Tabla 13.</b> Tratamientos y códigos de la investigación del cultivo in vitro en la fase de multiplicación del mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth), con tres repeticiones. ....	40
<b>Tabla 14.</b> Distribución aleatoria de tratamientos en el Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA). ....	41
<b>Tabla 15.</b> Cuadro de variables .....	41
<b>Tabla 16:</b> Análisis de varianza para la variable altura de la planta de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ), en la fase de multiplicación in vitro en el laboratorio a los dos 2 meses. ....	44
<b>Tabla 17:</b> Test de Tukey al 5% asociada a la altura de segmentos nodales de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ), luego de la fase de multiplicación in vitro en laboratorio a los 2 meses.....	45
<b>Tabla 18:</b> Análisis de varianza para la variable brotes de la planta de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ) en la fase de multiplicación in vitro en el laboratorio a los 2 meses.....	48
<b>Tabla 19:</b> Test de Tukey al 5% asociada al número de brotes de segmentos nodales de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ), luego de la fase de multiplicación in vitro en laboratorio a los 2 meses. ....	49
<b>Tabla 20:</b> Análisis de varianza para la variable hojas de la planta de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ) en la fase de multiplicación in vitro en el laboratorio a los 2 meses.....	52
<b>Tabla 21:</b> Test de Tukey al 5% asociada al número de hojas en los segmentos nodales de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ), luego de la fase de multiplicación in vitro en laboratorio a los 2 meses. ....	53

<b>Tabla 22:</b> Análisis de varianza para el grado de callogénesis de la planta de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ) en la fase de multiplicación in vitro en el laboratorio a los 2 meses.....	55
<b>Tabla 23:</b> Test de Tukey al 5% asociada al grado de callo en los segmentos nodales de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ), luego de la fase de multiplicación in vitro en laboratorio a los 2 meses. .....	56

## INDICE DE ILUSTRACIONES

<b>Ilustración 1.</b> Hábitat natural de la planta de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ).....	12
<b>Ilustración 2:</b> Tallo de planta madura color café y tallo de planta joven de color verde. ....	13
<b>Ilustración 3.</b> Hojas de color verde y hojas verdes con un color rojizo en las puntas. ....	13
<b>Ilustración 4.</b> Floración de color blanco y va adquiriendo un color rosado. ....	14
<b>Ilustración 5.</b> Frutos inmaduros de color verde que van adquiriendo un color morado. ....	14
<b>Ilustración 6.</b> Ubicación del laboratorio de Biotecnología Vegetal AliPlants. ....	32
<b>Ilustración 7:</b> Cultivo in vitro con vitroplantas de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ), en condiciones asépticas bajo ambiente controlado. ....	33
<b>Ilustración 8:</b> Alturas de los brotes (a) altura inicial, (b) altura a las 4 semanas, (c) altura a los 2 meses de cultivo en laboratorio. ....	43
<b>Ilustración 9:</b> Altura de los brotes de las plantas a los 2 meses por tratamiento. ....	43
<b>Ilustración 10:</b> Grafico de grupos según Tukey-Altura .....	46
<b>Ilustración 11:</b> Numero de segmentos nodales brotados en la fase de multiplicación a los 2 meses de cada tratamiento.....	47
<b>Ilustración 12:</b> Número de brotes de la planta a los 2 meses por tratamientos.....	47
<b>Ilustración 13:</b> Grafico de grupos según Tukey-Numero de Brotes. ....	50
<b>Ilustración 14:</b> Número de hojas de los brotes de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ) a los 2 meses de la fase de multiplicación in vitro.....	51
<b>Ilustración 15:</b> Número de hojas de planta a los 2 meses por tratamiento.....	51
<b>Ilustración 16:</b> Grafico de grupos según Tukey-Numero de Hojas. ....	54
<b>Ilustración 17:</b> Grado de callogénesis por tratamientos de los explantes de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ) de la fase de multiplicación a los 2 meses.....	55
<b>Ilustración 18:</b> Grafico de grupos según Tukey-Grado de callo.....	57

## **INFORMACIÓN GENERAL**

### **Título del Proyecto:**

“Evaluación de diferentes medios de cultivo con la aplicación de tres hormonas: ácido indolbutírico (IBA), 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido giberélico (GA3) en la fase de multiplicación in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum*)”

### **Fecha de inicio:**

Noviembre 2024

### **Fecha de finalización:**

Julio 2025

### **Lugar de ejecución:**

Laboratorio de Biotecnología de Vegetal AliPlants

### **Unidad Académica que auspicia:**

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales (CAREN)

### **Carrera que auspicia:**

Agronomía

### **Equipo de Trabajo:**

Tutor: Ing. Geraldo Ariolfo Cuadrado Barreto

Estudiante: Lady Mercedes Toapanta Vilca

Lector 1: Ing. Guido Yauli Chicaiza

Lector 2: Francisco Hernán Chancusig

Lector 3: Ing. Diana Elizabeth Toapanta

### **Coordinador de Proyecto:**

Nombre: Lady Mercedes Toapanta Vilca

Teléfonos: 0984194471

Correo electrónico: ladytoapanta9365@utc.edu.ec

**Área de Conocimiento:**

Agricultura, Silvicultura y Pesca - Producción Agropecuaria

**Línea de investigación:**

Análisis, conservación y aprovechamiento racional de la biodiversidad, fauna y recursos naturales para el desarrollo sustentable y la prevención de desastres naturales.

**Sub líneas de investigación de la Carrera:**

Caracterización de la biodiversidad

**Línea de vinculación de la carrera:**

Gestión de recursos naturales, biodiversidad biotecnología y gestión para el desarrollo humano y social.

## 1 INTRODUCCION

El mortiño (*Vaccinium floribundum*), pertenece a la familia *Ericaceae* una especie de los andes conocida como uva de monte se encuentra en zonas montañosas de la serranía con presencia de bosques nublados y paramos (Santamaría et al., 2018). En Ecuador en la cordillera de los andes se encuentran tres especies identificadas como *Vaccinium crenatum*, *Vaccinium distichum* y *Vaccinium floribundum* con una amplia distribución, se encuentra entre los 1000 y 4500 m.s.n.m. (Santamaría et al., 2018).

En Ecuador, este arbusto se desarrolla en la región alto-andina, donde está presente en diez provincias: Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar, Azuay y Loja. Además, su distribución se extiende a la región amazónica, con registros en Napo, Sucumbíos y Zamora Chinchipe. La distribución del mortiño en Ecuador demuestra su adaptabilidad a diversas altitudes y climas, lo que le permite prosperar tanto en ecosistemas alto andinos como en la región amazónica. Su presencia resalta su importancia ecológica y su valor para la biodiversidad del país (Herrera, 2024).

*Vaccinium floribundum* Kunth, es un arbusto perenne nativo de los Andes ecuatorianos, descrito por el botánico Kunth en 1818. Esta especie alcanza una altura de 2.5 hasta los 3.5 m y es apreciada por sus usos en gastronomía, medicina ancestral y desarrollo de productos nutracéuticos (Herrera, 2024). El mortiño es un fruto silvestre de gran antigüedad que crece de forma natural en los páramos de la región central del país, sin intervención humana. En estos ecosistemas andinos se encuentra un recurso culinario valioso que aún no ha sido aprovechado en toda su dimensión (Molina, 2018).

Sus frutos son clave en la "colada morada" de festividades tradicionales y aportan nutrientes esenciales. También tienen aplicaciones en medicina tradicional para aliviar dolencias como el reumatismo y problemas respiratorios. Su efectividad se debe a su alto contenido de antocianidinas y polifenoles (Herrera, 2024). El mortiño es apreciado en la medicina tradicional por su capacidad para regular la grasa celular y sus efectos antioxidantes, antiinflamatorios y antimicrobianos. Desde la antigüedad, se ha destacado por su alto valor nutricional, aporta proteínas, carbohidratos, vitaminas, minerales y fibra (Cobo & Gutiérrez, 2018).

El mortiño representa un recurso importante para las comunidades andinas, que contribuye a la conservación de la cultura, la economía rural, la soberanía alimentaria y la restauración de

ecosistemas degradados. Su relevancia va más allá de su aspecto botánico, convirtiéndose en un componente esencial tanto en el ámbito cultural como económico de la región y del país (Herrera, 2024). Según (Unigarro, 2022), la inclusión de alimentos endémicos en la dieta no solo favorece la sostenibilidad alimentaria, sino que también promueve la conservación de la biodiversidad y potencia el desarrollo de las economías locales.

El avance de actividades agrícolas y pecuarias que provocan la degradación de los páramos afectando zonas con se encontraba el mortiño de forma silvestre. Cada año, su existencia se ve más amenazada, ya que aún no se ha desarrollado un método eficaz para su cultivo. Esto incrementa el riesgo de que desaparezca (Catota, 2021). La conservación de los páramos alto andinos es vital, ya que albergan especies únicas como el mortiño (*Vaccinium floribundum*), adaptadas a condiciones extremas. Esta especie no solo posee alta diversidad genética, sino que también cumple funciones ecológicas clave. Preservar su hábitat garantiza la resiliencia del ecosistema frente al cambio climático (Alvarado, 2024). El *Vaccinium floribundum* es una especie importante que sostiene parte de la vida silvestre en los páramos y las comunidades andinas. Su conservación y cultivo en áreas deforestadas contribuyen a la recuperación del suelo, ya que sus raíces ayudan a restaurar terrenos afectados por incendios. Contribuye a la función fundamental en los procesos de reforestación de estos ecosistemas (Argudo, 2017).

La reproducción asexual mediante estacas puede presentar inconvenientes, como la dificultad de enraizar las estacas. Por otro lado, la reproducción sexual a través de semillas es un proceso más lento debido a la germinación prolongada y retrasa la propagación de las plantas. En cambio, el cultivo in vitro, que utiliza esquejes, brotes o células, ofrece una mayor rapidez en la multiplicación y permite obtener plantas más uniformes. Esta técnica se realiza en un laboratorio bajo condiciones controladas, lo que optimiza su desarrollo y es eficiente y confiable para la reproducción de plantas (Recto, 2018).

El cultivo in vitro es una técnica biotecnológica innovadora que permite la multiplicación y propagación de plantas a partir de tejidos o células bajo condiciones estériles y controladas en laboratorio. Esta metodología garantiza la producción de plantas uniformes, saludables y libres de patógenos, optimizando el crecimiento y desarrollo vegetal. Además, permite conservar el material vegetal de gran valor la conservación de material genético valioso para el mejoramiento de la

especie, que funciona como una herramienta fundamental para la agricultura actual y la conservación ambiental (Galán et al., 2018).

Una especie que no ha sido domesticada, por lo que su cultivo no se ha desarrollado de manera controlada. En los páramos ecuatorianos, esta planta crece de forma natural en pequeñas áreas y su fruto se encuentra en estado silvestre. Uno de los principales obstáculos para su producción a mayor escala es la escasez de investigación la falta de esta información dificulta la implementación de estrategias adecuadas para su propagación y aprovechamiento (Mendoza, 2018).

Con todo lo expuesto anteriormente, este trabajo de investigación tiene como finalidad evaluar los diferentes medios de cultivo para la fase de multiplicación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) a partir de segmentos nodales, las plantas de mortiño por el método in vitro se obtendrán en un tiempo menor al que se produce tradicionalmente, estos medios de cultivo contribuirán a obtener buenos ejemplares para mejorar la economía de los agricultores que se dedican a la producción de esta fruta y por ende su calidad de vida.

## 2 JUSTIFICACIÓN

El mortiño (*Vaccinium floribundum*) es una especie nativa de alto valor ecológico, cultural y medicinal en los ecosistemas de páramo del Ecuador. No obstante, la propagación convencional de esta especie presenta serias limitaciones, sobre la dificultad de la adaptabilidad fuera de su entorno natural, la lenta germinación, bajo porcentaje de germinación de semillas y bajo desarrollo radicular en condiciones ex situ. Estas características reducen considerablemente la eficiencia en su cultivo y dificultan su domesticación. Esta situación ha generado la necesidad de aplicar técnicas que mejoren la producción de plantas, aseguren su disponibilidad en el mercado y contribuyan a su conservación y aprovechamiento sostenible (Alcivar & Moreira, 2022).

Frente a esta problemática, la propagación in vitro presenta como una alternativa efectiva para la propagación de especies nativas como *Vaccinium floribundum*, facilita la producción de plantas homogéneas, libres de enfermedades y en menor tiempo. Esta técnica, se desarrolla en condiciones asépticas, asegura la producción de plantas sanas y uniformes, lo cual es crucial para especies que presentan una baja tasa de propagación sexual o vegetativa en condiciones naturales. En particular, la fase de multiplicación in vitro resulta clave para incrementar el número de brotes

a partir de explantes, permitiendo escalar la producción a niveles que no serían posibles mediante métodos tradicionales de propagación. Varias investigaciones evidencian la micropropagación que contribuye una herramienta efectiva para la producción a gran escala de plantas para conservar especies vegetales en peligro de extinción, al desarrollarse bajo condiciones controladas que favorecen la propagación (Mendoza, 2023).

Además, considerando que el ecosistema de páramo enfrenta múltiples presiones por el avance de la frontera agrícola, la pérdida del mortiño implica no solo una amenaza a la biodiversidad, sino también a las tradiciones culturales vinculadas a esta especie. Los páramos ecuatorianos, al ser ecosistemas frágiles y de alta montaña, son especialmente vulnerables a actividades humanas como la agricultura y la ganadería, incrementando el riesgo de pérdida la biodiversidad en zonas de alta montaña (Chuncho, 2019).

En Ecuador, la información técnica sobre los métodos adecuados para la propagación de *Vaccinium floribundum* sigue siendo limitada, lo que evidencia la necesidad urgente de desarrollar conocimientos aplicables que faciliten su manejo y conservación. Esta carencia de estudios ha dificultado la inclusión efectiva de especies del género *Vaccinium*, muchas de ellas en riesgo de extinción, en programas de restauración ecológica y estrategias de preservación ambiental (Meléndez et al., 2021). En este sentido, la implementación de diferentes medios para la propagación in vitro contribuye una herramienta sostenible fundamental para conservar esta especie nativa, fortalecer iniciativas de restauración de esta especie endémica.

### **3 BENEFICIARIOS DEL PROYECTO**

#### **3.1 Beneficiarios directos**

Este proyecto beneficia directamente a los pequeños y medianos productores de mortiño en Ecuador, especialmente en la provincia de Cotopaxi, cantón Sigchos, donde se elabora vino artesanal a partir de esta fruta silvestre. A través de la propagación in vitro se busca obtener plantas de alta calidad genética, resistentes a plagas y enfermedades, que aumenten la productividad y reduzcan las pérdidas económicas, fortaleciendo así la sostenibilidad del cultivo de mortiño (*Vaccinium floribundum*).

### 3.2 Beneficiarios indirectos

Este proyecto de investigación beneficia indirectamente a los estudiantes y docentes de la carrera de Agronomía de la Universidad Técnica de Cotopaxi, al brindándoles la oportunidad de ampliar sus conocimientos a partir de los resultados generados, especialmente a relación con la técnica de micropropagación in vitro mediante explantes de plantas jóvenes.

## 4 EL PROBLEMA DE INVESTIGACION

El mortiño (*Vaccinium floribundum*) es un arbusto nativo con un gran valor ecológico, cultural y económico para las comunidades andinas en distintas provincias del Ecuador. No obstante, en los últimos años se ha notado una reducción poblacional de esta especie, lo que representa una pérdida significativa de la diversidad de especies nativas (Moncayo, 2017)

El mortiño es ampliamente utilizado en la preparación de la colada morada, una bebida tradicional asociada al Día de los Difuntos en Ecuador. Más allá de su valor gastronómico, diversos estudios han demostrado que sus frutos contienen compuestos bioactivos como fenoles, flavonoides y antocianinas, con alto potencial antioxidante. Estas propiedades le confieren un importante valor medicinal, ya que ayudan a prevenir el estrés oxidativo a nivel celular, contribuyendo así a la salud humana (Alarcón et al., 2018).

El interés reciente por el cultivo del mortiño se debe a la difusión de información sobre sus beneficios nutricionales y medicinales. Sin embargo, hasta ahora no se ha logrado una domesticación adecuada de la especie. Las bayas aún se recolectan de forma manual en poblaciones silvestres y se comercializan principalmente en las localidades cercanas a su hábitat natural (Vega-Polo et al., 2020).

En la actualidad, gran cantidad de páramos donde el mortiño crece en estado silvestre que se ven amenazados por el avance de la frontera agrícola y ganadera, lo que provoca que cada año esta especie se encuentre en peligro de extinción, porque aún no se ha logrado propagarla de manera efectiva (Catota, 2021). A esto se suman problemáticas como la deforestación, los cambios en el uso de suelo y la fragmentación del hábitat, que afectan tanto al mortiño como a las comunidades que dependen del ecosistema (Santamaría et al., 2018).

En el Ecuador, las poblaciones de plantas silvestres de mortiño (*Vaccinium floribundum*) muestra una notable diversidad genética debido a las adaptaciones a distintas condiciones climáticas de los ecosistemas altos de páramos. Esta diversidad es una gran ventaja ecológica, y una limitante en su domesticación, debido a las dificultades de establecer plantaciones en su habitat, en zonas geográficas específicas y de difícil acceso. Este cultivo no es comercial, el mortiño ha empezado a despertar interés por sus usos en productos como vino artesanal y en la colada morada, lo que resalta la necesidad de explorar alternativas de propagación y aprovechamiento sostenible (Tamariz, y otros, 2022).

La propagación mediante métodos tradicionales con la semilla presenta limitantes como baja uniformidad genética y baja eficiencia. Por esta razón, se plantea la propagación in vitro como estrategia efectiva, para obtener plantas sanas, uniformes y en mayor cantidad, optimizando el espacio y acortando el tiempo de producción. En investigaciones de (*Vaccinium floribundum*) confirman que esta técnica de micropropagación es eficaz para inducir germinación, brotación, y callogénesis en condiciones controladas lo que convierte en una estrategia científica sólida para su cultivo y conservación (S. A. Llivisaca et al., 2022).

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo General**

- Evaluar diferentes medios de cultivo en la fase de multiplicación in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum*) a partir de explantes.

### **5.2 Objetivos Específicos**

- Analizar el efecto de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (BAP, IBA y GA<sub>3</sub>) en la fase de multiplicación in vitro de explantes de mortiño (*Vaccinium floribundum*).
- Comparar el efecto de las diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (BAP, IBA y GA<sub>3</sub>) en la formación de callo en la fase multiplicación in vitro de explantes de mortiño (*Vaccinium floribundum*).

## 6 ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACION A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

**Tabla 1.** *Objetivos, actividades, resultados de la actividad (técnicas e instrumentos).*

<b>OBJETIVOS</b>	<b>AATIVIDADES</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>RESULTADOS</b>
➤ Analizar el efecto de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (BAP, IBA y GA <sub>3</sub> ) en la eficiencia en la fase multiplicación in vitro de explantes de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ).	Revisión bibliográfica de literatura científica y técnica sobre el uso de reguladores de crecimiento en especies afines.	Recopilación y análisis de información científica sobre el uso de BAP, IBA y Ga3 en cultivo in vitro de especies afines.	Identificación y selección de las concentraciones óptimas de reguladores de crecimiento para el diseño experimental.
	Diseño e instalación del experimento in vitro bajo un DBCA con 24 tratamientos y 3 repeticiones.	Se aplicó un diseño completamente al azar con arreglo factorial (DBCA), conformado por 24 tratamientos con combinaciones de BAP, IBA y GA <sub>3</sub> , y 3 repeticiones por tratamiento. Con 72 unidades experimentales, cada una con un explante.	El diseño generara datos cuantitativos la altura de los brotes, número de brotes, número de hojas y grado de callo en los explantes, para su análisis.
	Selección de brotes vigorosos como fuente de explantes, a partir de vitroplantas establecidas en condiciones estériles.	Se realizó una observación a las vitroplantas cultivadas previamente, seleccionando aquellas con brotes vigorosos, coloración uniforme y sin síntomas de necrosis o vitrificación. Las muestras fueron fotografiadas y registradas para su uso como explantes.	Explantes seleccionados a partir de vitroplantas sanas, con características morfológicas óptimas, listos para ser inoculados en medios de multiplicación.
Preparación del medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM) suplementado con diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (IBA, BAP y GA <sub>3</sub> ).	Se desinfectaron los tubos de ensayo con soluciones de alcohol al 70 % y luego secarlos. Se preparó el medio WPM, suplementado con las diferentes contracciones de IBA, BAP y GA <sub>3</sub> según el tratamiento. Los medios fueron dispensados en tubos y esterilizados en autoclave.	Medios de cultivo WPM listos para uso experimental, con combinaciones hormonales específicas según el tratamiento, documentados mediante registro fotográfico.	

	Inoculación de explantes en los medios de cultivo suplementados con diferentes concentraciones de BAP, IBA Y GA <sub>3</sub> .	Los explantes, seleccionados por su sanidad y uniformidad, se cortaron en tamaños iguales y se inocularon en los tubos con el medio y se colocó el tapón. Posterior se etiqueto, protegiendo con film plástico y se colocaron en gradillas dentro del cuarto de crecimiento bajo condiciones controladas.	Cultivos in vitro establecidos de forma adecuada con 72 explantes en medios hormonales, bajo condiciones controladas.
	Registro de datos semanal del crecimiento y desarrollo de los explantes en cultivo in vitro.	Se realizó un monitoreo semanal de los tratamientos, registrando variables cuantitativas como altura de los brotes, número de brotes, numero de hojas y presencia de callo.	Datos cuantitativos de crecimiento de los explantes de cada tratamiento para un análisis estadístico.
➤ Comparar el efecto de las diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (BAP, IBA y GA <sub>3</sub> ) en la formación de callo en la fase multiplicación in vitro de explantes de mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> ).	Revisión bibliográfica sobre la formación de callo y el efecto de reguladores de crecimiento.	Se realizó una revisión de la literatura científica sobre los efectos de BAP, IBA y GA <sub>3</sub> en la formación de callo, para determinar las concentraciones óptimas para la inducción de callo en la fase de multiplicación in vitro.	Escala de medición de callo obtenida a partir de la literatura científica, como herramienta para evaluar la formación de callo en los explantes.
	Monitoreo y seguimiento de la formación de callo.	Se evaluará semanalmente la formación de callo en los explantes cada semana, mediante la observación directa, utilizando una escala para registrar presencia y tamaño de callo.	Registro del grado de formación de callo en los explantes mediante la escala visual.

**Elaborado por:** Toapanta L, 2025

## **7 FUNDAMENTACION CIENTIFICA TECNICA**

### **7.1 Generalidades del Mortiño**

Esta especie de planta es originaria de las regiones montañosas de Colombia, Bolivia, Ecuador y Perú, donde también se le conoce con el nombre de "mortiño". Puede ser una especie pionera en los páramos que comienza a crecer después de incendios o actividad minera (S. Llivisaca et al., 2022). Esta especie se caracteriza por su crecimiento arbustivo, presenta una estructura ramificada y puede llegar a medir a tener una altura de 2.5 a 3.5 m. Crece en altitudes entre 1,600 y 3,800 m s.n.m. en bosques y páramos secos de montano inferior y montano húmedo. Presentan hojas pequeñas de forma elíptica y ovalada, con una tonalidad violácea en los bordes de las hojas (Magnitskiy, 2023). Las flores miden de 5-8 mm de largo, de color rojo, rosado o rojo blanquecino, y se agrupan en racimos que constan de 5-20 flores; las bayas miden de 5 a 10 mm de diámetro y son de color azul o azul oscuro en el momento que están maduras (Cobo et al., 2016).

#### **7.1.1 Descripción del mortiño**

En Ecuador, *V. floribundum* crece a elevaciones que van de los 2200 a los 4300 msnm, adaptándose a diversos ecosistemas como el bosque montano, el páramo arbustivo, el bosque montano alto y el superpáramo. Su desarrollo se da en suelos bien drenados, de textura arenosa, húmica y rocosa, los cuales se caracterizan por ser pobres en nutrientes y tener un pH ácido (Herrera, 2024).

El mortiño crece mejor en suelos ricos en calcio, fósforo y potasio, nutrientes esenciales para su desarrollo. El microbiota del suelo, que incluye bacterias, hongos y pequeños organismos, contribuye a descomponer la materia orgánica, de donde se obtienen los nutrientes. Este proceso facilita la disponibilidad de los elementos necesarios para la planta. La interacción entre los nutrientes y la biota del suelo crea un entorno óptimo para el crecimiento saludable del mortiño. Gracias a estas condiciones, la planta puede desarrollarse de manera vigorosa (Alcivar & Moreira, 2022).

Debido a estas características, el mortiño forma parte de los programas de restauración de ecosistemas alto andinos. Se distingue por su rápida regeneración asexual a partir de los meristemos laterales de los tallos y su notable resistencia al fuego. Prefiere desarrollarse en climas húmedos y muy húmedos, con temperaturas que oscilan entre 7°C y 18°C, adaptándose así a condiciones específicas del entorno (S. Llivisaca et al., 2022).

### 7.1.2 Clasificación taxonómica

De las posibles especies de mortiño, conocido también como mortiño, arándano de los Andes. Según (Caranqui-Aldaz et al., 2022), en Ecuador se la conoce con el nombre científico de *Vaccinium floribundum*, y su clasificación taxonómica es la siguiente:

**Tabla 2.** Clasificación taxonómica del mortiño (*V. floribundum*).

<b>Reino:</b>	Plantae
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Orden:</b>	Ericales
<b>Familia:</b>	Ericaceae
<b>Genero:</b>	Vaccinium
<b>Especie:</b>	Vaccinium floribundum
<b>Nombre científico:</b>	Vaccinium floribundum
<b>Nombre vulgar:</b>	Mortiño, Uva de monte.

**Fuente:**(Gallardo Carlos, 2015)

**Realizado por:** Toapanta L, 2025

### 7.2 Descripción Botánica

Plantas arbustivas o subarbusivas, pueden llegar a medir 0.5 a 2.5 m hasta 3,5m de altura erguidas excepto sobre los 4000 m de altura, donde crecen apoyándose sobre el suelo. Raíz principal larga y ensanchada de color verde pálido (Herrera, 2024).



**Ilustración 1.** Hábitat natural de la planta de mortiño (*Vaccinium floribundum*).

**Fotografiado por:** Toapanta L., 2025.

**7.2.1 Tallo:** Presenta tallo delgado cilíndrico, rugoso, sin pilosidad o con abundantes pelos cortos, de color blanco (Herrera, 2024).



*Ilustración 2: Tallo de planta madura color café y tallo de planta joven de color verde.*

**Fotografiado por:** Toapanta L, 2025.

**7.2.2 Hojas:** Son simples, alternas, de textura similar al cuero, con un pecíolo cilíndrico y aplanado de 2 mm. El limbo es elíptico a ovado-lanceolado, mide entre 9-22 mm por 4-11 mm, con base redondeada, ápice agudo y borde dentado. La nervadura es pinnada, con un patrón reticulado, con nervios visibles en el haz y sobresalientes en el envés (Herrera, 2024).



*Ilustración 3. Hojas de color verde y hojas verdes con un color rojizo en las puntas.*

**Fotografiado por:** Toapanta L, 2025.

**7.2.3 Flores:** Tienen entre 4 y 5 piezas o sus múltiplos, con una longitud de 3-4 mm y un color rosado a rojizo, normalmente pilosas. El ovario ínfero está rodeado por un hipantio cilíndrico de 1,3-2 mm, y la corola, blanca o rosada, mide entre 6-8 mm. Los estambres son 10, casi tan largos como la corola, y el estilo es del mismo tamaño, sin pilosidad (S. Llivisaca et al., 2022).



**Ilustración 4.** *Floración de color blanco y va adquiriendo un color rosado.*

**Fotografiado por:** Toapanta L, 2025.

**7.2.4 Fruto:** Los frutos inmaduros son verdes y miden entre 3-4 mm de diámetro, mientras que los maduros alcanzan de 5-12 mm, adquieren colores que van del blanco rosado al morado, azul-morado o azul-negrusco. El fruto maduro, de forma redondeada y globosa, destaca por su color brillante gracias a la cera en su cutícula, tiene un sabor ligeramente ácido y no emite olor (S. Llivisaca et al., 2022).



**Ilustración 5.** *Frutos inmaduros de color verde que van adquiriendo un color morado.*

**Fotografiado por:** Toapanta L, 2025.

### **7.3 Importancia para la comunidad**

El mortiño es un fruto de profundo valor para las comunidades andinas, ya que fortalece su identidad cultural y promueve la unión social a través de prácticas tradicionales compartidas. Su uso en la medicina ancestral y la alimentación lo convierte en un recurso vital para el bienestar familiar. Además, la transformación del mortiño en nuevos productos ha impulsado el emprendimiento local, lo que permite crear oportunidades económicas sostenibles. Este fruto, por tanto, no solo es parte del entorno natural, sino un símbolo de cohesión y desarrollo comunitario (Herrera, 2024).

El cantón Sigchos, conocido como el principal productor del mortiño en el país, ha logrado posicionar a esta fruta en un recurso fundamental para el desarrollo y fortalecimiento de las comunidades rurales. Con el mortiño una oportunidad para fortalecer su economía local y reafirmar su identidad cultural. Aunque antes su aprovechamiento era limitado, hoy los pequeños productores impulsan iniciativas que promueven su uso permanente. Estos proyectos comunitarios no solo reducen el desperdicio, sino que integran al mortiño en nuevas expresiones sociales y culturales, lo que genera beneficios económicos y sociales tanto a nivel local como internacional (Rea, 2024).

### **7.3.1 Importancia de la conservación de las especies autóctonas**

Existen diversas formas de proteger las especies locales, y una de las más significativas es su contribución única a la biodiversidad y al equilibrio del ecosistema. Estas especies son fundamentales para la diversidad biológica de cualquier hábitat natural, y su conservación garantiza la estabilidad y salud ambiental a largo plazo. Desempeñan roles importantes como la polinización y la dispersión de semillas de *Vaccinium floribundum* (mortiño), lo que no solo promueve la diversidad en la zona, sino que también fortalece la estabilidad ecológica en el tiempo (Galarza, 2019).

La conservación de las especies locales es fundamental para un manejo adecuado de los recursos naturales, los cuales son clave para sectores como el alimentario, farmacéutico y manufacturero. Si estos recursos se utilizan de manera responsable, pueden ofrecer beneficios sostenibles sin comprometer el bienestar de las futuras generaciones. Asimismo, las especies locales poseen un profundo valor simbólico y cultural para las comunidades, lo que refuerza su identidad y contribuye a preservar su legado cultural. De esta manera, la conservación de estas especies constituye una responsabilidad ambiental, y con el compromiso con el patrimonio cultural y la biodiversidad que posee el Ecuador (Santander, 2020).

### **7.3.2 Beneficios para la salud**

En el Ecuador, por su riqueza en biodiversidad, posee un amplio potencial en el aprovechamiento de plantas con propiedades medicinales. Entre las distintas especies identificadas de *Vaccinium* el mortiño (*Vaccinium floribundum*), un fruto propio de los páramos andinos y reconocido por su carácter endémico. Su uso tradicional se ha mantenido a lo largo del tiempo gracias a sus reconocidos beneficios para la salud. En muchas comunidades rurales, esta planta

conserva un rol esencial, al preservar un saber ancestral que sigue vigente en la medicina natural y en la identidad cultural local (Bonilla, 2024).

Según diferentes estudios (Caranqui-Aldaz et al., 2022), las bayas del *Vaccinium floribundum* destacan por su elevado contenido de azúcares, vitaminas como la C y el complejo B, así como minerales esenciales como potasio, calcio y fósforo. Además, presentan una notable riqueza en antioxidantes, especialmente en compuestos polifenólicos como el ácido cinámico, flavonoles, antocianinas y antocianidinas. Estos elementos han sido ampliamente investigados por su capacidad para contrarrestar los radicales libres y proteger las células del daño oxidativo. La abundancia de antocianinas no solo potencia su efecto antioxidante, sino que también es responsable del característico color azul intenso del fruto, lo que ha despertado gran interés científico.

#### **7.4 Métodos de propagación del mortiño (*Vaccinium floribundum*)**

La propagación del mortiño por medios vegetativos se puede realizar a través de dos técnicas principales: el enraizamiento de esquejes de tallo y la micropropagación. Cada una de estas técnicas incluye distintos tipos de propagación que varían según el método y las condiciones (Jiménez & Abdelnorl, 2018).

**7.4.1 Sexual:** La propagación sexual que se lleva a cabo mediante el uso de semillas, que es una forma de reproducción ampliamente utilizada mundialmente. Las semillas poseen una alta versatilidad genética, lo que significa que presentan características muy resistentes proporcionadas por la naturaleza para adaptarse a su entorno. Los individuos resultantes de las semillas son muy diferentes de la planta madre, lo que indica una gran variabilidad en su descendencia. Se menciona específicamente que las semillas de *Vaccinium floribundum* no son adecuadas para secarse antes de la siembra, ya que este proceso impediría su germinación, clasificándolas como semillas recalcitrantes (Catota Timbila, 2022).

**7.4.2 Asexual:** La propagación asexual se realiza mediante estacas, estaquillas o a través del cultivo in vitro a partir de yemas axilares o esquejes. Estos métodos son prácticos, económicos y permiten una rápida ejecución en el proceso de propagación. Para lograr buenos resultados, es indispensable contar con un sustrato adecuado que favorezca el enraizamiento y el desarrollo de raíces sanas. Un sustrato óptimo mejora la absorción de nutrientes y promueve un crecimiento uniforme. En el caso del cultivo in vitro, es crucial trabajar en condiciones asépticas para evitar

contaminaciones. Se deben desinfectar correctamente los explantes y esterilizar todos los materiales utilizados. Además, el uso de hormonas específicas ayuda a estimular el crecimiento de las nuevas plantas. Estas medidas aseguran una propagación eficiente y saludable del mortiño (Chamorro, 2019).

### **7.4.3 Propagación in vitro**

La propagación in vitro denominada como micropropagación, es la multiplicación directa de un tejido vegetal mediante técnicas de cultivo de tejidos en condiciones controladas. Esta herramienta biotecnológica se basa en la totipotencialidad celular, es decir la capacidad de regenerar células vegetales por completa al recibir estímulos adecuados. De igual manera implica el control específico en la formación de tallo y raíces mediante fitohormonas, así como la sucesión morfogénica, comprende la elongación, proliferación y enraizamiento de los brotes. La propagación in vitro ha sido fundamental para el avance en el conocimiento de la biología vegetal y tiene múltiples aplicaciones prácticas, en la conservación de especies amenazadas o endémicas hasta la producción masiva de plantas libres de patógenos. Para la propagación se utiliza diferentes explantes como es el caso de semillas, hojas, tallos y embriones, estos deben cultivarse dentro de medios nutritivos bajo condiciones ambientales controladas para garantizar el desarrollo de la planta (Cárdenas, 2023).

La micropropagación in vitro, conocida también como "clonación in vitro de plantas", se ha convertido en uno de los métodos más avanzados de la biotecnología vegetal en los últimos años (Luisa et al., 2020). Es un método de cultivo de tejidos vegetales que facilita la reproducción asexual de plantas a través de la producción de numerosos clones a partir de una planta madre (Urcuango, 2014). En el laboratorio, las plantas se desarrollan en un ambiente meticulosamente resguardado. Se emplean técnicas que garantizan la limpieza y la seguridad de la planta. Se eligen partes específicas de las plantas y se siembran en un entorno diseñado para optimizar su crecimiento. Es similar a proporcionarles un ambiente óptimo para que crezcan robustas y saludables (Moreno-Bermúdez, 2020).

### **7.5 Etapas del cultivo in vitro**

Las etapas del cultivo in vitro o micropropagación de tejidos vegetales incluyen la selección y preparación del explante, la estandarización, el establecimiento en un medio de cultivo específico, el cultivo y multiplicación de brotes, el subcultivo, el enraizamiento y la aclimatación de las plantas

al exterior. Cada etapa es fundamental para el crecimiento exitoso de las plantas en un ambiente controlado y aséptico (Álvarez, 2021).

### **7.5.1 Etapa 0: Preparación de la planta madre**

Esta etapa incluye la selección cuidadosa del explante, se considera factores como el tipo de órgano (yemas, hojas, tallos), la edad fisiológica, el estado sanitario y la época del año. Es preferible utilizar plantas madres cultivadas en condiciones controladas, como invernaderos, para reducir la presencia de patógenos. Además, los explantes deben recolectarse en periodos de mayor actividad meristemática, como primavera o verano, dado que la regeneración es más eficiente. Antes de la desinfección en laboratorio, se recomienda realizar una limpieza inicial con agua corriente y detergente suave para remover suciedad visible y microorganismos superficiales. También pueden aplicarse tratamientos previos con fungicidas o bactericidas sistémicos para disminuir la contaminación interna. Todo este proceso busca garantizar que el material vegetal esté en óptimas condiciones fisiológicas y sanitarias para iniciar con éxito las fases posteriores del cultivo in vitro (Luciani, 2016).

### **7.5.2 Etapa 1: Desinfección del material**

Tras haber seleccionado la planta más adecuada, se cortan fragmentos específicos que serán utilizados para establecer nuevos cultivos. Estos fragmentos, conocidos como explantes, corresponden a estructuras vegetales como brotes, hojas, raíces o semillas. Antes de su extracción, es imprescindible realizar un proceso de limpieza en la planta madre para eliminar posibles agentes contaminantes. Entre los principales riesgos de contaminación se encuentran los hongos y las bacterias presentes de forma natural en el entorno. Posteriormente los explantes deben ser almacenados en condiciones estériles, garantiza un ambiente libre de microorganismos (Castillo, 2019).

### **7.5.3 Etapa 2: Introducción del material in vitro**

La introducción del material vegetal al laboratorio es una etapa esencial en el cultivo in vitro. Tras realizar una desinfección, las semillas o yemas seleccionadas se colocan en frascos con una solución de alcohol al 70% durante tres minutos dependiendo de la especie. Posteriormente, se aplican soluciones de hipoclorito de sodio en concentraciones del 1% y 3% por períodos de 3, 5 y 10 minutos, según el tipo de explante. Posterior a este procedimiento, el material se enjuaga con agua destilada esterilizada previamente con el fin de eliminar los residuos desinfectantes. Una vez

limpio, se coloca en un medio de cultivo estéril. Al cabo de una o dos semanas, se observa la germinación de las semillas o la regeneración de tejidos. Este paso da inicio al desarrollo del cultivo en condiciones controladas dentro del laboratorio (Duarte, 2023).

#### **7.5.4 Etapa 3: Multiplicación**

La etapa de multiplicación busca incrementar el número de brotes para utilizarlos en subcultivos y destinar a la siguiente etapa de enraizamiento. Se puede lograr mediante organogénesis o embriogénesis, en forma directa o indirecta, esta última asociada a la formación de callo. La organogénesis produce brotes unipolares, mientras que la embriogénesis somática genera embriones bipolares similares a los cigóticos. Esta fase requiere el uso de reguladores de crecimiento y condiciones específicas como el tipo de explante, el medio de cultivo, el ambiente de incubación y el método de subcultivo. Es clave evitar la formación de callo excesivo para reducir el riesgo de variaciones somaclonales (Olmos, 2016) .

#### **7.5.5 Etapa 4: Enraizamiento**

El enraizamiento constituye una de las etapas fundamentales del cultivo in vitro, ya que permite que los brotes formados previamente desarrollen un sistema radicular funcional. Este proceso es crucial para asegurar que las plántulas adquieran vigor y puedan adaptarse con éxito al ambiente externo. Generalmente, el enraizamiento se induce en medios de cultivo que carecen de reguladores del crecimiento, los cuales pueden utilizarse en concentraciones normales o diluidas hasta en un 75%. Asimismo, se ha demostrado que el uso de carbón activado o la aplicación de auxinas como el ácido indolbutírico (AIB) favorecen significativamente este proceso. En el caso de embriones somáticos, el enraizamiento presenta particularidades, ya que estos poseen un polo radical definido desde su origen. Por lo tanto, esta fase solo fortalece a las plántulas, sino que también representa un paso esencial hacia su aclimatación fuera del laboratorio (Pérez, 2019).

Es importante que las plantas generen raíces al desarrollan dentro de un laboratorio. Este proceso se encarga de asegurar que las plantas puedan absorber bien los nutrientes y el agua, para que estén listas para ser trasplantadas en la tierra. En este proceso las raíces surgen de los brotes que se originaron en la fase anterior de la multiplicación (Araque et al., 2018).

#### **7.5.6 Etapa 5: Aclimatación**

La aclimatación corresponde al proceso en el que las plantas obtenidas mediante cultivo in vitro para adaptarse progresivamente a las condiciones externas. Al desarrollarse en condiciones

de alta humedad y baja iluminación, sus hojas presentan una menor cantidad de ceras epicuticulares en comparación con las plantas de invernadero, lo que las hace más vulnerables a la deshidratación al ser trasladadas ex vitro, afecta su supervivencia. Además, al haber dependiente de la sacarosa suplementada y de una iluminación reducida durante su cultivo in vitro, requiere un período de ajuste para activar su fotosíntesis y producir su propio carbono. Por esta razón, el proceso de transición debe desarrollarse bajo condiciones controladas como la humedad, la temperatura y la intensidad luz, lo que favorece una adaptación correcta al nuevo entorno (Varela, 2018).

### **7.6 Importancia del cultivo de tejidos vegetales**

El cultivo de tejidos vegetales es una herramienta biotecnológica que permite regenerar plantas completas a partir de fragmentos pequeños, conocidos como explantes, en medios nutritivos y bajo condiciones estériles. Esta técnica aprovecha la totipotencialidad celular que muestra eficiencia para la multiplicación en gran cantidad de especies como en la conservación de especies vegetales amenazadas o con propagación convencional limitada. Su implementación requiere un manejo estricto del ambiente y la aplicación de reguladores de crecimiento, elementos clave para obtener resultados. Esta herramienta representa un avance clave para el desarrollo agrícola y la preservación de la biodiversidad vegetal (Alcaraz, 2021).

Los cultivos vegetales suministran todos los nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas, incluye macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, reguladores del crecimiento y, en medios sólidos, una fuente de carbono. El medio de Murashige y Skoog (MS) es el más utilizado en la propagación in vitro, ya que proporciona un ambiente óptimo para el desarrollo de células diferenciadas, como los callos. Mantener un pH entre 5,0 y 5,8 es fundamental para el crecimiento adecuado. Las fitohormonas cumplen un papel clave en la diferenciación celular: altas concentraciones de auxinas favorecen la formación de raíces, mientras que las citocininas estimulan la regeneración de brotes. Un equilibrio entre ambas hormonas promueve la formación de callos, y favorece a la proliferación celular sin diferenciación (Morales et al., 2016).

Según el estudio de (Abou et al., 2021), aplicaron la micropropagación en el banano mediante cultivo in vitro mencionando que es una herramienta importante y eficaz, especialmente en un cultivo de alta demanda. La investigación reportó resultados exitosos, evidenciando esta técnica que permite propagar plantas de selección de manera rápida, eliminando el 99 % de contaminantes endógenos y mejorando significativamente el desarrollo de brotes y en las etapas de

enraizamiento y aclimatación. Estos logros evidencian la importancia del cultivo de tejidos vegetales como estrategia clave para garantizar la producción de plantas sanas y de alta calidad.

### **7.6.1 Cultivo in vitro**

El cultivo in vitro requiere condiciones estrictamente asépticas para evitar contaminaciones durante el proceso. Esto implica la esterilización del medio de cultivo, comúnmente mediante autoclave con calor húmedo, aunque en ciertos casos puede emplearse filtración. Además, el explante vegetal debe ser desinfectado superficialmente con agentes como hipoclorito de sodio, etanol, plata coloidal, detergentes no iónicos o fungicidas. La siembra del explante en el medio se realiza bajo un entorno estéril, generalmente en una campana de flujo laminar, lo que garantiza un ambiente adecuado para el desarrollo del cultivo (Morales et al., 2016).

La propagación in vitro es una técnica ampliamente aplicada en especies de interés agrícola, ya que permite multiplicar plantas a partir de células, tejidos u órganos en condiciones ambientales controladas. Se emplea medios de cultivo suplementados con nutrientes, reguladores hormonales y agentes gelificantes. Una vez optimizados los protocolos según la especie, el proceso puede automatizarse, lo que permite la micropropagación a gran escala. Esta estrategia es altamente eficaz para la producción masiva de plantas hortícolas, frutales, medicinales y ornamentales, contribuye significativamente al desarrollo agrícola (Segretín María, 2018).

Este método de cultivo es una técnica que tiene la capacidad de generar a partir de una célula vegetal, una planta gracias a la totipotencia natural. Para aprovechar esta característica, se utiliza el cultivo in vitro de segmentos nodales (CSN) y ápices de vástago. Este método induce la ramificación, lo cual facilita la propagación y obtención de clones de manera eficiente. El cultivo in vitro es una técnica esencial en la propagación de plantas, ya que se basa en la totipotencia celular para duplicar plantas de manera controlada y rápida (López, 2021). El cultivo de meristemas consiste en separar y mantener en condiciones estériles la región meristemática junto con los brotes foliares más jóvenes. Luego, esta región se implanta en un medio de cultivo estéril apropiado, con el fin de promover el desarrollo celular, favorecer el adecuado enraizamiento y, eventualmente, obtener plantas libres de patógenos (Martínez, 2020).

### **7.7 Medios de cultivo**

El medio de cultivo es un factor clave en el éxito del cultivo de tejidos vegetales, ya que debe suministrar todos los nutrientes esenciales, tanto inorgánicos como orgánicos, que aseguren

la supervivencia y desarrollo del tejido en condiciones in vitro. Entre los componentes más relevantes se encuentran los reguladores del crecimiento o fitohormonas, que estimulan la división y diferenciación celular. Actualmente, existen diversas formulaciones que varían en aspectos como la concentración de solutos, tipo de nitrógeno, macro y micronutrientes, vitaminas y fuentes de carbono. Algunos medios, como los de Murashige y Skoog (MS), Linsmaier y Skoog (LS) y Gamborg (B5), son versátiles y se utilizan en múltiples especies, mientras que otros, como WPM, DKW o NN, fueron diseñados para aplicaciones específicas como especies leñosas o la producción de plantas haploides (Pérez, 2019).

El medio de cultivo in vitro está compuesto por agua, una fuente de carbono, minerales, vitaminas y reguladores del crecimiento, cuya combinación varía según los requerimientos de cada especie. En algunos casos, estos componentes pueden sustituirse por extractos naturales como agua de coco o jugos vegetales. El pH del medio se mantiene entre 5,0 y 6,5 para favorecer el desarrollo celular. La proporción entre auxinas y citoquininas influye directamente en la respuesta morfogénica una relación alta favorece la formación de brotes, una baja induce raíces y una equilibrada genera callos (Muñoz de Malajovich María, 2018).

### 7.7.1 Murashige y Skoog

Este medio es usado en la mayoría de las especies debido a su elevada concentración de salina, pero no se puede utilizar en especies que no resisten la salinidad. También de su característica salina, se compone de macronutrientes, micronutrientes y vitaminas adicionales (Rodríguez et al., 2014).

**Tabla 3.** *Composición del medio de cultivo Murashige y Skoog.*

<b>COMPOSICION DE MURASHIGE Y SKOOG</b>			
<b>MACRONUTRIENTES</b>		<b>VITAMINAS</b>	
<b>COMPONENTES</b>	<b>mg/L</b>	<b>COMPONENTES</b>	<b>mg/L</b>
Nitrato de amonio	1,650	i-Inositol	100
Cloruro de calcio	440	Nitacina	0.5
Sulfato de magnesio	370	Piridoxina-HCl	0.5
Fosfato de potasio	170	Tiamina-HCl	0.1
Nitrato de potasio	1,900	Glicinas	2
<b>Micronutrientes</b>			
Ácido bórico	6.2	Sulfato de manganeso	22.3
Cloruro de cobalto	0.025	Yoduro de potasio	0.83

Sulfato cúprico	0.025	Molibdato de sodio	0.25
Sulfato ferroso	27.8	Sulfato de zinc	8.6
		Na 2 EDTA-2H2O	37.2

**Fuente:**(Tadeo, 2019)

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

### 7.7.2 Woody Plant Medium

El medio Woody Plant Medium (WPM), desarrollado por Lloyd y McCown en 1982, es uno de los más utilizados en la propagación in vitro de especies leñosas. Su formulación contiene sales inorgánicas, vitaminas, aminoácidos y carbohidratos, que suministran macro y microelementos necesarios para el desarrollo vegetal de la especie (Montenegro, 2024). El dihidrógeno de potasio actúa como fuente de fosfato, mientras que el nitrato de calcio suministra nitrógeno. Además, contiene microelementos como boro, manganeso, hierro, molibdeno y zinc, los cuales regulan funciones metabólicas. Las vitaminas tiamina, piridoxina y ácido nicotínico funcionan como cofactores enzimáticos, y la glicina favorece la síntesis de aminoácidos necesarios para el crecimiento de las plantas (Turuspekov & Abugalieva, 2017).

**Tabla 4.** Composición l medio de cultivo Woody Plant Medium.

<b>COMPOSICION DE WOODY PLANT MEDIUM</b>			
<b>MACRONUTRIENTES</b>		<b>MICRONUTRIENTES</b>	
<b>COMPONENTES</b>	<b>mg/L</b>	<b>COMPONENTES</b>	<b>mg/L</b>
Nitrato de amonio	400.000	Ácido bórico	6.200
Cloruro de calcio	72.500	Sulfato de cobre pentahidratado	0.025
Nitrato de calcio monohidratado	386.340	Sal disódica dihidratada de EDTA	37.300
Sulfato de magnesio	180.690	Sulfato ferroso heptahidratado	27.800
Fosfato de potásico monobásico	170.000	Sulfato de magnesio monohidratado	22.300
Sulfato de potasio	990.000	Ácido molibdico (sal sódica)	0.213
		Sulfato de zinc heptahidratado	8.600
		<b>AMINOACIDO</b>	
<b>VITAMINAS</b>			
Myo-Inositol	100.000		

Acido nicotínico (ácido libre)	0.500	Glicina	2.000
HCl de piridoxina	0.500	<b>CARBOHIDRATO</b>	
Clorhidrato de tiamina	1.000	Sacarosa	20000.000

**Fuente:**(Ružić et al., 2012)

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

## 7.8 Composición del medio de cultivo

El medio de cultivo debe incluir los elementos esenciales que favorezcan el crecimiento y desarrollo de la planta. Los componentes de un medio de cultivo generalmente están constituidos por agua, minerales, compuestos orgánicos y materiales de soporte como:

### 7.8.1 Sales inorgánicas

En este proceso intervienen los macronutrientes, entre ellos el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S), los cuales son requeridos en mayores cantidades. Además, existen los micronutrientes, como hierro (Fe), cobalto (Co), zinc (Zn), molibdeno (Mo) y boro (B), que, aunque esenciales, deben ser aplicados en dosis bajas, ya que su exceso podría generar toxicidad en los explantes (Chamorro, 2019).

### 7.8.2 Sales Minerales

Para el crecimiento y desarrollo de las plantas dentro del laboratorio, es fundamental suministrar los macronutrientes y micronutrientes. Los mismos se añaden al medio de cultivo para que las plantas tengan todo lo necesitan para crecer bien. Los macronutrientes son sustancias importantes para las plantas como nitrógeno, fosforo y potasio. Los micronutrientes son elementos necesarios, pero en cantidades menores como el manganeso, hierro y zinc. Estos compuestos desempeñan un papel fundamental en la formación de los ácidos nucleicos, en la síntesis de proteínas y la producción de clorofila un proceso fundamental para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Tejada-Alvarado et al., 2022).

## 7.7 Fuentes de carbono

Los carbohidratos constituyen compuestos orgánicos esenciales que proveen de energía necesaria para el desarrollo de las plantas. Entre ellos, la glucosa y la sacarosa juegan un papel clave al proporcionar elementos esenciales como carbono, hidrógeno y oxígeno. En condiciones de crecimiento en campo abierto, las plantas obtienen estos compuestos de manera natural a través del proceso de fotosíntesis (Chamorro, 2019). Las sustancias orgánicas puras, como los azúcares,

son esenciales en los cultivos de tejidos para proporcionar carbono y energía. Entre ellos, la sacarosa es el carbohidrato más común, aunque también se emplean glucosa, fructosa, lactosa, almidón, celabiosa, rafinosa y maltosa, dependiendo de la especie y el tejido cultivado (Sharry et al., 2015).

Fuentes de carbohidratos más utilizadas en cultivo in vitro:

**7.7.1 Sacarosa:** Es la fuente de carbono más usada en medios de cultivo, generalmente en concentraciones del 2 al 3% (p/v), por su solubilidad, bajo costo y eficacia. Es fundamental para el transporte y almacenamiento de carbono en las plantas, y en el cultivo in vitro también actúa regula el potencial osmótico del medio. Aunque existen otras fuentes como glucosa o fructosa, la sacarosa es la más eficiente y ampliamente utilizada (Pérez, 2019).

**7.7.2 D-Manitol:** Se trata de un compuesto azucarado para regular el potencial osmótico del medio de cultivo. Se usa específicamente para aislar y cultivar protoplastos (Suárez, 2020) .

**7.7.3 D-Sorbitol:** Comúnmente no se utiliza como fuente de energía, sin embargo, tiene la característica de ser llevada a través del floema (Suárez, 2020).

## 7.8 Vitaminas

Las vitaminas cumplen funciones clave como coenzimas en reacciones metabólicas del cultivo in vitro. La piridoxina, el ácido nicotínico y la vitamina E son esenciales para la síntesis de proteínas, respiración celular y protección antioxidante, respectivamente. Estas ayudan a mantener el desarrollo celular en medios artificiales (Barcelos, 2018). Dado que muchas plantas no sintetizan fácilmente ciertas vitaminas, en laboratorio estas se incorporan en los medios de cultivo in vitro para favorecer su crecimiento y desarrollo. Asimismo, los aminoácidos complementan el medio al aportar nitrógeno disponible y facilitar la absorción de nutrientes esenciales al actuar como quelantes (Tejada-Alvarado et al., 2022).

## 7.9 Reguladores de crecimiento

Los reguladores del crecimiento vegetal son compuestos, tanto naturales como sintéticos, que presentan similitudes con las fitohormonas y modulan diversos procesos bioquímicos a nivel celular (Alcantara, 2019). Los de origen natural son producidos por las propias plantas y se diferencian de los nutrientes por su capacidad para influir directamente en procesos fisiológicos clave (Cai et al., 2021). En cambio, los reguladores sintéticos suelen aplicarse para optimizar la

producción agrícola y manejar los cultivos bajo diferentes condiciones ambientales (Araque et al., 2018).

El avance biotecnología ha permitido desarrollar reguladores de crecimiento artificiales que simulan las funciones de las fitohormonas presentes de forma natural en las plantas. Estos compuestos se clasifican según su capacidad para estimular o inhibir distintos aspectos del desarrollo vegetal. Algunos estudios los agrupan en categorías basadas en su acción sobre procesos específicos como la fotosíntesis, la maduración de frutos o la formación de órganos (Alcantara, 2019). En el contexto del cultivo in vitro, estos reguladores son fundamentales para inducir respuestas específicas como la formación de brotes, raíces o callos, dependiendo del tipo y concentración empleados.

Considerando su importancia, los reguladores de crecimiento actúan como catalizadores del desarrollo vegetal, además también representan una herramienta clave en la optimización en técnicas dentro de la biotecnología. El uso en la micropropagación permite controlar las respuestas morfológicas específicas, ajustándose a las necesidades de cada especie y etapa del cultivo in vitro (Sánchez, 2019). La intervención precisa en la propagación de especies nativas o de difícil reproducción, en este caso el mortiño (*Vaccinium floribundum*) es útil aplicar de manera adecuada los compuestos para generar una diferencia en la eficiencia del material vegetal.

### **7.9.1 Auxinas:**

Las auxinas son compuestos derivados del triptófano, producidos principalmente en los ápices de las plantas, y cumplen un rol fundamental en el crecimiento y la diferenciación celular. Estas fitohormonas regulan procesos como la elongación y división celular, la formación de tejidos no diferenciados (como el callo), la diferenciación vascular y el desarrollo de órganos como las raíces. Además, participan en la dominancia apical, la senescencia, la abscisión de hojas y las respuestas trópicas que influyen en la orientación del crecimiento vegetal (Pérez, 2019).

Las auxinas, como el ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB), ácido naftalenacético (ANA) y 2,4-D, son fundamentales en procesos como la elongación y división celular, así como en la formación de raíces. En propagación in vitro, el AIA y el AIB se utilizan comúnmente, aunque su rápida desnaturalización requiere aplicaciones en altas concentraciones al inicio. En cambio, las auxinas sintéticas como ANA y 2,4-D presentan mayor estabilidad, ya que

las células vegetales no poseen mecanismos para degradarlas. No obstante, a dosis elevadas pueden inducir la formación de callo e inhibir brotes laterales (Rojas, 2019).

**Ácido Indol-3-acético (IAA):** Es una auxina clave que regula la elongación y división celular, así como la formación de raíces. Además, participa en respuestas adaptativas al estrés (Porta & Jiménez-Nopala, 2019).

**Ácido naftalenacético (ANA):** Es una auxina sintética común en cultivos in vitro por su capacidad para estimular la proliferación celular y aumentar el índice de multiplicación en diversas especies (Elmongy et al., 2018)

**Ácido indolbutírico (IBA):** Esta auxina es ampliamente utilizada para estimular el enraizamiento en estacas, siendo una de las más efectivas en la inducción de raíces adventicias (Narváez, 2023). Además, se destaca como una de las hormonas sintéticas más utilizadas en especies forestales (Egas, 2019).

### 7.9.2 Citoquininas:

Las citoquininas son fitohormonas esenciales que regulan la división celular, promueven la formación de brotes laterales y retrasan el envejecimiento de los tejidos, lo que prolonga su viabilidad en cultivo (Fichet Lagos, 2017). También intervienen en procesos como la inducción floral, la síntesis de aminoácidos y la inhibición del desarrollo radicular. En propagación in vitro, la más utilizada es la 6-bencilaminopurina (6-BAP), debido a su eficacia para inducir múltiples brotes, especialmente en yemas apicales. Sin embargo, su uso en dosis elevadas puede generar alteraciones morfológicas por inhibir la elongación celular. La respuesta de las plantas a esta fitohormona depende de su estabilidad genética y de la combinación con otras hormonas, por lo que es crucial ajustar las concentraciones de forma adecuada (Contreras, 2022).

Por otro lado, las citoquininas, promueven la división celular, controlan la organización y distinción de los callos. Entre las más utilizadas se encuentran la y BencilAmino Purina (BAP), Bencil Adenina (BA), Zeatina, Kinetina y 2 Iso-Pentil-Adenina (2iP) (Rojas, 2019).

**Bencilademinopurina (BAP):** La 6-bencilaminopurina (6-BAP), es una de las fitohormonas más utilizadas en la propagación de plantas mediante cultivos de tejidos. Su función principal es estimular la división celular y favorecer la diferenciación de brotes, lo que resulta fundamental en la regeneración de nuevas plantas a partir de tejidos cultivados en laboratorio (Mangena, 2020).

**Zeatina:** Cumple una función esencial en la regulación del crecimiento celular y la incorporación de lípidos. El uso de zeatina incrementa la actividad de elementos esenciales en el metabolismo del nitrógeno, promover el crecimiento como la proliferación celular. Además, su presencia estimula la actividad de la ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa y la producción de proteínas, lo que se refleja en un aumento de la clorofila, un mejor desarrollo vegetal y una mayor acumulación de carbohidratos (Sivaramakrishnan & Incharoensakdi, 2020).

**Kinetina:** Es una citoquinina que promueve el crecimiento vegetal al estimular la división celular, favorecer la formación de brotes y retrasar el envejecimiento de los tejidos. En el cultivo in vitro, se utiliza para inducir la organogénesis y mejorar la eficiencia de propagación. También se aplica en la agricultura para mejorar la calidad de los cultivos, promoviendo su desarrollo y resistencia (Bozsó & Barna, 2021).

### 7.9.3 Giberelinas

Las giberelinas son fitohormonas clave en el crecimiento de las plantas, que afectan varios procesos como la elongación del tallo, la floración y la maduración de los frutos. En los cultivos de tejidos vegetales, el ácido giberélico ( $GA_3$ ) es la forma más utilizada para estimular la elongación de los brotes o la conversión de yemas en brotes. La reacción de las plantas ante la aplicación de giberelinas depende de la especie y de la giberelina empleada. Aunque las giberelinas son fundamentales en el ciclo de vida de las plantas, el uso de  $GA_3$  en etapas tempranas de desarrollo puede interferir con la formación de yemas, lo que disminuye la producción de brotes in vitro. Además, su aplicación también inhibe la formación de raíces y la embriogénesis. Por ello, es crucial ajustar cuidadosamente la dosificación de  $GA_3$  según la fase específica del desarrollo del cultivo, para obtener los mejores resultados (UnADM, 2022).

**Ácido Giberélico (AG):** El ácido giberélico (AG o  $AG_3$ ), también conocido como giberelina A3, es una fitohormona que se presenta como un polvo cristalino de color blanco a amarillo pálido, soluble en agua y etanol. En las plantas, participa en procesos clave como el alargamiento del tallo, la división celular en hojas jóvenes y la estimulación de la germinación de semillas (Palma, 2022).

**Tabla 5.** Características de los principales reguladores de crecimiento utilizados en cultivos de tejidos.

Clase de Reguladores	Abreviatura Nombre común	Nombre químico
Auxinas	AIA	Ácido 3-indolacético
	ANA	Ácido Naftalenoacético
	AIB	Ácido Indol butírico
	Picloran	Ácido 4-amino-3,5,6-tricloropico-línico
	ANOA	Ácido naftoxiacético
Citoquininas	Kinetina (KIN)	6-furfurilaminopurina
	BAP (BA)	6-benzilaminopurina.
	Zeatina (ZEA)	N-(4-hidroxi-3-metilbut-2-enil) amino purina
Giberelinas	Tidiazuron (TDZ)	1-fenil-3(1,2,3-tidiazol-5il) urea
	Ac. Giberélico (GA <sub>3</sub> )	2, 4a,7-trihidroxi-1-metil-8-metilen-gib-3-ene
Inhibidores	ABA	Ácido abscísico
Etileno	Etileno	C <sub>2</sub> H <sub>4</sub>

**Fuente:** (Boeri et al., 2015)

**Elaborado por:** Toapanta L, 2025

### 7.10 Agua

El 95% del medio de cultivo representa el agua que a la vez actúa como disolvente para los solutos presentes en el medio (Suárez, 2020). El agua resulta indispensable en el medio de cultivo in vitro, es el principal disolvente de la mayoría de los componentes para el desarrollo del cultivo. La calidad del agua empleada en el medio de cultivo influye notablemente en el crecimiento y desarrollo de los tejidos vegetales cultivados en laboratorio (Tejada-Alvarado et al., 2022).

El agua utilizada para los medios de cultivo vegetal debe ser de alta calidad, ya que el agua corriente suele contener impurezas como iones, partículas, microorganismos y gases que la hacen inapropiada. Para purificarla, se emplean técnicas como filtración con carbón activado,

desionización, destilación y ósmosis inversa, esta última capaz de eliminar hasta el 99% de las impurezas disueltas. El método más confiable es la combinación de desionización con una o dos destilaciones, aunque en la actualidad se emplean equipos modernos de ósmosis inversa con tecnologías de intercambio iónico, adsorción y filtración por membrana, que han sustituido a la destilación tradicional en vidrio (UnADM, 2022).

#### **7.10.1 Destilación:**

La destilación del agua es un proceso físico que permite obtener agua pura al calentarla hasta que se evapora y luego condensar ese vapor, separándola de sales, minerales y otras impurezas. Este método se basa en la diferencia de puntos de ebullición entre el agua y los demás componentes disueltos. Es una técnica común para purificar agua en laboratorios e industrias (Zapata et al., 2020).

#### **7.10.2 Deionización:**

Este proceso se basa en la eliminación o captura de contaminantes en el agua según su carga eléctrica. El agua pasa a través de columnas que contienen resinas con pequeñas esferas plásticas cargadas con iones de hidrógeno ( $H^+$ ) e hidróxido ( $OH^-$ ), los cuales se intercambian por contaminantes catiónicos o aniónicos presentes en el fluido (Suárez, 2020).

#### **7.10.2 Osmosis reversa:**

La ósmosis inversa es un proceso mediante el cual el agua se fuerza a pasar por una membrana semipermeable, lo que retiene son los sólidos disueltos y otras impurezas. A diferencia de la ósmosis natural, se aplica presión para invertir el flujo del solvente, desde una solución más concentrada hacia una más diluida. Este método permite obtener agua purificada al separar eficazmente los contaminantes (Rodríguez, 2022).

### **7.11 Mecanismo de soporte**

La consistencia del medio varía según la presencia o ausencia de un soporte. Los medios líquidos están compuestos únicamente por sustancias disueltas en agua y, en ausencia de un agente gelificante, no presentan solidez. En cambio, si se incorpora un gelificante, el medio adquiere cierta firmeza, permite la formación de medios semisólidos o sólidos. Estos últimos proporcionan una estructura adecuada para el crecimiento y desarrollo de organismos o tejidos vegetales, facilita su manipulación (Suárez, 2020).

Los gelificantes son sustancias esenciales en la preparación de medios semisólidos utilizados en el cultivo *in vitro*, ya que proporcionan la consistencia necesaria para sostener los tejidos vegetales. Para cumplir su función, deben ser inertes, es decir, no reactivos ni digeribles por las plantas. Se emplean principalmente si se requiere un soporte físico que facilite el desarrollo del material vegetal sin interferir en su crecimiento. Los más comúnmente utilizados son el agar, y productos comerciales como Phytigel o Gelrite, debido a su estabilidad y efectividad (Pérez, 2019).

**7.11.1 Agar:** Es un gelificante ampliamente empleado en medios de cultivo por su capacidad para solidificarlos, lo que proporciona un soporte firme que mantiene estables los cultivos vegetales y favorece su desarrollo (Tejada-Alvarado et al., 2022).

**7.11.2 Phytigel:** Es un gelificante obtenido a partir de la fermentación de la bacteria *Pseudomonas elodea*. Se utiliza en cultivos *in vitro* por su transparencia y firmeza, favorece el crecimiento vegetal. Los elementos que contiene magnesio, potasio, calcio y sodio de forma natural las mismas que no suelen ser dañinas (Suárez, 2020).

## 8 HIPOTESIS

### 8.1 Hipótesis afirmativa

- En el cultivo *in vitro* si desarrolla el crecimiento de explantes de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación.

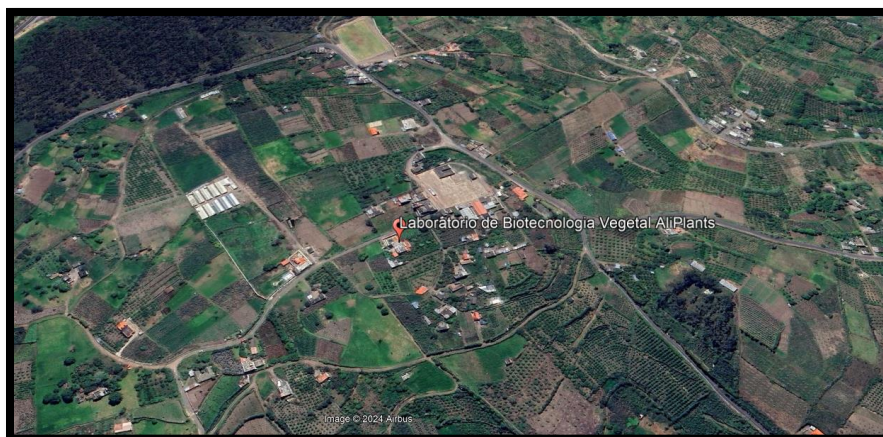
### 8.2 Hipótesis nula

- En el cultivo *in vitro* no desarrolla el crecimiento de explantes de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación.

## 9 METODOLOGIA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

### 9.1 Ubicación del área de estudio

La presente investigación se llevará a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal AliPlants, está ubicado en Valle Hermoso de la parroquia Matriz del cantón Pelileo de la provincia de Tungurahua.



*Ilustración 6. Ubicación del laboratorio de Biotecnología Vegetal AliPlants.*

**Fuente:** Google maps

### 9.1.1 Ubicación geográfica

*Tabla 6. Coordenadas del lugar de estudio*

Provincia	Tungurahua
Cantón	Pelileo
Parroquia	Matriz
Altitud	2600 msnm
Latitud	1.518980
Longitud	78.037103
Temperatura promedio anual	12°C y 18°C
Precipitación promedio anual	800 y 1200 mm
Humedad relativa	65% a 85%

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

### 9.2 Condiciones del laboratorio

En la producción de plantas *in vitro*, la incubación se refiere al período en el que el explante se mantiene en una solución nutritiva, bajo condiciones ambientales controladas. Estas condiciones se alcanzan mediante el uso de cámaras de incubación, espacios específicos dentro del laboratorio equipados con tecnología que regula la luminosidad, la temperatura y la humedad, garantiza un ambiente adecuado para el crecimiento del explante (Maldonado, 2021).

**Tabla 7.** *Condiciones del laboratorio.*

Temperatura promedio	22° C
Fotoperiodo	16/8 horas luz
Intensidad de luz	35–50 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}$
Humedad relativa	30-50%

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

### 9.3 Materiales

Los materiales, equipos y reactivos utilizados en la investigación se detallan a continuación:

#### 9.3.1 Material biológico

Para la investigación se utilizaron vitro plantas de mortiño (*Vaccinium floribundum*), obtenidas a partir de explantes recolectadas en el cerro El Púlpito, ubicado en el cantón Sigchos de la provincia de Cotopaxi.



**Ilustración 7:** *Cultivo in vitro con vitroplantas de mortiño (*Vaccinium floribundum*), en condiciones asépticas bajo ambiente controlado.*

**Fotografiado por:** Toapanta L, 2025.

#### 9.3.2 Materiales y equipos de laboratorio

En la siguiente tabla se detallarán los materiales y equipos del laboratorio que se utilizó fueron esterilizados antes del respectivo uso en la micropropagación del cultivo del mortiño.

**Tabla 8.** *Lista de materiales, equipos y reactivos utilizados en el cultivo in vitro*

<b>Materiales</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
Vasos de precipitación	Unidad	3
Cucharillas metálicas	Unidad	3
Pipeta de plástico	Unidad	3
Mechero de alcohol	Unidad	1
Tubos de ensayo	Unidad	72
Papel aluminio	Unidad	1
Papel toalla	Unidad	1
Strech film	Unidad	1
Frascos	Unidad	3
Fosforera	Unidad	1
Gradillas	Unidad	1
Pinzas	Unidad	3
Bisturíes	Unidad	3
<b>Equipos</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
Cabina de flujo laminar	3 Horas	1
Medidor de pH digital	Hora	1
Balanza analítica	Hora	1
Refrigeradora	Hora	1
Microondas	Hora	1
Autoclave	Hora	1
<b>Reactivos</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
Woody Plant Medium (WPM)	g	7.23
Ácido Indol Butírico (IBA)	ml	23
6-Bencilaminopurina (BAP)	ml	24.5
Ácido Giberélico (GA3)	ml	24
Hipoclorito de sodio	L	2
Transzeatina (TZR)	mg	3
Agua destilada	L	4
Alcohol 95 %	L	1
Ácido cítrico	ml	3
Detergente	ml	20
Sacarosa	g	90
Hidróxido	ml	3
Agar	g	24

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

### 9.3.3 Indumentaria personal de laboratorio

La indumentaria personal de laboratorio es esencial para la protección personal durante el trabajo experimental, reduce el riesgo de exposición a agentes peligrosos. Su uso adecuado asegura condiciones de higiene, seguridad y confiabilidad en los procesos realizados en el laboratorio.

**Tabla 9.** *Indumentaria y elementos de protección personal para el laboratorio.*

<b>Indumentaria de laboratorio</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>
Caja de mascarillas	Unidad	1
Camiseta blanca	Unidad	1
Zapatones	Unidad	1
Mandil	Unidad	1
Guantes	Unidad	2
Cofia	Unidad	1

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

## 9.4 Metodología

### 9.4.1 Selección del material vegetal

El material vegetal se seleccionó de las vitroplantas previamente establecidas, se consideró plantas sin signos de contaminación, estrés o deformaciones para asegurar una propagación eficiente. Una vez seleccionadas, se realizaron cortes p de segmentos nodales, para colocarlos en los medios de cultivo con las diferentes concentraciones de hormonales establecidas en el diseño experimental.

## 9.5 Medios de cultivo

En la presente investigación se analizaron tres medios de cultivo los mismos que consisten en:

### 9.5.1 Medio (Enriquecido) 1

Para la solución madre colocamos 800 ml de agua destilada en un vaso de precipitación en cual colocamos de medio (1.92 g) Woody Plant Medium (WPM) contiene macro y micro elementos se suplemento con (24 g/L) de sacarosa como fuente de carbono, , 1 ml de transzeatina (TZ) , 5 ml de ácido indolbutírico (IBA) .La solución madre colocamos en 8 frascos cada uno con 100 ml los mismos que se aplicó su respectiva concentración de las dos hormonas de 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido giberélico (GA3) (Torres et al., n.d.). Con las 8 soluciones colocamos 8 gr de agar se mezcló y lo llevamos al microondas por 2 min cada frasco, posterior se colocó en cada tubo de

ensayo 3ml de medio una vez colocado todos los medios en los tubos se tapó y se esterilizó aproximadamente por una hora.

### **9.5.2 Medio (Enriquecido) 2**

Para la solución madre colocamos 800 ml de agua destilada en un vaso de precipitación en cual colocamos de medio (1.92 g) Woody Plant Medium (WPM) contiene macro y micro elementos se suplemento con (24 g) de sacarosa como fuente de carbono, 1 ml de transzeatina (TZ) , 8 ml de ácido indolbutírico (IBA) .La solución madre colocamos en 8 frascos cada uno con 100 ml los mismos que se aplicó su respectiva concentración de las dos hormonas de 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido giberélico (GA3) (Torres et al., n.d.). Con las 8 soluciones colocamos 8 gr de agar se mezcló y lo llevamos al microondas por 2 min cada frasco, posterior se colocó en cada tubo de ensayo 3ml de medio una vez colocado todos los medios en los tubos se tapó y se esterilizó aproximadamente por una hora.

### **9.5.3 Medio (Enriquecido) 3**

Para la solución madre colocamos 800 ml de agua destilada en un vaso de precipitación en cual colocamos de medio (1.92 gr) Woody Plant Medium (WPM) contiene macro y micro elementos se suplemento con (24 g/L) de sacarosa como fuente de carbono, 1 ml de transzeatina (TZ) , 10 ml de ácido indolbutírico (IBA).La solución madre colocamos en 8 frascos cada uno con 100 ml los mismos que se aplicó su respectiva concentración de las dos hormonas de 6-bencilaminopurina (BAP) y ácido giberélico (GA3) (Torres et al., n.d.). Con las 8 soluciones colocamos 0.8 gr de agar se mezcló y lo llevamos al microondas por 2 min cada frasco, posterior se colocó en cada tubo de ensayo 3ml de medio una vez colocado todos los medios en los tubos se tapó y se esterilizo aproximadamente por una hora.

**Tabla 10.** *Para la preparación del medio de cultivo en la fase de multiplicación de mortiño (*Vaccinium floribundum*)*

<b>Fase de Multiplicación</b>					
			<b>Protocolo 1</b>	<b>Protocolo 2</b>	<b>Protocolo 3</b>
<b>Preparación de medio de cultivo</b>	Medio de cultivo (estándar) pH 5.05	Woody Plant Medium	1.92 g	1.92 g	1.92 g
		Sacarosa	24 g	24 g	24 g
		Agar	8 g/L	8 g/L	8 g/L
	Hormonas y Vitaminas	Transzeatina (TZ)	1 ppm	1 ppm	1 ppm
		IBA	0,5 ppm	0,8 ppm	1 ppm
		BAP	0,5 ppm	1 ppm	1,5 ppm
		GA3	0.8 ppm	1 ppm	1,2 ppm

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

## 9.6 Diseño Experimental

En un experimento de estudió mediante el Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA), con 24 tratamientos y 3 repeticiones.

Incubación In vitro: se incubaron los tubos de ensayo con segmentos nodales de mortíño a una temperatura de 22 °C, iluminación de 3000 lux, un fotoperiodo de 16h luz y 8 h de oscuridad y humedad relativa del 85%.

## 9.7 Variables y métodos de evaluación *in vitro*

### 9.7.1 Longitud de los brotes multiplicados

Se determinaron las alturas con la ayuda de una regla milimétrica desde el inicio de la multiplicación hasta terminar la fase a los 2 meses.

### 9.7.2 Número de brotes

Se determinará el número de brotes cada 8 días desde el inicio de la multiplicación hasta terminar la fase de multiplicación a los 2 meses.

### 9.7.3 Número de hojas

Se cuantificará el número de hojas cada 8 días desde el inicio de la multiplicación hasta terminar la fase de multiplicación a los 2 meses. El promedio se obtuvo a partir la suma total de hojas por tratamiento.

### 9.7.4 Porcentaje de formación de callo

Se determinará el grado de inducción de callo mediante una escala que calificará con 3 la abundancia hasta 0 con la ausencia de callo, se colocará a cada uno de los explantes el grado de callo al finalizar el registro de los datos.

**Tabla 11.** Descripción de la escala empleada por Santana (1982)

Grado	Inducción de callos	Observación
0	No formación del callo	-
1	Ligera formación del callo	Débil proliferación en zonas del brote del explante
2	Formación del callo	Proliferación de células por todos los brotes del explante
3	Abundante formación del callo	Formación de una masa voluminosa de callos

**Fuente:**(Hernández-Amasifuen et al., 2021)

**Elaborado:** Toapanta L. 2025

## 9.8 Análisis de datos

Para el análisis estadístico del presente estudio se empleó el software de aplicación estadística Rstudio para el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de comparación múltiple de Tukey al 5% de probabilidad estadística.

## 9.9 Especificaciones del campo experimental

### 9.9.1 Diseño experimental

Se realizó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) con un análisis factorial, diseño factorial con un total de 24 tratamientos con 3 bloques (repeticiones) con un total de 72 unidades experimentales.

**Tabla 12.** *Esquema del ADEVA.*

<b>Fuente de variación</b>	<b>Formula</b>	<b>Grados de libertad</b>
Repeticiones	R-1	2
	3-1	
Tratamientos	T-1	23
	24-1	
Error	T-1* R-1	46
Total	(t*r)-1	71

**Elaborado por:** Toapanta L, 2025

### 9.9.2 Factores en estudio

#### Hormonas

✓ IBA (ácido indolbutírico)

#### 3 niveles

1.- Concentración 0.5 ppm

2.-Concentracion 1 ppm

3.-Concentracion 1.5 ppm

✓ BAP (6-bencilaminopurina)

#### 3 niveles

1.- Concentración 0.5 ppm

2.-Concentracion 0,8 ppm

3.-Concentracion 1 ppm

✓ GA3 (ácido giberélico)

### 3 niveles

1.- Concentración 0,8 ppm

2.-Concentracion 1 ppm

3.- Concentración 1,2 ppm

#### 9.9.3 Tratamientos

Se probó la combinación de diferentes concentraciones de hormonas en el cultivo in vitro en la fase de multiplicación del mortño. A continuación, se describen los tratamientos y las concentraciones de las hormonas que se utilizó.

**Tabla 13.** *Tratamientos y códigos de la investigación del cultivo in vitro en la fase de multiplicación del mortño (Vaccinium floribundum Kunth), con tres repeticiones.*

Tratamientos	Códigos	Descripción
T1	M-H1C1-H2C1-H3C1	IBA (0,5 ppm) + BAP (0,5 ppm) + GA3 (1.0 ppm)
T2	M-H1C1-H2C1 -H3C2	IBA (0,5 ppm) + BAP (0,5 ppm) + GA3 (0,8 ppm)
T3	M-H1C1-H2C2-H3C1	IBA (0,5 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (0,8 ppm)
T4	M-H1C1-H2C3-H3C1	IBA (0,5 ppm) + BAP (1,5 ppm) + GA3 (0,8 ppm)
T5	M-H1C1-H2C2-H3C2	IBA (0,5 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (1 ppm)
T6	M-H1C1-H2C2-H3C3	IBA (0,5 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (1,2 ppm)
T7	M-H1C1-H2C3-H3C2	IBA (0,5 ppm) + BAP (1,5 ppm) + GA3 (1 ppm)
T8	M-H1C1-H2C3-H3C3	IBA (0,5 ppm) + BAP (1,5 ppm) + GA3 (1,2 ppm)
T9	M-H1C2-H2C1-H3C1	IBA (1,0ppm) + BAP (0,5 ppm) + GA3 (0,8 ppm)
T10	M-H1C2-H2C1-H3C2	IBA (1,0 ppm) + BAP (0,5 ppm) + GA3 (1 ppm)
T11	M-H1C2-H2C2-H3C2	IBA (1,0 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (1 ppm)
T12	M-H1C2-H2C1-H3C3	IBA (1,0 ppm) + BAP (0,5 ppm) + GA3 (1,2 ppm)
T13	M-H1C2-H2C2-H3C1	IBA (1,0 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (0,8 ppm)
T14	M-H1C2-H2C2-H3C3	IBA (1,0 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (1,2 ppm)
T15	M-H1C2-H2C3-H3C2	IBA (1,0 ppm) + BAP (1,5 ppm) + GA3(1 ppm)
T16	M-H1C2-H2C3-H3C3	IBA (1,0 ppm) + BAP (1,5 ppm) + GA3 (1,2 ppm)
T17	M-H1C3-H2C1-H3C1	IBA (0,8 ppm) + BAP (0,5 ppm) + GA3 (0,8 ppm)
T18	M-H1C3-H2C2-H3C2	IBA (0,8 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (1 ppm)
T19	M-H1C3-H2C1-H3C3	IBA (0,8 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (1,2 ppm)
T20	M-H1C3-H2C2-H3C1	IBA (0,8 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (0,8 ppm)
T21	M-H1C3-H2C2-H3C3	IBA (0,8 ppm) + BAP (1 ppm) + GA3 (1,2 ppm)
T22	M-H1C3-H2C3-H3C1	IBA (0,8 ppm) + BAP (1,5 ppm) + GA3 (0,8 ppm)
T23	M-H1C3-H2C3-H3C2	IBA (0,8 ppm) + BAP (1,5 ppm) + GA3 (1 ppm)
T24	M-H1C3-H2C3-H3C3	IBA (0,8 ppm) + BAP (1,5 ppm) + GA3 (1,2 ppm)

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

**Bloques completos al azar**

**Tabla 14.** *Distribución aleatoria de tratamientos en el Diseño de Bloques Completos al Azar (DBCA).*

<b>R3</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>
T1	T14	T6
T2	T5	T18
T3	T21	T24
T4	T7	T3
T5	T9	T10
T6	T3	T15
T7	T10	T9
T8	T4	T22
T9	T18	T13
T10	T8	T1
T11	T23	T5
T12	T13	T7
T13	T16	T23
T14	T22	T20
T15	T17	T8
T16	T2	T2
T17	T19	T16
T18	T24	T17
T19	T1	T4
T20	T11	T14
T21	T20	T21
T22	T6	T11
T23	T15	T12
T24	T12	T19

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

**9.9.4 Operacionalización de variables**

**Tabla 15.** *Cuadro de variables.*

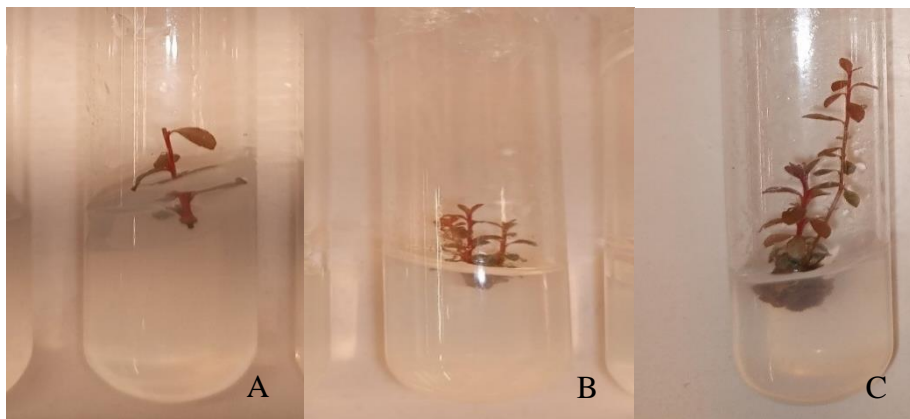
<b>Tipo de Variable</b>	<b>Variabes</b>	<b>Definición</b>	<b>Tipo</b>
<b>Variable Independiente</b>	Medio de cultivo	Medio de cultivo Woody Plant Medium (WPM) como base para el crecimiento in vitro.	Cualitativa nominal
	Concentración de IBA	Concentración de ácido Indolbutírico (ppm) usado para promover el enraizamiento.	Cuantitativa continua
	Concentración de BAP	Concentración de 6-bencilaminopurina (ppm) usada para estimular brotes.	Cuantitativa continua
	Concentración de GA3	Concentración de ácido giberélico (ppm) usada para promover elongación y crecimiento de brotes.	Cuantitativa continua
<b>Variable Dependiente</b>	Altura de brotes	Medida promedio de la altura de brotes en centímetros después de dos meses.	Cuantitativa continua
	Número de brotes	Formación de brotes durante dos meses.	Cuantitativa ordinal
	Número de hojas por tratamiento	Número de hojas por brote formado en cada tratamiento.	Cuantitativa discreta
	Medición de callo	Explantes que desarrollan callo mediante una escala de grado de callogénesis.	Cuantitativa ordinal

**Elaborado por:** Toapanta L. 2025

## 10. ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

### 10.1 Análisis de variables

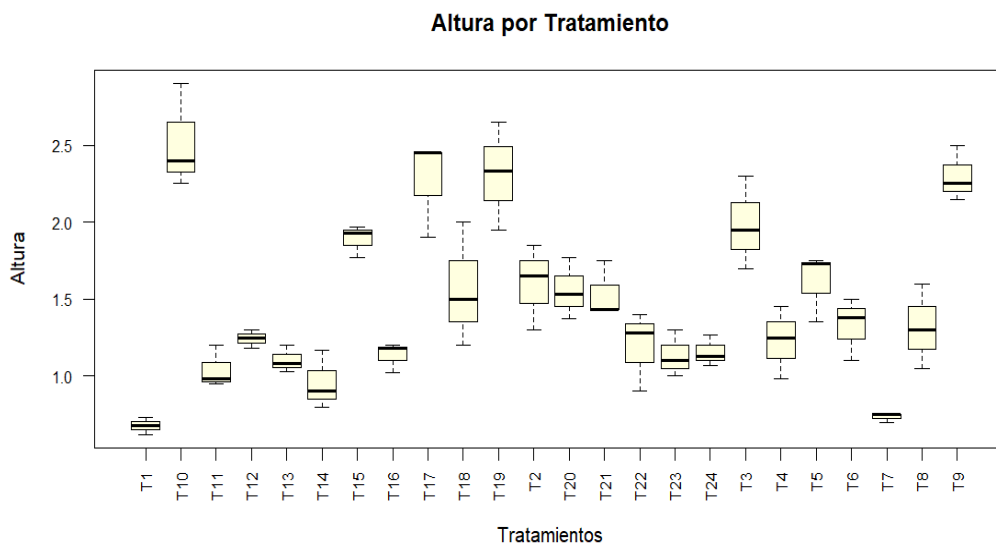
#### 10.1.1 Altura de los brotes



**Ilustración 8:** Alturas de los brotes (a) altura inicial, (b) altura a las 4 semanas, (c) altura a los 2 meses de cultivo en laboratorio.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se puede observar en la ilustración 8 (A) altura de los brotes inicial, en la ilustración 8 (B) se observa la altura registrada a las 4 semanas y finalmente en la ilustración 8 (C) se aprecia la altura alcanzada a los 2 meses durante la fase de multiplicación in vitro.



**Ilustración 9:** Altura de los brotes de las plantas a los 2 meses por tratamiento.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se observan la distribución de la altura de brotes (cm) por tratamiento, representada mediante un diagrama de caja (boxplot), se permite visualizar la mediana mediante el rango intercuartílico y la dispersión de los datos. En primer lugar, los tratamientos que mostraron el mejor desempeño en altura de brotes, con una mediana de 2.4 cm, son los tratamientos T10 con un Q1 de 2.3 cm llegando a un valor mínimo de 2.27 cm y un Q3 de 2.7 cm con un valor máximo de 3.0 cm; y el tratamiento T17 con un Q1 de 2.2 cm llegando a un valor mínimo de 1.9 cm. Estos tratamientos reflejan un crecimiento destacado y consistente.

Por otro lado, los tratamientos que mostraron menor desarrollo en la altura de brotes es el tratamiento T13 y T23 con una mediana de 1.1 cm; el tratamiento T11 con una mediana de 0.98 cm; el tratamiento T14 con una mediana de 0.9 cm. Y por último T7 con una mediana de 0.5 cm y el tratamiento T1 con una mediana de 0.4 cm. Estos tratamientos mencionados demuestran un bajo desarrollo en la variable de altura (Ilustración 9).

**Tabla 16:** *Análisis de varianza para la variable altura de la planta de mortiño (*Vaccinium floribundum*), en la fase de multiplicación in vitro en el laboratorio a los dos 2 meses.*

<b>Fuente de variación</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Valor de F</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>	
Modelo	17,82	25	0,71	13,86	< 0,0001	
Bloques	0,03	2	0,01	0,26	0,7694	
Tratamientos	17,79	23	0,77	15,05	<0,0001	**
<b>Error</b>	2,36	46	0,05			
<b>Total</b>	20,18	71				
<b>CV%</b>	15,38					

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

El análisis de varianza (ANOVA) indicó que, a los dos meses, sí existieron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0,05$ ), lo que demuestra que hubo un efecto de los diferentes tratamientos en la multiplicación in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum*), sobre la altura de los segmentos nodales. Estos resultados justifican la aplicación de pruebas de comparación

múltiples, como la de Tukey, para identificar con precisión qué tratamientos difirieron significativamente entre sí (Tabla 16).

**Tabla 17:** *Test de Tukey al 5% asociada a la altura de segmentos nodales de mortiño (Vaccinium floribundum), luego de la fase de multiplicación in vitro en laboratorio a los 2 meses.*

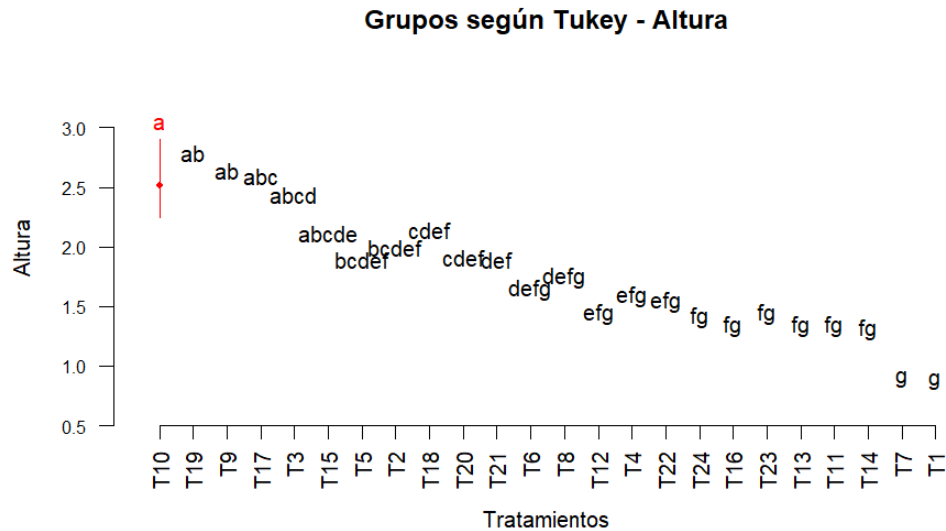
Tratamientos	Promedio de Altura (cm)	Rango de significancia
T10	2.52	a
T19	2.31	ab
T9	2.30	ab
T17	2.27	abc
T3	1.98	abcd
T15	1.89	abcde
T5	1.61	bcdef
T2	1.60	bcdef
T18	1.57	cdef
T20	1.56	cdef
T21	1.54	def
T6	1.33	defg
T8	1.32	defg
T12	1.24	efg
T4	1.23	efg
T22	1.19	efg
T24	1.16	fg
T16	1.13	fg
T23	1.13	fg
T13	1.10	fg
T11	1.04	fg
T14	0.96	fg
T7	0.73	g
T1	0.68	g

\*Letras diferentes denotan diferencias estadísticas significativas según el Test de Tukey al 5%

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

La prueba Tukey al 5 % para la variable altura a los 2 meses, mostro 12 grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra el T10; en el grupo “ab” se encuentran los tratamientos T19 y T9, en el grupo “abc” se encuentran el T17, en el grupo “abcd” el T3, en el grupo “abcde” el T15, en el grupo

“bcdef” los tratamientos T5 y el T2. En el grupo “cdef” los tratamientos T18 y el T20, en el grupo “def” el T21, en el grupo “efg” los tratamientos T8, T12 y T4, en el grupo “defg” los tratamientos T8 y el T6. En cuanto al grupo “fg” los tratamientos T24, T16, T23, T13, T11 y el T14. Y en el último grupo “g” los tratamientos T7 y T1. El tratamiento 10 presento mayor promedio de altura (2.52 cm) y el tratamiento 1 presento menor promedio en altura (0.68 cm) (Tabla 17).

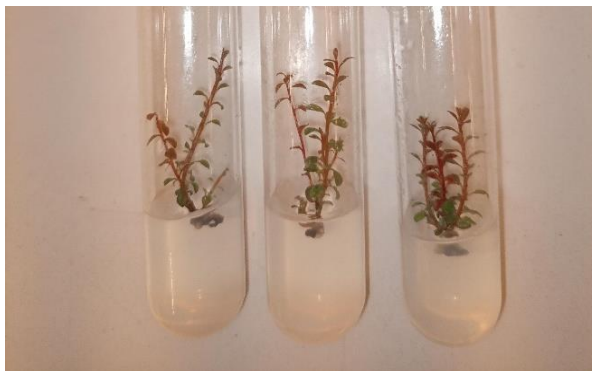


**Ilustración 10:** Grafico de grupos según Tukey-Altura

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se observa, el tratamiento T10 presento la mayor altura, con una media de 2.52 cm y se ubico en el grupo “a” estadísticamente diferente, lo que indica que fue significativamente superior a los tratamientos T1 y T7, que se ubicaron en el grupo “g” y mostro la menor altura de los esxplantes. Los tratamientos T3 ,T9 ,T19 ,T5 ,T17 ,T2 ,T12 ,T18 ,T15 ,T20 ,T21 ,T13 ,T11 ,T6 ,T8 ,T23 ,T22 ,T24 ,T16 ,T4 y T14 se encuentran en el grupos intermedios , lo que indica que no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí con los tratamientos (Ilustración 10).

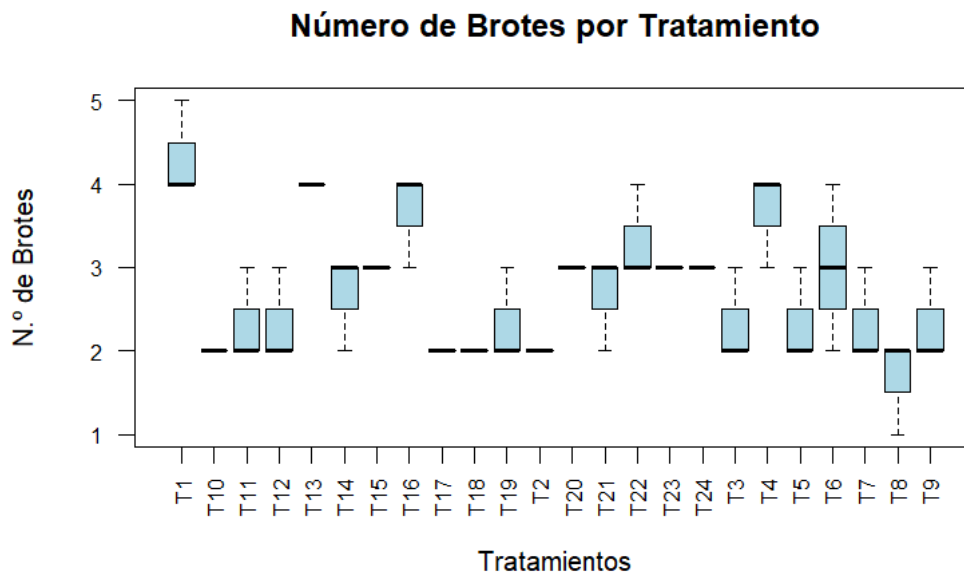
### 10.1.2 Número de segmentos nodales brotados



**Ilustración 11:** Número de segmentos nodales brotados en la fase de multiplicación a los 2 meses de cada tratamiento.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se puede observar en la ilustración 12, se presentó uno de los tratamientos evaluados junto con sus 3 repeticiones detallando el número de los segmentos nodales que presentaron brotación durante la fase de multiplicación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) a los 2 meses de cultivo en laboratorio.



**Ilustración 12:** Número de brotes de la planta a los 2 meses por tratamientos.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se puede observar el número de brotes por tratamiento mediante un gráfico de caja (boxplot). En primer lugar, los tratamientos con mayor número de brotes con una mediana de 4 fueron los tratamientos T1 con un Q3 de 4.25 con un valor máximo de 5; el tratamiento T16 con un Q1 de 3.5; el tratamiento T4 con un Q1 de 3.5; y el tratamiento 13. Estos tratamientos reflejan un desarrollo favorable en la formación de brotes.

Por otro lado, los tratamientos que presentaron una mediana de 2 son los tratamientos T11, el tratamiento T12; el tratamiento T19; el tratamiento T3; el tratamiento T4; el tratamiento T7; el tratamiento T8; el tratamiento T9; el tratamiento T10, el tratamiento T17, tratamiento T18 y el tratamiento 2. Los tratamientos presentaron una mediana menor en la formación de brotes, y refleja un desarrollo lento y menos vigoroso en comparación con los tratamientos con un promedio alto en la formación de brotes (Ilustración 12).

**Tabla 18:** *Análisis de varianza para la variable brotes de la planta de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación in vitro en el laboratorio a los 2 meses.*

<b>Fuente de variación</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Valor de F</b>	<b>Pr(&gt;F)</b>	
Modelo	33,14	25	1,33	5,39	< 0,0001	
Bloques	0,03	2	0,01	0,06	0,9451	
Tratamientos	33,11	23	1,44	5,86	<0,0001	**
<b>Error</b>	11,31	46	0,25			
<b>Total</b>	44,44	71				
<b>CV%</b>	18,21					

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

El análisis de varianza (ANOVA) indicó que, a los dos meses, sí existieron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0,05$ ), lo que demuestra que hubo un efecto de los diferentes tratamientos en la multiplicación in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum*), sobre el número de brotes en los segmentos nodales. Estos resultados justifican la aplicación de pruebas de comparación múltiples, como la de Tukey, para identificar con precisión qué tratamientos difirieron significativamente entre sí (Tabla 18).

**Tabla 19:** Test de Tukey al 5% asociada al número de brotes de segmentos nodales de mortíño (*Vaccinium floribundum*), luego de la fase de multiplicación in vitro en laboratorio a los 2 meses.

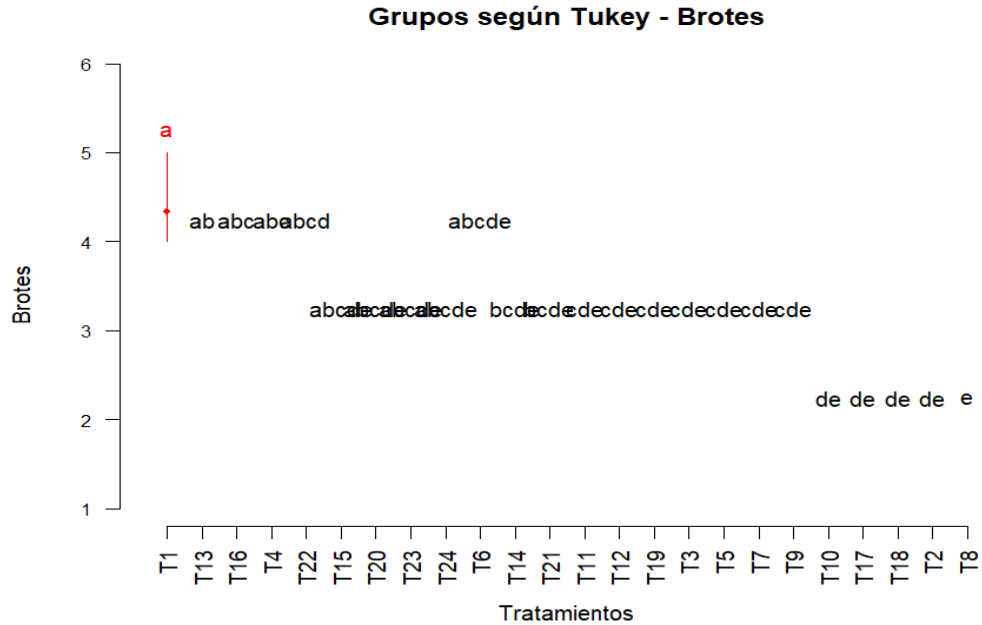
Tratamientos	Promedio de Brotes	Rango de significancia
T1	4.33	a
T13	4.00	ab
T16	3.67	abc
T4	3.67	abc
T22	3.33	abcd
T15	3.00	abcde
T20	3.00	abcde
T23	3.00	abcde
T24	3.00	abcde
T6	3.00	abcde
T14	2.67	bcde
T21	2.67	bcde
T11	2.33	cde
T12	2.33	cde
T19	2.33	cde
T3	2.33	cde
T5	2.33	cde
T7	2.33	cde
T9	2.33	cde
T10	2.00	de
T17	2.00	de
T18	2.00	de
T2	2.00	de
T8	1.67	e

\*Letras diferentes denotan diferencias estadísticas significativas según el Test de Tukey al 5%

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

La prueba Tukey al 5 % para la variable número de brotes a los 2 meses, mostro 9 grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra el T1; en el grupo “ab” el T13; en el grupo “abc” el T16 y T4. En el grupo “abcd” el T2, en el grupo “abcde” los tratamientos T15, T20, T23, T24 y el T6; en el grupo “bcde” el tratamiento T14 y T21. En el grupo “cde” se encuentran los tratamientos T11, T12, T19, T3, T5, T7 y T9; mientras que en el grupo “de” los tratamientos T10, T17, T18 y T2 ; y

el último grupo es “e” con el tratamiento T9. El tratamiento 1 presento el mayor número de brotes (4.33) y el tratamiento T8 presento el menor número de brotes (1.67) (Tabla 19).

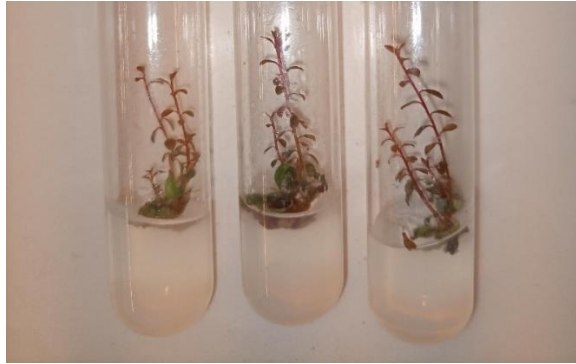


**Ilustración 13:** Gráfico de grupos según Tukey-Numero de Brotes.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se observa el tratamiento T1 presentó el mayor número de brotes, con una media de 4.33 y se ubicó en el grupo “a” estadísticamente diferente, lo que indica que fue significativamente superior al tratamiento T8, que se ubicó en el grupo “e” y mostró el menor número de brotes. Los tratamientos T13, T16, T4, T6, T15, T20, T22, T23, T24, T11, T12, T14, T21, T3, T19, T10, T17, T18 y T2 se ubicaron dentro de los grupos intermedios, lo que indica que no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí con los tratamientos (Ilustración 13).

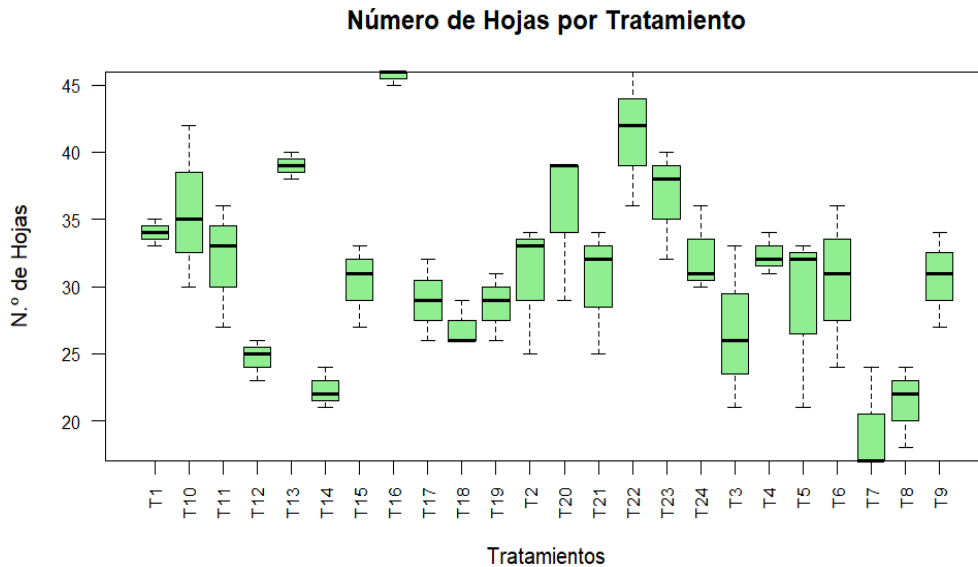
### 10.1.3 Número de hojas



**Ilustración 14:** Número de hojas de los brotes de mortiño (*Vaccinium floribundum*) a los 2 meses de la fase de multiplicación in vitro.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se observa en la ilustración 15, el número de hojas de los brotes de las plantas de mortiño (*Vaccinium floribundum*) fue evaluado a los 2 meses de la fase de multiplicación in vitro en laboratorio. Esta evaluación permitió identificar diferencias en la respuesta morfológica de los tratamientos aplicados, evidenciando la influencia de los reguladores de crecimiento utilizados en la formación foliar.



**Ilustración 15:** Número de hojas de planta a los 2 meses por tratamiento.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se puede observar el número de hojas de las plantas por tratamiento mediante un gráfico de caja (boxplot). En primer lugar, el tratamiento T16 presento el mayor número de hojas, con un promedio de 46, un Q1 de 45 con un valor mínimo de 45. En segundo lugar, el tratamiento T22 con promedio de 42 hojas. Seguidamente, el tratamiento T20 con un promedio de 39 hojas, mientras que los tratamientos con un promedio de 38 hojas fueron el T13 y el tratamiento T23. Estos tratamientos reflejan un desarrollo morfológico uniforme destacando entre los demás tratamientos.

Por otro lado, el tratamiento con un promedio de 29 hojas es el tratamiento T19. Más adelante, los tratamientos con un promedio de 26 hojas son los tratamientos T18 y tratamiento T3. Finalmente, el tratamiento T12 mostro un promedio de 25 hojas; seguido por los tratamientos con un promedio de 22 hojas, el tratamiento T8 y el tratamiento T14. Y por último el tratamiento T7 con un promedio de 15 hojas. Estos tratamientos muestran una diferencia en el desarrollo morfológico de las plantas a comparación con los tratamientos con un promedio significativo (Ilustración 15).

**Tabla 20:** Análisis de varianza para la variable hojas de la planta de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación in vitro en el laboratorio a los 2 meses.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor de F	Pr(>F)	
Modelo	2682,97	25	107,32	7,10	< 0,0001	
Bloques	69,69	2	34,85	2,31	0,1110	
Tratamientos	2613,28	23	113,62	7,52	<0,0001	**
<b>Error</b>	594,97	46	15,11			
<b>Total</b>	3377,94	71				
<b>CV%</b>	12,53					

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

El análisis de varianza (ANOVA) indico que a los 2 meses si existió diferencias significativas en los tratamientos ( $P>0,05$ ), demostrando que hubo efecto de los diferentes tratamientos sobre el número de hojas de los segmentos nodales brotados en la fase de multiplicación de mortiño (*Vaccinium floribundum*). Esto indica que los tratamientos evaluados influyeron de forma significativa en esta variable. Por tanto, se justifica aplicar las pruebas de comparación múltiple,

como la de Tukey, para identificar con precisión qué tratamientos difirieron significativamente entre sí (Tabla 19).

**Tabla 21:** *Test de Tukey al 5% asociada al número de hojas en los segmentos nodales de mortiño (*Vaccinium floribundum*), luego de la fase de multiplicación in vitro en laboratorio a los 2 meses.*

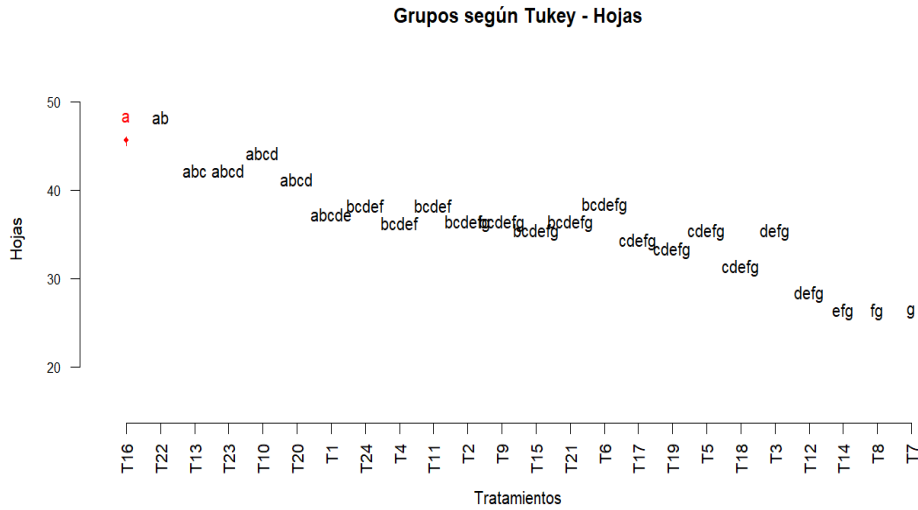
Tratamientos	Promedio de Hojas	Rango de significancia
T16	45.67	a
T22	41.33	ab
T13	39.00	abc
T23	36.67	abcd
T10	35.67	abcd
T20	35.67	abcd
T1	34.00	abcde
T24	32.33	bcdef
T4	32.33	bcdef
T11	32.00	bcdef
T2	30.67	bcdefg
T9	30.67	bcdefg
T15	30.33	bcdefg
T21	30.33	bcdefg
T6	30.33	bcdefg
T17	29.00	cdefg
T19	28.67	cdefg
T5	28.67	cdefg
T18	27.00	cdefg
T3	26.67	defg
T12	24.67	defg
T14	22.33	efg
T8	21.33	fg
T7	19.33	g

\*Letras diferentes denotan diferencias estadísticas significativas según el Test de Tukey al 5%

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

La prueba Tukey al 5 % para la variable número de hojas a los 2 meses, mostro 9 grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra el T1; en el grupo “ab” el T22; en el grupo “abc” el T13; e n el grupo “abcd” los tratamientos T23, T10 y T20; en el grupo “abcde” el T1. En el grupo “bcdef” se encuentran los tratamientos T24, T4 y T11; en el grupo “bcdefg” se encuentran los tratamientos

T2, T19, T15, T21 y T16; en el grupo “cdefg” se encuentran los tratamientos T17, T19, T5 y T18. Mientras que en el grupo “defg” los tratamientos T3 y T12; en el grupo “efg” el T14; en el grupo “fg” el T8 y por último en el grupo “g” el T7. El tratamiento 1 presentó el mayor número de hojas (45.68) y el tratamiento T8 que presentó el menor número de hojas (19.33) (Tabla 21).

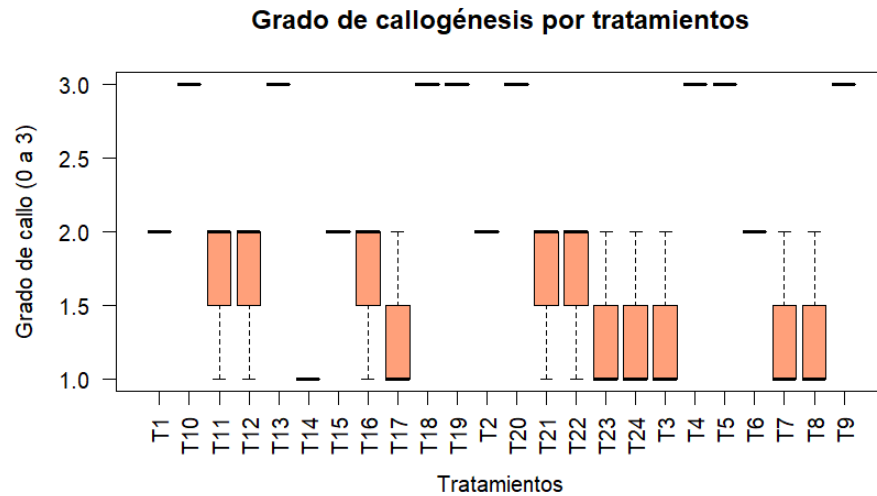


**Ilustración 16:** Grafico de grupos según Tukey-Numero de Hojas.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se observa el tratamiento T1 presentó el mayor número de brotes, con una media de 45.68 y se ubicó en el grupo “a” estadísticamente diferente, lo que indica que fue significativamente superior al tratamiento T8, que se ubicó en el grupo “g” y mostró el menor número de brotes. Los tratamientos T13, T16, T4, T6, T15, T20, T22, T23, T24, T11, T12, T14, T21, T3, T19, T10, T17, T18 y T2 se ubicaron dentro de los grupos intermedios, lo que indica que no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí con los tratamientos (Ilustración 16).

### 10.1.4 Grado de callogénesis



**Ilustración 17:** Grado de callogénesis por tratamientos de los explantes de mortiño (*Vaccinium floribundum*) de la fase de multiplicación a los 2 meses.

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se puede observar el grado de callogénesis de las plantas por tratamiento, presentado mediante un gráfico de caja (boxplot). En primer lugar, los tratamientos que presentaron un promedio de 3.0 fueron los tratamientos T10, T13, T18, T19, T4, T5, T9 y T20 lo que indica un alto grado de formación de callo. A continuación, los tratamientos con un promedio de 2.0 los tratamientos T1, T15, T2 y T6, T11, T12, T16, T21 y T22. Por último, tenemos a los tratamientos que presentaron un promedio de 1.0 los tratamientos T14, T17, T23, T24, T3, T7 y el T8. Estos tratamientos con menor promedio muestran una baja formación de callogénesis (Ilustración 17).

**Tabla 22:** Análisis de varianza de para el grado callogénesis de la planta de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación in vitro en el laboratorio a los 2 meses.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Valor de F	Pr(>F)	
Modelo	36,97	25	1,48	10,00	< 0,0001	
Bloques	0,53	2	0,26	1,78	0,1794	
Tratamientos	36,44	23	1,58	10,71	<0,0001	***
<b>Error</b>	6,81	46	0,15			
<b>Total</b>	43,78	71				
<b>CV%</b>	18,71					

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

El análisis de varianza (ANOVA) indicó que a los 2 meses sí existieron diferencias significativas en los tratamientos ( $P > 0,05$ ), demostrando que hubo efecto en los diferentes tratamientos sobre el grado de callogénesis en la fase de multiplicación de las plantas de mortiño (*Vaccinium floribundum*). Esto indica que los tratamientos evaluados influyeron de forma significativa en esta variable. Por tanto, se justifica aplicar pruebas de comparación múltiple (Tabla 22).

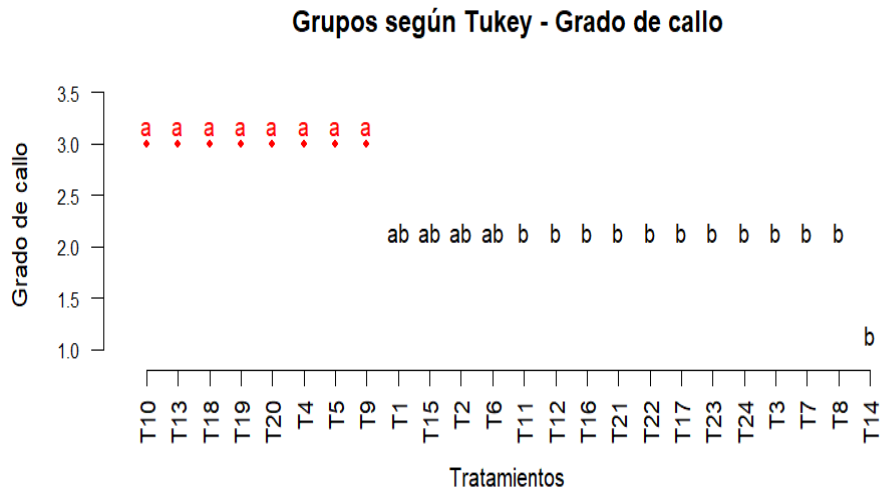
**Tabla 23:** Test de Tukey al 5% asociada al grado de callo en los segmentos nodales de mortiño (*Vaccinium floribundum*), luego de la fase de multiplicación *in vitro* en laboratorio a los 2 meses.

Tratamientos	Promedio de Grado	Rango de significancia
T10	3.00	a
T13	3.00	a
T18	3.00	a
T19	3.00	a
T20	3.00	a
T4	3.00	a
T5	3.00	a
T9	3.00	a
T1	2.00	ab
T15	2.00	ab
T2	2.00	ab
T6	2.00	ab
T11	1.67	b
T12	1.67	b
T16	1.67	b
T21	1.67	b
T22	1.67	b
T17	1.33	b
T23	1.33	b
T24	1.33	b
T3	1.33	b
T7	1.33	b
T8	1.33	b
T14	1.00	b

\*Letras diferentes denotan diferencias estadísticas significativas según el Test de Tukey al 5%

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

La prueba Tukey al 5 % para la variable grado de callo a los 2 meses, mostro 3 grupos estadísticos; en el grupo “a” se encuentra el T10, T13, T18, T19, T20, T4, T5 y T9; en el grupo “ab” el T1, T15, T2 y T6; en el grupo “b” se encuentran los tratamientos T11, T12, T16, T21, T22, T17, T23, T24, T3, T7, T8 y T14. El grupo “a” presento un promedio de rango de 3 mientras que en el grupo “b” el tratamiento con menor promedio de grado es el tratamiento T14 (1.00) (Tabla 23).



**Ilustración 18:** *Grafico de grupos según Tukey-Grado de callo.*

**Realizado por:** Toapanta L. 2025

Como se observa el tratamiento T10, T13, T18, T19, T20, T4, T5 y T9, presentaron el mayor promedio de grado de callo (3.00) estos tratamientos se ubicaron en el grupo “a” estadísticamente diferente, lo que indica que fue significativamente superior a los tratamientos T11, T12, T16, T21, T22, T17, T23, T24, T3, T7, T8 y T14; que se ubicaron en el grupo “b” y mostró el menor grado de callo. Los tratamientos T1, T15, T2 y T6; se ubicaron dentro del grupo intermedio, lo que indica que no presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí con los tratamientos (Ilustración 18).

### 10.1.5 Discusión

Para cada una de las variables se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) con el propósito de identificar si existía o no diferencias estadísticas significativas entre cada uno de los tratamientos, y así identificar el tratamiento más adecuado para la propagación in vitro de mortño (*Vaccinium floribundum*) para la fase de multiplicación. Teniendo como objetivo fundamental comprobar la

eficiencia del uso de diferentes concentraciones hormonales en la propagación, se realizó además una prueba de comparación múltiple de Tukey al 5%, lo que permitió identificar con precisión los tratamientos que presentaron mejores resultados.

En cuanto a la altura de los explantes multiplicados a los 2 meses, existieron diferencias significativas en los tratamientos ( $P < 0,05$ ), demostró que existen efecto en los diferentes tratamientos para la fase de multiplicación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*), sobre la altura de los explantes multiplicados de las vitroplantas (Ilustración 7). El tratamiento T10 fue el que alcanzo mayor altura promedio de 2.52 cm mientras que el tratamiento T1 presento la altura menor promedio de 0.68 cm (Ilustración 9). Los datos obtenidos coinciden con los resultados de (Torres P. et al., 2010), quien realizo una investigación en el cultivo in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en el cual empleo IBA (1.0 ppm) BAP (0.5 ppm) y GA3 (1.0) promueve un crecimiento más acelerado y vigoroso de la longitud de los brotes, debido al efecto conjunto de estas fitohormonas sobre la elongación celular y el desarrollo morfogenético de las vitroplantas.

Respecto al número de brotes por explante, multiplicados a los 2 meses, si existieron diferencias significativas en los tratamientos ( $P < 0,05$ ), demostrando que si existieron efecto en los diferentes tratamientos para la fase de multiplicación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*), sobre el número de brotes por explante multiplicados de las vitroplantas (Ilustración 7). El tratamiento T1 fue el que alcanzo mayor promedio de número de brotes de 4.33 mientras el tratamiento T8 presento el menor promedio de número de brotes 1.67 (Ilustración 12). Los datos obtenidos coinciden con los resultados de (Figiel et al., 2022), quien realizo una investigación en el cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum L.*) en cual empleo IBA (0.5 ppm) BAP (0.5 ppm) y GA3 (1.0 ppm), favorece la formación de múltiples brotes en especies del género *Vaccinium*, al generar un equilibrio hormonal optimo que estimula la actividad meristemática y mejora la respuesta morfogenética de los explantes en condiciones in vitro.

En cuanto al número de hojas de los segmentos nodales evaluados a los 2 meses de cultivo in vitro, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ( $P < 0,05$ ), lo que indica que las concentraciones hormonales aplicadas generaron una variación significativa en esta variable. Sim embargo, se observó que el tratamiento T16, se aplicaron concentraciones de IBA (1.0 ppm) BAP (1.0 ppm) Y GA3 (1.0 ppm) presento el mayor promedio de hojas por explante, con 45.57 unidades, mientras que el tratamiento que presento el menor número de hojas con 19.33

unidades fue el tratamiento T7 (Ilustración 15). Los datos obtenidos coinciden con (Cabrera, 2023) quien destaca en su investigación resultados positivos en el cultivo in vitro de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) al emplear BAP en concentraciones de 0.5 ppm y 1.0 ppm, observado mayor significancia en la formación de hojas y en la morfología general de las vitroplantas. El uso correcto de citoquininas, en combinación con otras fitohormonas llega a optimizar la actividad meristemática y promueve el crecimiento foliar en especies del género *Vaccinium*.

En relación con el grado de callogénesis observado en los explantes de mortiño (*Vaccinium floribundum*) durante la fase de multiplicación in vitro, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados ( $P > 0.05$ ). Se puede mencionar que las combinaciones hormonales aplicadas ejercieron un efecto consistente sobre la variable. Aunque algunos tratamientos presentaron medianas elevadas de 3.0 como el T10, T13, T18, T19, T20, T4, T5 y T9 lo que indica una alta proliferación de callo (Ilustración 16). Resultados similares fueron descritos por (Ángel & Elizabeth, 2019), quien realizó una investigación en vainilla (*Vainilla planifolia*) que reportó el uso de BAP a una concentración de 1.0 ppm que favoreció a la inducción de callo en segmentos nodales, sugiriendo que esta concentración hormonal podría estimular procesos similares en especies vegetales con comportamiento fisiológico comparable.

## **11. IMPACTOS**

### **11.1 Impacto técnico**

El impacto fue positivo, ya que se logró determinar la concentración adecuada de aplicación de las fitohormonas de crecimiento (BAP, IBA y GA<sub>3</sub>) para la propagación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación. Este estudio contribuye al desarrollo de protocolos aplicables para la producción de especies nativas. Además, fortalecen las capacidades locales en la biotecnología vegetal que pueden replicarlos en laboratorios que tengan interés en la conservación y aprovechamiento sostenible.

### **11.2 Impacto social**

El impacto fue igualmente positivo, ya que los resultados obtenidos del estudio sirven para promover el cultivo in vitro del mortiño como alternativa de producción sostenible, especialmente en comunidades rurales andinas. Esta técnica es una oportunidad para conservar una especie nativa de alto valor ecológico, además fortalece el conocimiento local sobre la biotecnología agrícola. Los

resultados pueden motivar a la comunidad a implementar biolaboratorios para fortalecer sus capacidades, generando nuevas oportunidades productivas en especies nativas con potencial ecológico y fuente de desarrollo económico.

### **11.3 Impacto ambiental**

Este proyecto de cultivo in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) genera impactos positivos al contribuir en la conservación de la especie nativa de los andes. La producción de plantas mediante la aplicación de la micropropagación permite obtener mayor cantidad de plantas en un corto plazo para la reforestación en espacios. Además, que al desarrollarse en condiciones asépticas y un eficiente uso de recursos como el agua, espacio y nutrientes esta técnica minimiza la generación de residuos y el uso de agroquímicos promoviendo prácticas sostenibles.

## **12. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **12.1 Conclusiones**

- En base a los resultados obtenidos en la presente investigación, se analiza el efecto de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (BAP, IBA y GA<sub>3</sub>) sobre la eficiencia del cultivo en la fase de multiplicación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*), se evidenció que las combinaciones hormonales aplicadas influyeron significativamente en las variables como la altura, el número de brotes y número de hojas por tratamiento.

El crecimiento en altura, el tratamiento T10 (IBA 1.0 ppm + BAP 0.5 ppm + GA<sub>3</sub> 1.0 ppm) destacó por promover el mayor crecimiento en altura (2.52 cm), lo que presenta una respuesta positiva a la acción combinada de auxinas, citoquininas y giberelinas en la elongación de los brotes.

Mientras que para los brotes se concluye que el tratamiento T1 (IBA 0.5 ppm + BAP 0.5 ppm + GA<sub>3</sub> 1.0 ppm) alcanzando un promedio de (4.33) brotes, se evidencia una adecuada inducción de brotes.

En relación al desarrollo foliar, el tratamiento T16 (IBA 1.0 ppm + BAP 1.0 ppm + GA<sub>3</sub> 1.0 ppm) presentó el mayor número de hojas con un promedio de 45.67 por explante, al presentar estos resultados se evidencia un balance hormonal en las concentraciones que favorece la formación de tejido foliar y mejorar la propagación in vitro de esta especie nativa.

- El análisis de la formación de callo bajo distintas combinaciones hormonales de (BAP, IBA y GA<sub>3</sub>) en la fase de multiplicación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) se identificó medias de (3.0) los tratamientos T10, T13, T18, T19, T20, T4, T5 y T9 que tenían concentraciones de IBA (1.0 ppm), generando una alta proliferación de callo. Estos resultados llegan a concluir que la inducción a callo en explanes de mortiño durante la fase de multiplicación ayudan para optimizar su eficiencia y estandarización en protocolos de propagación masiva del mortiño.

## 12.2 Recomendaciones

- Para favorecer el crecimiento en altura en la propagación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación se recomienda utilizar las concentraciones hormonales de (IBA 1.0 ppm + BAP 0.5 ppm + GA<sub>3</sub> 1.0 ppm), se sugiere evaluar concentraciones superiores de ácido giberélico (GA<sub>3</sub>) para potenciar el crecimiento.
- Para incrementar la proliferación de brotes por explante en la propagación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación se recomienda utilizar las concentraciones hormonales de (IBA 0.5 ppm + BAP 0.5 ppm + GA<sub>3</sub> 1.0 ppm), se sugiere evaluar concentraciones inferiores de 6-bencilaminopurina (BAP) para observa la reacción morfológica.
- Para favorecer el desarrollo foliar en la propagación in vitro de mortiño (*Vaccinium floribundum*) en la fase de multiplicación se recomienda utilizar las concentraciones hormonales de (IBA 1.0 ppm + BAP 0.5 ppm + GA<sub>3</sub> 1.0 ppm), se sugiere evaluar concentraciones menores de ácido indolbutírico (IBA) para observar cómo reacciona el follaje.
- Para conseguir formación de callo se recomienda usar una concentración de IBA (1.0 ppm) debido que induce callogénesis. Además de controlar las condiciones ambientales del cultivo para favorecer una callogénesis más uniforme y de calidad. Se sugiere evaluar concentraciones suplementadas de ácido indolbutírico (IBA) y 6-bencilaminopurina (BAP) para mejorar la estructura del callo.

### 13. BIBLIOGRAFIA

- Abou, D., Salama, A., El Zanaty, A. F. M., & Abdalla, N. (2021). In vitro propagation and acclimatization of banana plants: Antioxidant enzymes, chemical assessments and genetic stability of regenerates as a response to copper sulphate. *Plants*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/plants10091853>
- Alarcón, K. ., Armijos, D., García, M., Iturralde, G., Granda, M., & Giampieri, F. J. T. (2018). Mora silvestre andina (*Rubus glaucus* Benth) y arándano andino (*Vaccinium floribundum* Kunth) de las Tierras Altas del Ecuador: Composición nutricional y efecto protector sobre fibroblastos dérmicos humanos frente al daño citotóxico oxidativo. *Journal of Berry Research*, 8(3), 223–236. <https://doi.org/10.3233/JBR-180316>
- Alcantara, J. A. J. A. J. S. R. (2019). *Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal*. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-24702019000200109](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200109)
- Alcaraz, L. (2021). Cómo el cultivo de tejidos vegetales ayuda a la conservación y desarrollo de plantas de interés económico. *Recursos Naturales y Sociedad*, 7(3). <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2021.07.07.03.0011>
- Alcivar, J., & Moreira, R. (2022). *Recuperando Una Especie Ancestral “Mortiño” Mediada Por Micorrizas Nativas*.
- Alvarado, B. ; E. P. ; O. T. ; P. M. (2024). *Análisis de la fragmentación de los paisajes altoandinos y su influencia en la percepción hacia los servicios ecosistémicos en la provincia de Tungurahua*.
- Alvarez, J. P. C. M. (2021). *DESARROLLO DE UN PROTOCOLO PARA EL CULTIVO IN VITRO DE Rosa chinensis*.
- Ángel, R., & Elizabeth, L. (2019). Evaluación de medios de inducción in vitro a callo vegetal en explantes foliares de *Annona diversifolia* Safford (Magnoliales: Annonaceae). In *C.A.* • (Vol. 2, Issue 1).

- Araque, E., Bohórquez, M.; Pacheco, J. C. L. U. J. an U. R. S. L. C. G. J. C. P. M. M., & Castañeda, S. P. J. (2018). Propagación y tuberización in vitro de dos variedades de papa Propagation and in vitro tuberization of two varieties of potato. In *Ciencia en Desarrollo* (Vol. 9, Issue 1).
- Argudo, D. (2017). *Desarrollo y estandarización de marcadores microsatélites específicos para mortiño (Vaccinium floribundum Kunth)*.
- Barcelos, C. (2018). *BIOPROSPECÇÃO DE MICRORGANISMOS DE FRUTAS BRASILEIRAS PARA A PRODUÇÃO DE EXOPOLISSACARÍDEOS*.
- Bozsó, Z., & Barna, B. (2021). Efecto diverso de dos citoquininas, kinetina y benciladenina, sobre el desarrollo de las plantas, la tolerancia al estrés biótico y la expresión genética. *Life*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/life11121404>
- Cabrera, R. G. D. (2023). *Efecto de diferentes concentraciones de 6-Bencilaminopurina (BAP) y 2-isoPentil adenina (2iP) en la multiplicación in vitro de Vaccinium corymbosum L (arándano) cvs. Biloxi y Emerald*.
- Cai, Y., Takeda, F., Foote, B., & Devetter, L. W. (2021). Efectos del intervalo entre la cosecha a máquina en la calidad de la fruta del arándano Highbush del Norte para el mercado fresco. *Horticulturae*, 7(8). <https://doi.org/10.3390/horticulturae7080245>
- Caranqui-Aldaz, J. M., Muelas-Domingo, R., Hernández, F., & Martínez, R. (2022). Chemical Composition and Polyphenol Compounds of *Vaccinium floribundum* Kunth (Ericaceae) from the Volcano Chimborazo Paramo (Ecuador). *Horticulturae*, 8(10). <https://doi.org/10.3390/horticulturae8100956>
- Cardenas, C. R. J. E. L. P. R. (2023). *PROPAGACIÓN DE FLORA NATIVA*.
- Castillo, A. (2019). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo*.
- Catota, E. (2021). "Evaluación de dos métodos de propagación de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), para la obtención de plántulas."

- Catota Timbila, E. V. (2021). *Evaluación de dos métodos de propagación de mortiño (Vaccinium floribundum Kunth), para la obtención de plántulas*. <https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/34516>
- Chamorro. (2019a). “*Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortiño (Vaccinium floribundum) con fines de conservación de la especie*”. <chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcgkclefindmkaj/https://repositorio.puce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/8d20c5d7-ecc9-4146-b38a-6589efc9226c/content>
- Chamorro, C. G. (2019b). “*Determinación de métodos de propagación sexual y asexual del mortiño (Vaccinium floribundum) con fines de conservación de la especie*”.
- Chuncho, G. (2019). *Páramos del Ecuador, importancia y afectaciones: Una revisión*. <https://www.researchgate.net/publication/344180955>
- Cobo, M., & Gutiérrez, B. (2018). Regeneration of mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) plants through axillary bud culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 54(1), 112–116. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9884-3>
- Contreras, J. (2022). *EFFECTO DE INYECCIÓN DE CITOQUININA EN EL PSEUDOTALLO DE BANANO EN CRECIMIENTO Y ENGROSE*.
- Duarte, S. (2023). *MANUAL DE LABORATORIO CULTIVOS IN VITRO DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN AGROTECNOLÓGICA LA BARRANCA (CIAB)*. [https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento\\_compl](https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/46738/Documento_compl)
- Elmongy, M., Cao, Y., & Zhou, H. (2018). Desarrollo radicular mejorado mediante el uso de ácido indol-3-butírico y ácido naftalenacético y cambios bioquímicos asociados en microbrotes de azalea in vitro. *Journal of Plant Growth Regulation*, 37(3), 813–825. <https://doi.org/10.1007/s00344-017-9776-5>
- Fichet Lagos, T. (2017). *Biosíntesis de las Fitohormonas y Modo de Acción de los Reguladores de Crecimiento*.
- Figiel, M., Krupa, M., & Ochmian, I. (2022). Protocolo de micropropagación eficiente de tres cultivares de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(4). <https://doi.org/10.15835/nbha50412856>

- Galan, V., Rangel, A., Lopez, J., Hernandez, J. B. P., Sandoval, J., & Rocha, H. S. (2018). Propagación del banano: técnicas tradicionales, nuevas tecnologías e innovaciones. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(4). <https://doi.org/10.1590/0100-29452018574>
- Galarza, M. A. (2019). La gestión turística sostenible del patrimonio natural del Ecuador como herramienta para su conservación y desarrollo. *Polo Del Conocimiento*, 4(6), 240. <https://doi.org/10.23857/pc.v4i6.1009>
- Gallardo Carlos. (2015). *Mortiño La Perla de Los Andes*.
- Hernández-Amasifuen, A. D., Argüelles-Curaca, A., Cortez-Lázaro, A. A., & Díaz-Pillasca, H. B. (2021). INDUCCIÓN IN VITRO DE CALLOS A PARTIR DE EXPLANTES FOLIARES EN ROCOTO (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.). *Granja*, 34(2), 127–135. <https://doi.org/10.17163/LGR.N34.2021.09>
- Herrera, R. ; R. F. M. A. B. , M. (2024). *EL MORTIÑO y su Importancia Gastronomica, Medicinal y Patrimonial en Ecuador*.
- Jiménez, V., & Abdelnorl, A. (2018). Protocolo de micropropagación de arándano nativo de Costa Rica (*Vaccinium consanguinium*). *Revista Tecnología En Marcha*, 31(1), 146. <https://doi.org/10.18845/tm.v31i1.3504>
- Llvisaca, S. A., León-Tamariz, F., Manzano-Santana, P., Ruales, J., Naranjo-Morán, J., Serrano-Mena, L., Chica-Martínez, E., & Cevallos-Cevallos, J. M. (2022). Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth): An Underutilized Superplant from the Andes. In *Horticulturae* (Vol. 8, Issue 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050358>
- Llvisaca, S., León, F., Manzano, P., Ruales, J., Naranjo, J., Serrano, L., Chica, E., & Cevallos, J. . (2022). Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth: la superplanta de los Andes. In *Horticulturae* (Vol. 8, Issue 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050358>
- López, G. C. J. del S. R. A. V. Alberto. (2021). *Alcances y perspectivas del área de Biotecnología Vegetal del CIATEJ en el Sureste de México*. 7.
- Luisa, A., Ontaneda, C., Moreno Herrera, A., Miguel, R., Batista, G., & Herrera, M. (2020). *EFICIENCIA EFFICIENCY OF THE TEMPORARY IMMERSION SYSTEM VERSUS THE*

*CONVENTIONAL IN VITRO PROPAGATION METHOD* Cita sugerida (APA, séptima edición).

- Magnitskiy, S. (2023). Native plants from the genus *Vaccinium* in Colombia and their potential uses. A review. In *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* (Vol. 17, Issue 1). Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. <https://doi.org/10.17584/rcch.2023v17i1.15503>
- Maldonado, A. (2021). *Manejo de un laboratorio de cultivo de tejidos vegetales y aplicación de sistemas in vitro para la propagación de Vanilla planifolia*.
- Mangena, P. (2020). Bencil adenina en cultivo de tejido vegetal: análisis sucinto de su influencia global en el establecimiento de semillas y brotes de soja *Glycine max* (L.) Merrill. *Journal of Biotech Research*.
- Martínez, T. (2020). *Facultad de Ciencias Experimentales*.
- Mendoza, F. (2018). *FENOLOGÍA FLORAL DEL MORTIÑO (Vaccinium floribundum Kunth) ACORDE A LA ESCALA BBCH EN EL PÁRAMO ANDINO DEL ATACAZO, ECUADOR*.
- Mendoza, M. B. M. D. la T. S. C. E. (2023). *CAPÍTULO 5 GERMINACIÓN in vitro DE TRES ESPECIES DE ORQUÍDEAS ENDÉMICAS DE LA REGIÓN SUROCCIDENTAL DEL ESTADO DE MICHOACÁN, MÉXICO*.
- Molina, D. (2018). *"ESTUDIO DE FACTIBILIDAD PARA LA CREACIÓN DE UNA MICRO EMPRESA DEDICADA A LA PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE*.
- Moncayo, O. R. (2017). "Análisis de la diversidad genética del capulí (*Prunus Serotina*), en la región andina del Ecuador, utilizando marcadores moleculares AFLP".
- Montenegro, J. (2024). *EFFECTO DE LA CITOQUININA EN LA MULTIPLICACIÓN IN VITRO DE ARÁNDANO (Vaccinium corymbosum) VARIEDAD BILOXI A PARTIR DE SEGMENTOS NODALES*.
- Morales, M., Espinosa, C., & Garza, R. (2016). Cultivo de tejidos vegetales y su aplicación en productos naturales. In *Investigación en plantas de importancia médica*. <https://doi.org/10.3926/oms.315>

- Moreno-Bermúdez, L. J. (2020). *Protocolo para la micropropagación de Kalanchoe blossfeldiana Poelln. a partir de segmentos nodales*. <https://orcid.org/0000-0003-2300-2458>
- Muñoz de Malajovich María. (2012). *Biología 2da edición*. [https://www.academia.edu/95925600/Biolog%C3%ADa\\_2ed?email\\_work\\_card=view-paper](https://www.academia.edu/95925600/Biolog%C3%ADa_2ed?email_work_card=view-paper)
- Olmos, S. L. G. G. E. (2016). *PARTE IV Métodos de propagación y conservación de germoplasma*.
- Palma, J. A., Haydee; C. N. (2022). *Análisis del ácido giberélico desde la cartografía conceptual con enfoque bioético y sustentable*.
- Pérez, E. M. (2019). *Capítulo 1 Cultivo de Tejidos Vegetales*.
- Porta, H., & Jiménez-Nopala, G. (2019). *Papel de las hormonas vegetales en la regulación de la autofagia en plantas*. 22, 1–11. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.160>
- Recto, L. (2018). *MICROPROPAGACIÓN DE PLÁNTULAS DE MORTIÑO (Vaccinium floribundum Kunth) BAJO CONDICIONES IN VITRO*.
- Rodríguez, M. (2022). *MODELACIÓN, SIMULACIÓN Y PROPUESTA DE DISEÑO DE UN EQUIPO DE ÓSMOSIS INVERSA QUE PERMITA ESTUDIAR EL TRATAMIENTO DE AGUAS A NIVEL DE LABORATORIO*. [www.udea.edu.co](http://www.udea.edu.co)
- Rodríguez, M., Chacón, M., & Carrillo, R. (2014). Efecto de la concentración y de los componentes del medio de cultivo ms sobre la germinación in vitro de Ugni molinae. In *Bosque* (Vol. 35, Issue 1, pp. 119–122). Universidad Austral de Chile. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002014000100012>
- Rojas, E. (2019). *EFEECTO DE LA CITOCININA (6-Benzil Amino Purina) Y AUXINA (Ácido Indol -3-Butírico) EN LA PROPAGACIÓN IN VITRO DE TRES CLONES DE Alstroemeria spp.*
- Ružić, D., Vujović, T., Libiakova, G., Cerović, R., & Gajdošova, A. (2012). Micropropagation in vitro of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Berry Research*, 2(2), 97–103. <https://doi.org/10.3233/JBR-2012-030>
- Sanchez, R. A. J. A. J. A. , Jonathan. (2019). *Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal*.

- Santamaría, P. C., Coronel, D., Verdugo, K., Paredes, F., Yugsi, E., & Huachi, L. (2018). *ESTUDIO ETNOBOTÁNICO DEL MORTIÑO (Vaccinium floribundum) COMO ALIMENTO ANCESTRAL Y POTENCIAL ALIMENTO FUNCIONAL*.
- Santander. (2020). *Uso sostenible del patrimonio natural*. chrome-extension://efaidnbnmnnibpcajpcglcfindmkaj/https://sostenibilidadyprogreso.org/files/entradas/uso-sostenible-y-patrimonio-natural.pdf
- Segretín María. (2018). *Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales)*. [http://www.sp.edu.sg/schools/cls/bioline\\_08.htm](http://www.sp.edu.sg/schools/cls/bioline_08.htm)
- Sharry, S., Adema, M., & Abedini, W. (2015a). *Plantas de probeta Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro Libros de Cátedra*.
- Sharry, S., Adema, M., & Abedini, W. (2015b). *Plantas de probeta Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro Libros de Cátedra*.
- Sivaramakrishnan, R., & Incharoensakdi, A. (2020). Enriquecimiento de ácidos grasos omega-3 de *Chlorella* sp. inducido por hormonas vegetales. *Biotechnology for Biofuels*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1647-9>
- Suárez, I. (2020a). *Cultivo de tejidos vegetales*. <https://repositorio.unicordoba.edu.co/browse/title?bbm.page=1&startsWith=.%20Cultivo%20de%20tejidos%20vegetales>
- Suárez, I. (2020b). *TEJIDOS VEGETALES*.
- Tadeo, R. (2019). *Medio de cultivo Murashige & Skoog (1962)*. <https://www.scribd.com/doc/241351399/Formulacion-Murashige-and-Skoog>
- Tejada-Alvarado, J. J., Meléndez-Mori, J. B., Vilca-Valqui, N. C., Huaman-Huaman, E., & Oliva-Cruz, S. M. (2022). Viability of biocides and consistency of the culture medium on the in vitro establishment of *Guadua angustifolia*. *Bosque*, 43(2), 117–123. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002022000200117>
- Torres, M. L., Trujillo, D., & Arahana, V. (n.d.). *Cultivo in vitro del mortiño (Vaccinium floribundum Kunth)*. <http://www.usfq.edu.ec/avances/articulos/B9-2-2010>

- Torres P., M. de L., Trujillo P., D., & Arahana B., V. S. (2010). Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). *ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*, 2(2). <https://doi.org/10.18272/aci.v2i2.27>
- Turuspekov, Y., & Abugalieva, S. (2017). *PlantGen*. Plantgen. <https://www.researchgate.net/publication/322203002>
- UnADM. (2022). *Cultivo de tejidos vegetales I*.
- Unigarro, C. (2022). *Patrimonio cultural alimentario*. [www.flacsoandes.edu.ec](http://www.flacsoandes.edu.ec)
- Urcuango, P. W. (2014). *EVALUACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA LA MICROPROPAGACIÓN “IN VITRO” DE CAPULÍ (Prunus serotina ssp capulí Cav) A PARTIR DE SEGMENTOS NODALES*.
- Varela, F. (2018). *Etapas de micropropagación*. <https://tecnoagro.com.mx/2018/05/07/etapas-de-micropropagacion/>
- Vega-Polo, P., Cobo, M. M., Argudo, A., Gutierrez, B., & Rowntree, J. T. (2020). Caracterización de la diversidad genética del arándano andino (*Vaccinium floribundum* Kunth.) en la Sierra Ecuatoriana. *PLoS ONE*, 15(12 December). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243420>
- Zapata, B., Vanegas, D., Rendon, J., & Velásquez, J. (2020). Caso de estudio de la destilación etanol-agua en operación continua y discontinua y su simulación con ecuaciones cúbicas de estado y modelos de actividad. *TecnoLógicas*, 23(49), 223–249. <https://doi.org/10.22430/22565337.1638>

