



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales

Renovables

Carrera de Agronomía

Inducción de organogénesis *in vitro* de explantes multinodales de arándano
(*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi

Trabajo de Integración
Curricular, previo a la obtención
del Título de Ingeniero Agrónomo

AUTOR

Jefferson Augusto España Cuenca

DIRECTOR

Ing. Johnny Fernando Granja Travez Mg. Sc.

Loja-Ecuador

2025

Certificación

Loja, 06 de enero del 2025

Ing. Johnny Fernando Granja Travez Mg. Sc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

C E R T I F I C O:

Que he revisado y orientado todo proceso de la elaboración del Trabajo de Integración Curricular: **Inducción de organogénesis *in vitro* de explantes multinodales de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi**, previo a la obtención del título de **Ingeniero Agrónomo**, de la autoría del estudiante **Jefferson Augusto España Cuenca**, con **cédula de identidad** Nro. **1150268322**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.

Ing. Johnny Fernando Granja Travez Mg. Sc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Autoría

Yo, **Jefferson Augusto España Cuenca**, declaro ser autor del presente Trabajo de Integración Curricular y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mí del Trabajo de Integración Curricular, en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:



Cédula de Identidad: 1150268322

Fecha: 06 de enero del 2025

Correo electrónico: jefferson.espana@unl.edu.ec

Teléfono: 0968202415

Carta de autorización por parte de la autora para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica de texto completo, del Trabajo de Integración Curricular.

Yo, **Jefferson Augusto España Cuenca** declaro ser autor del Trabajo de Integración Curricular denominado: **Inducción de organogénesis *in vitro* de explantes multinodales de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi**, como requisito para optar el título de **Ingeniero Agrónomo**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Integración Curricular que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los seis días del mes de enero de dos mil veinticinco.

Firma:



Autor: Jefferson Augusto España Cuenca

Cédula: 1150268322

Dirección: La Dolorosa, Loja, Ecuador

Correo electrónico: jefferson.espana@unl.edu.ec

Teléfono: 0968202415

DATOS COPLEMENTARIOS:

Director del Trabajo de Integración Curricular: Ing. Johnny Fernando Granja Travez Mg. Sc.

Dedicatoria

El presente Trabajo de Integración Curricular se lo dedico a Dios, quien ha sido mi fuente inagotable de fuerza; a mi padre, que siempre estuvo a mi lado brindándome su apoyo y alentándome en culminar mi carrera. Finalmente, quiero dedicar este trabajo de investigación a mi mismo, como un símbolo de esfuerzo y dedicación que he puesto en cada paso de este camino. Es un recordatorio personal de que, con compromiso y determinación, no existe límites para lo que podemos lograr.

Jefferson Augusto España Cuenca

Agradecimientos

Agradezco a Dios quien ha sido mi fuente inagotable de fortaleza y guía. A mi padre, mis hermanos y a todas las personas forman parte de mi vida, gracias por su apoyo en mi etapa universitaria.

Por otra parte, quiero agradecer a la Universidad Nacional de Loja, por brindarme la oportunidad de aprender, crecer y formarme como profesional, adquiriendo los conocimientos y herramientas necesarias. Agradezco a todos los docentes de la carrera de agronomía por sus conocimientos compartidos, especialmente a mi director de tesis el Ing. Johnny Fernando Granja Trávez Mg. Sc., que con su apoyo, paciencia y enseñanzas me ha guiado en cada etapa del desarrollo de esta investigación. Agradezco a la Ing. Magaly Yaguana técnica del laboratorio de micropropagación vegetal, quien ha sido clave en el desarrollo y éxito de este trabajo.

Les expreso mi mas profundo agradecimiento por su apoyo constante a lo largo de mi etapa universitaria.

Jefferson Augusto España Cuenca

Índice de Contenido

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Índice de Contenido	vii
Índice de tablas	x
Índice de figuras	xi
Índice de anexos	xii
1. Título	1
2. Resumen	2
Abstract	3
3. Introducción	4
3.1. Objetivo general	6
3.2. Objetivos específicos	6
4. Marco teórico	7
4.1. Generalidades del arándano	7
4.2. Propagación del arándano	7
4.2.1. <i>Propagación por estaquillas</i>	7
4.2.2. <i>Propagación in vitro</i>	8
4.3. Micropropagación del arándano.....	8
4.3.1. <i>Preparación de la planta madre</i>	8
4.3.2. <i>Desinfección del material vegetal</i>	9
4.3.3. <i>Introducción del material in vitro</i>	9
4.3.4. <i>Multiplificación de los brotes</i>	9

4.3.5. Elección de un medio de enraizamiento de los explantes	9
4.3.6. Aclimatación de los explantes enraizados	10
4.3.7. Organogénesis.....	10
4.3. Medio de cultivo.....	10
4.3.1. Medio de cultivo Murashige & Skoog.....	10
4.3.2. Woody Plant Medium.....	11
4.4. Reguladores de Crecimiento	11
4.4.1. Citoquininas	11
4.4.2. Auxinas.....	11
4.5. Concentraciones de reguladores de crecimiento óptimas	11
5. Metodología.....	13
5.1. Localización del estudio.....	13
5.2. Metodología general.....	13
5.2.1. Diseño experimental.....	14
5.2.2. Descripción de los tratamientos.....	15
5.2.3. Distribución espacial de los tratamientos y repeticiones	15
5.3. Metodología para el primer objetivo “Determinar el efecto del medio de cultivo sobre la brotación y enraizamiento en explantes de arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.) en condiciones <i>in vitro</i> ”	16
5.3.1. Preparación del medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS).....	17
5.3.2. Preparación del medio de cultivo de Woody Plant Medium (WPM).....	17
5.3.3. Variables de evaluación.....	17
5.4. Metodología para el segundo objetivo “Analizar el tipo de concentración y hormonas que influyan positivamente en la brotación y enraizamiento de explantes de arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.) en condiciones <i>in vitro</i> ”	18
5.4.1. Variables de evaluación.....	18
6. Resultados	19
6.1. Resultados para el primer objetivo.....	19

6.1.1. Brotación de explantes bajo diferentes medios de cultivos.....	19
6.1.2. Formación de callos en los explantes bajo diferentes medios de cultivos.....	19
6.1.3. Porcentaje de enraizamiento.....	20
6.2 Resultados para el segundo objetivo	20
6.2.1. Longitud del brote	20
6.2.2. Número de nudos.....	21
6.2.3. Índice de multiplicación.....	22
6.2.4. Brotación de explantes	23
6.2.5. Formación de callos en los explantes	24
6.2.6. Longitud de raíz	25
7. Discusiones	27
8. Conclusiones	30
9. Recomendaciones	31
10. Bibliografía	32
11. Anexos	37

Índice de tablas

Tabla 1. Tratamientos, medios de cultivo y reguladores de crecimiento	15
Tabla 2. Detalles del diseño experimental.....	16

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación de la zona de estudio.	13
Figura 2. Esquema del diseño completamente al azar (DCA)	16
Figura 3. Respuesta de la brotación en dos medios de cultivo. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento.	19
Figura 4. Respuesta de la callosidad en dos medios de cultivo. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento. Mientras que las letras sobre las columnas representan las diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba estadística LSD Fisher.....	20
Figura 5. Longitud del brote en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras en la figura representan el error estándar de la media de cada tratamiento.	21
Figura 6. Número de nudos en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras en la figura representan el error estándar de la media de cada tratamiento.	22
Figura 7. Índice de multiplicación en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento.	23
Figura 8. Respuesta de brotación en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento.	24
Figura 9. Porcentaje de callos en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento.	25
Figura 10. Efecto de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento en la inducción de longitudes de raíz.....	26

Índice de anexos

Anexo 1. Elección del material vegetal: selección del material más apto para explantes.	37
Anexo 2. Preparación de los medios de cultivo (MS y WPM).	37
Anexo 3. Preparación del medio de cultivo y sus reguladores de crecimiento: A) Preparación de medio MS y combinación de reguladores de crecimiento, B) Preparación de medio WPM y combinación de reguladores de crecimiento, C) control de pH, D) llenado de frascos con sus respectivos tratamientos.	38
Anexo 4. Implantación de los explantes multinodales de arándano para todos los tratamientos en los frascos dentro de la cámara laminar.	39
Anexo 5. Establecimiento del ensayo.	40
Anexo 6. Tratamientos a los 28 días de la implantación.	40
Anexo 7. Tratamientos después de la implantación: A) A los 28 días B) a los 42 días	41
Anexo 8. Análisis de varianza para la brotación de explantes bajo diferentes medios de cultivos. 41	41
Anexo 9. Análisis de varianza para la formación de callos en los explantes bajo diferentes medios de cultivos.	41
Anexo 10. Análisis de varianza para longitud de brotes bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.	42
Anexo 11. Análisis de varianza para número de nudos bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.	42
Anexo 12. Análisis de varianza para el índice de multiplicación, bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.	43
Anexo 13. Análisis de varianza para la brotación de explantes, bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.	43
Anexo 14. Análisis de varianza para la formación de callos, bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.	43
Anexo 15. Certificado de traducción español-inglés.	44

1. Título

Inducción de organogénesis *in vitro* de explantes multinodales de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi

2. Resumen

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) es una fruta rica en nutrientes, destacando por su contenido de vitaminas, minerales y antioxidantes los cuales son beneficiosos para la salud. Sin embargo, en el país existe un desabastecimiento de plántulas de arándano en el mercado para satisfacer las necesidades del incremento de las áreas productivas de esta especie en particular, es por ello que, con el fin de satisfacer la creciente demanda de plántulas de arándano, se recomienda la micropropagación como el enfoque más apropiado para disponer de altos volúmenes de material y así satisfacer la demanda de los productores y la siembra a gran escala. Por esta razón en el presente estudio se evaluó el efecto del medio de cultivo y de distintas concentraciones de citoquininas y auxinas sobre el desarrollo organogénico de explantes multinodales de arándano. El propósito fue encontrar una combinación y concentraciones adecuadas de reguladores de crecimiento para optimizar el enraizamiento y la brotación de explantes de arándano. Para ello se utilizó explantes jóvenes de la variedad *biloxi*, posteriormente fueron sembrados en el medio de cultivo MS y WPM con la adición de reguladores de crecimiento citoquininas (BAP, 2ip) (2,5 mg) y auxinas (ANA, AIB) (1 mg), durante un periodo de 60 días después de la siembra se evaluó variables como longitud del brote, número de nudos, índice de multiplicación, brotación de explantes, brotación de callos, longitud de la raíz. Se concluye que ninguno de los tratamientos evaluados logró inducir el enraizamiento de los explantes. Sin embargo, ambos los medios de cultivo demostraron ser efectivos para la inducción de brotes. Esto resalta la importancia de optimizar las concentraciones de reguladores de crecimiento como un paso clave para mejorar los protocolos de micropropagación.

Palabras clave: *Reguladores de crecimiento, medio de cultivo, organogénesis, in vitro, multinodales*

Abstract

The blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) is a nutrient-rich fruit, renowned for its high content of vitamins, minerals, and antioxidants that offer significant health benefits. However, there is currently a shortage of blueberry seedlings in the country to meet the growing demand for expanding production areas of this species. To address this need, micropropagation is recommended as the most appropriate approach to produce high volumes of planting material and fulfil the requirements of producers for large-scale cultivation. In this study, the effect of culture media and different concentrations of cytokinins and auxins on the organogenic development of multinodal blueberry explants was evaluated. The objective was to identify suitable combinations and concentrations of growth regulators to optimize rooting and shoot formation in blueberry explants. Young explants of the *Biloxi* variety were used and cultured in MS and WPM media, with the addition of cytokinins (BAP, 2ip) (2.5 mg) and auxins (NAA, IBA) (1 mg). After 60 days of cultivation, variables such as shoot length, number of nodes, multiplication index, shoot induction, callus formation, and root length were assessed. It was concluded that none of the evaluated treatments successfully induced rooting in the explants. However, both culture media proved effective in inducing shoot formation. This underscores the importance of optimizing growth regulator concentrations as a key step to improving micropropagation protocols.

Keywords: Growth regulators, culture media, organogenesis, *in vitro*, multinodal explants.

3. Introducción

El arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) representa una de las frutas más nutritivas del mundo, son una fuente de minerales, vitaminas y antioxidantes, proviene de América del Norte, en estos últimos años ha logrado popularizarse debido a sus beneficios para la salud (Zahra et al., 2023). El comienzo del mercado de exportación de arándano en el país se marcó con una exportación a España en el año 2021, para el año 2022 las exportaciones alcanzaron los 1.242 millones siendo Países bajos como el principal destino, para el año 2023 más de 4 países se unieron a los destinos de exportación de arándanos además de España, Estados Unidos y Singapur, gracias a estos destinos de exportación el país se ha consolidado como un representante de producción de arándano de alta calidad (Ramon-Alarcon et al., 2024).

En Ecuador según los datos del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), el cultivo de arándano tuvo su inicio en el año 2015, en varias provincias como, Pichincha, Loja, Azuay, Cotopaxi, Imbabura, Tungurahua alcanzando un área aproximadamente de 50 hectáreas distribuidas en estas provincias. La producción en el año 2021 alcanzó las 750 toneladas, mientras que en el 2022 tuvo un avance significativo cuando la empresa Hortifrut realizó la primera exportación de arándanos, enviando 5 toneladas a Países Bajos desde el cantón Zapotillo de la provincia de Loja (MAG, 2022).

Sin embargo, hay un desabastecimiento de plántulas de arándano en el mercado por su creciente demanda, para tratar de satisfacer la demanda de plántulas de arándano, se ve como alternativa la micropropagación como el rumbo más propicio para tener volúmenes grandes de material de siembra elite que ayude a satisfacer la demanda que presenta el arándano. En la actualidad existe información bien documentada sobre la micropropagación de este género especialmente de la especie *V. corymbosum*, no obstante, la habilidad que tienen algunas especies de regeneración *in vitro* va a depender del genotipo por lo que es necesario hacer o potenciar varias modificaciones al protocolo (Jiménez-Bonilla y Abdelnour-Esquivel, 2018).

Para potenciar o mejorar el protocolo para el incremento de plántulas o clones con alto índices de productividad, se ha visto la necesidad de usar reguladores de crecimiento pues estos son compuestos que son sintetizados químicamente o que se obtienen de otros organismos y son más potentes que los análogos naturales, pero debe tenerse en cuenta la concentración y combinación pues los reguladores de crecimiento no actúan de igual forma en todas las plantas, estos mismos se han convertido capaces de controlar el desarrollo y actividad bioquímica de las

plantas, por lo que su aplicación se aumentado en los últimos años en los cultivos *in vitro* (Alcantara et al., 2019).

Es así como, los reguladores de crecimiento como las auxinas, son capaces de controlar diversos procesos vegetales, proceden principalmente a nivel celular influyendo la elongación, diferenciación y división celular, además es considerada un tipo de morfógeno que es capaz de inducir diferenciación en las hojas, raíces y tallos, de la misma forma dar iniciación a ellos. Del mismo modo, reguladores de crecimiento como las citoquininas poseen la capacidad e inciden y estimulan una división y proliferación celular, permitiendo estimular el desarrollo fotomorfogénico vegetal y potencia la regeneración y aumento del desarrollo de brotes a nivel vegetal. Una concentración adecuada de reguladores de crecimiento como las auxinas y citoquininas para el enraizamiento y brotación respectivamente, acelera y mejora el desarrollo vegetal en cultivos *in vitro* (Alcantara et al., 2019).

La falta de investigación sobre concentraciones de aplicaciones de reguladores de crecimiento en protocolos de micropropagación de arándano como las auxinas y citoquininas, impiden la producción del material vegetal de alta calidad para compensar la demanda que requiere el mercado. En consecuencia, se origina la necesidad de investigar concentraciones apropiadas de reguladores de crecimiento que ayuden al desarrollo propicio de brotes y raíces en plantas *in vitro* de arándano, para que sean accesibles para los productores del país permitiendo reducir costos sin poner en riesgo su calidad. Razón por lo cual la presente investigación pretende obtener una combinación óptima de ambos reguladores de crecimiento en un entorno de cultivo estable que podría mejorar significativamente su desarrollo vegetal, permitiendo potenciar protocolos de micropropagación existentes para el desarrollo a gran escala de plántulas de arándano y así fomentar la diversificación de las actividades agrícolas a nivel nacional.

3.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto del medio de cultivo y de distintas dosis de citoquininas y auxinas sobre el desarrollo organogénico de explantes multinodales de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.).

3.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto del medio de cultivo sobre la brotación y enraizamiento en explantes de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en condiciones *in vitro*.
- Analizar el tipo de concentración y hormonas que influyan positivamente en la brotación y enraizamiento de explantes de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en condiciones *in vitro*.

4. Marco teórico

4.1. Generalidades del arándano

Las plantas pertenecientes a la familia Ericaceae del género *Vaccinium* son arbustos de tipo perenne las cuales cuentan con 450 especies aproximadamente, distribuidas en América del norte, América central, Europa, África central, Japón y Asia (Hurkova et al., 2019). En los Andes de América del Sur se encuentran distribuidas especies silvestres, mientras que en el hemisferio norte se encuentran algunas especies cultivadas (González et al., 2017).

Las condiciones edafoclimáticas en la que crece y se desarrolla el arándano es entre 1500 – 4700 m.s.n.m, con temperaturas que oscilan entre 3 y 7 °C, con suelos ácidos con un pH entre 4 y 5, arenosos, franco arenosos o arcillosos, además de la presencia de microorganismos benéficos (Ormazábal et al., 2020).

En los últimos 10 años ha incrementado la demanda de estos frutos en el mercado, debido a que las bayas son consideradas como productos naturales las cuales tienen muchos beneficios para la salud (Romero, 2016).

Debido a las propiedades antioxidantes y su resistencia a condiciones climáticas desfavorables el arándano es considerado como la cuarta fruta con gran importancia económica a nivel mundial después del kiwi y el mango (Vargas et al., 2018). Además, Estados Unidos, como el mayor productor y consumidor de arándanos en el mundo, contribuye significativamente a esta posición con una producción anual de más de 300 mil toneladas (USDA, 2019).

4.2. Propagación del arándano

La propagación del arándano puede realizarse mediante diversas técnicas incluyendo siembra de semillas, estaquillas y mediante micropropagación *in vitro* (Correia et al., 2024).

4.2.1. Propagación por estaquillas

Los arándanos se pueden propagar de forma tradicional mediante el uso de brotes semileñosos recolectados de la planta donante, que posteriormente se enraízan en condiciones controladas (Fan et al., 2017).

La principal ventaja de este método de propagación es la posibilidad de obtener plántulas con características homogéneas a la planta madre lo que garantiza la consistencia de los rasgos deseables. Sin embargo, para llevar a cabo este método se requiere mucha mano de obra, además de ser lento, debido a la baja capacidad de enraizamiento y el limitado número de

plántulas es por ello que este método podría no ser el más eficiente para incrementar la cantidad de materiales de partida o propágulos para la introducción comercial de nuevas variedades (Fan et al., 2017). Otros inconvenientes incluyen la dependencia en gran medida a las condiciones climáticas y las estaciones, lo cual puede obstaculizar la propagación, estas desventajas hacen que este método convencional sea insuficiente para satisfacer la creciente demanda de plantas de arándano (Mazurek et al., 2024).

4.2.2. Propagación *in vitro*

La técnica de propagación *in vitro* es bastante efectiva para la producción masiva de material vegetal de alta calidad para el cultivo a gran escala (Goyali et al., 2015).

Las plantas de arándanos propagadas mediante micropropagación no solo mejoran su producción en frutos, sino que también demuestra una gran capacidad de enraizamiento en esquejes, en comparación con los métodos de propagación tradicional, además este método permite propagar las plantas en un entorno controlado minimizando el riesgo de transmisión de patógenos, facilitando así la producción de material libre de enfermedades o plagas. Sin embargo, esto también depende de múltiples factores como genotipo, tipo de concentración de reguladores de crecimiento, concentración de medios de cultivos, condiciones de incubación como temperatura, luz, entre otros (Yang et al., 2017).

4.3. Micropropagación del arándano

La micropropagación del arándano implica varias etapas críticas, desde la preparación de la planta madre hasta la aclimatación de las explantes enraizadas. Cada etapa es esencial para el éxito del cultivo y la propagación *in vitro* de plantas de arándanos de alta calidad.

4.3.1. Preparación de la planta madre

Antes de establecer la preparación de la planta madre dentro del laboratorio se debe tener en cuentas las condiciones de asepsia, además de esto se debe seleccionar una planta con las mejores características y que los explantes extraídos estén en condiciones adecuadas para propagarlos (Castillo, 2004).

Por su parte Gupta et al., (2022), indican que la selección de las plantas madre sanas y libres de enfermedades son cruciales para tener éxito en la micropropagación, optimizando así la vitalidad del material vegetal y la eficiencia de los programas de propagación a gran escala.

4.3.2. Desinfección del material vegetal

Los explantes se los pueden tomar de hojas, tallos, raíces entre otros, además siempre se tiene que eliminar los contaminantes externos que pueden atacar a la planta con una desinfección adecuada según sea el caso (Castillo, 2004).

Al respecto Wang et al., (2023) mencionan que los métodos de esterilización son cruciales en el proceso de micropropagación debido a que ayudan a prevenir la contaminación por hongos o patógenos, ya que un cultivo contaminado puede provocar un crecimiento deficiente, disminuir la tasa de supervivencia, entre otros. Es por ello que esto es un paso clave para garantizar el crecimiento y desarrollo exitoso del material vegetal.

4.3.3. Introducción del material *in vitro*

En este paso el material ya desinfectado se lo coloca en un medio de cultivo estéril, en un periodo que puede ir de una semana a quince días según como vaya formando los nuevos tejidos vegetales así iniciando el ciclo del cultivo *in vitro* (Castillo, 2004).

4.3.4. Multiplicación de los brotes

En la fase de la multiplicación se seleccionan a los explantes que sobrevivieron a las FASES 1 y 2, estos brotes nuevos se los debe subcultivar en otro medio mediante resiembras en tubos o frascos de vidrio adecuados para su desarrollo, este proceso se lo hace dentro de la cámara de flujo laminar teniendo en cuenta las condiciones de asepsia. Mediante esta forma garantizamos el aumento del material vegetal, cabe recalcar que el número de plantas o explantes que se obtendrá siempre va a depender de la especie plantada (Castillo, 2004).

4.3.5. Elección de un medio de enraizamiento de los explantes

Los explantes o brotes que se lograron obtener durante la fase de multiplicación se los puede pasar a un medio solo que contengan reguladores de crecimiento como algún tipo de auxina, además que el proceso de multiplicación y enraizamiento pueden ocurrir simultáneamente (Castillo, 2004).

Al respecto Filgiel-Kroczyńska et al., (2022) señalan que existen algunos medios de cultivo como Modified Murashige and Skoog (MW), Anderson's Rhododendron (AN) y Woody Plant Medium (WPM), los cuales pueden producir resultados variables según el genotipo y el adición de reguladores de crecimiento, es por ello que la selección del medio de cultivo es vital en la micropropagación ya que esto puede optimizar el crecimiento y desarrollo de los explantes, lo cual es fundamental para el éxito del proceso y la uniformidad del material propagado.

4.3.6. Aclimatación de los explantes enraizados

De igual manera Filgiel-Kroczyńska et al., (2022) mencionan que una vez que el material vegetal este enraizado, estos deben aclimatarse para garantizar su supervivencia cuando se transfieran al suelo, este proceso implica adaptar gradualmente a las plántulas a condiciones exteriores como la luz, temperatura, humedad, entre otros.

4.3.7. Organogénesis

Dentro de la biotecnología vegetal y en la propagación *in vitro* la organogénesis es un proceso clave dentro de la regeneración de plantas lo que es de gran utilidad en la conservación de especies, la mejora genética y la producción de plantas libres de enfermedades, en la organogénesis los órganos de la planta como brotes, raíces e incluso flores pueden formarse a partir de explantes cultivados (Neves et al., 2021).

Además, el adecuado equilibrio entre auxinas y citoquininas es esencial para promover la organogénesis, induciendo la formación de callo y posteriormente el desarrollo de brotes, este proceso es crucial en la regeneración de plantas completas a partir de explantes cultivados *in vitro*, haciendo posible la producción eficiente y controlada de plantas en un ambiente de laboratorio (Cheng et al., 2013).

La organogénesis puede ocurrir a través de dos vías, la organogénesis directa implica la formación de brotes o raíces directamente a partir de explantes sin una fase intermedia de callos, este método suele ser más eficaz ya que se evita la fase de callo, lo cual permite una regeneración más rápida de las plantas (Fan et al., 2024), mientras que la organogénesis indirecta requiere la formación de un callo que posteriormente son inducidos a diferenciarse en brotes o raíces, este método suele ser más completo y lleva más tiempo, debido a que se requiere de un manejo adecuado en las etapas de inducción y diferenciación de los callos (García-Hernández et al, 2022).

4.3. Medio de cultivo

Los medios de cultivo son esenciales para la propagación de plantas *in vitro*, debido a que estos proporcionan las condiciones y nutrientes necesarios, entre los medios que más se utilizan para el cultivo de tejidos vegetales, son el medio Murashige & Skoog y el medio de plantas leñosas Woody Plant Medium (Phillips y Garda, 2019).

4.3.1. Medio de cultivo Murashige & Skoog

El Medio Murashige & Skoog (MS), o MS0, fue inventado por los científicos Toshio Murashige y Folke K. Skoog en 1962 durante sus investigaciones de nuevos reguladores del

desarrollo vegetal y se ha convertido en el medio más comúnmente usado en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales. El número después de las letras MS, sirve para indicar la concentración de sucrosa en el medio, por ejemplo, MS0 no contiene sucrosa, mientras que el MS20 contiene 20 g L⁻¹ de sucrosa. Esta formulación del medio Murashige & Skoog (MS) no contiene fuente de carbono (sucrosa), hormonas vegetales (auxinas y citoquininas) o vitaminas (Phillips y Garda, 2019).

4.3.2. Woody Plant Medium

WPM (Woody Plant Medium) es ampliamente utilizado para la propagación de plantas siendo formulado por Lloyd y McCown 1981, conteniendo sales vitaminas, aminoácidos y nutrientes esenciales para el cultivo *in vitro* (Hernández et al., 2005).

4.4. Reguladores de Crecimiento

Los reguladores de crecimiento ayudan a desarrollar diferentes órganos de las plantas entre algunos se puede mencionar: ácido dicloro fenoxiacético (2,4- D), ácido naftalenacético (ANA), ácido indolacético (AIA), ácido indolbutírico (AIB), las citoquininas: kinetina (KIN), benzilamino purina (BAP), zeatina (ZEA); y las giberelinas como el ácido giberélico (AG3) (Lopez y Villanueva, 2021).

4.4.1. Citoquininas

Están involucrados en la división celular proliferación de brotes y en el crecimiento de las plantas, su estructura está formado por adeninas y purinas dentro de estas se encuentran bencilaminopurina, kinetina y zeatina (Venkateshwarlu, 2022).

4.4.2. Auxinas

Las auxinas son una clase de reguladores de crecimiento, pues estas regulan algunos procesos fisiológicos cruciales para el desarrollo y crecimiento de las plantas. La aplicación de estas es esencial para inducir a la organogénesis las auxinas fueron las primeras fitohormonas identificadas y es precisamente el ácido indol-acético (AIA), la principal auxina endógena en la mayoría de las plantas (Bhatla y Lal, 2022).

4.5. Concentraciones de reguladores de crecimiento óptimas

Para analizar o determinar las concentraciones propicias de reguladores de crecimiento, es esencial considerar la regeneración y enraizamiento de los brotes. Los medios de cultivo (MS) y (WPM) son eficientes para la micropropagación de arándano, mientras que los reguladores de crecimiento como en concentraciones con citoquininas de 0,1 mg L⁻¹ y auxinas con concentraciones de 0,4 mg L⁻¹ mejoran la reproducción de brotes, para el enraizamiento

medios de cultivo WPM con auxinas (IBA e IAA) se logra tasas de enraizamiento del 85 %. Pero siempre hay que tener presente que los protocolos dan una entrada sólida, sin embargo, el cambio de las condiciones ambientales que se pueden dar dentro de los laboratorios y las respuestas a diferentes variedades de arándano siempre van a requerir arreglos adicionales en las concentraciones utilizadas en la micropropagación (Filgiel-Kroczyńska et al., 2022).

5. Metodología

5.1. Localización del estudio

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Micropropagación Vegetal de la Universidad Nacional de Loja, situado en el bloque 15 del campus universitario (Figura 1). Este laboratorio se ubica a 04°00'00'' de latitud sur y 79°12'00'' de longitud oeste, en la región sur del Ecuador. Dispone de condiciones semi-controladas para garantizar un ambiente propicio para el desarrollo de la investigación.

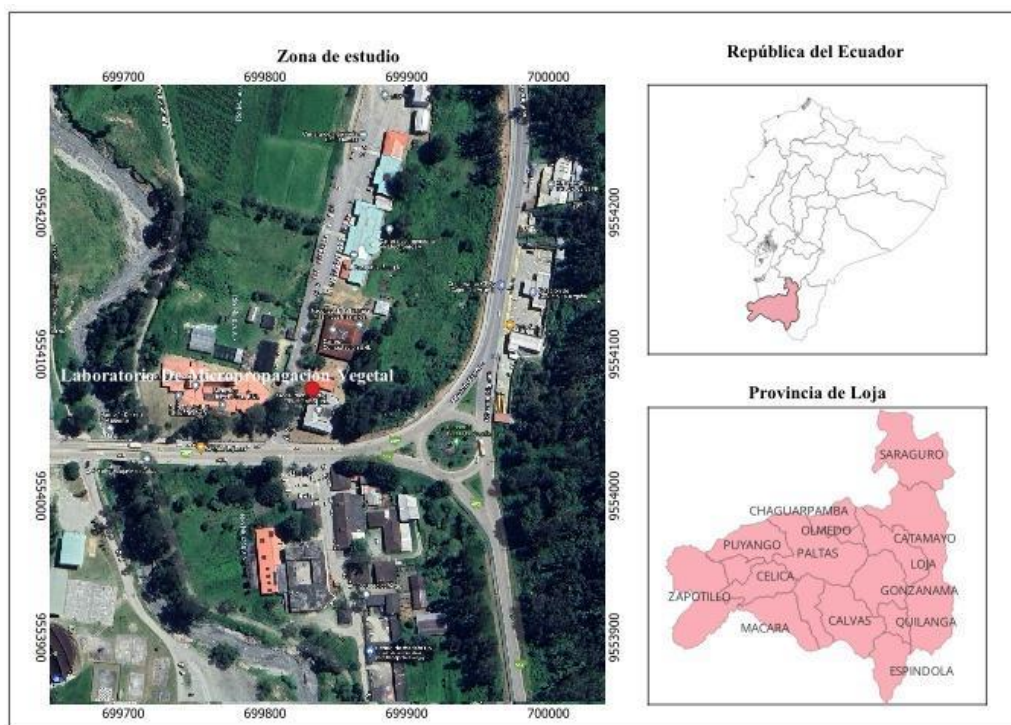


Figura 1. Ubicación de la zona de estudio.

5.2. Metodología general

La presente investigación tuvo como finalidad encontrar el mejor medio de cultivo con una adecuada interacción de reguladores de crecimiento para el enraizamiento y brotación de arándano en condiciones *in vitro* potenciando así un protocolo de micropropagación existente, en el laboratorio de micropropagación vegetal en la Universidad Nacional de Loja. En la cual se evaluó dos diferentes medios de cultivo con una combinación de reguladores de crecimiento, las cuales fueron las auxinas y citoquininas en diferentes concentraciones, para determinar cuáles fueron las más significativas respectivamente.

Esta investigación fue tipo experimental dado que se llevó a cabo la manipulación de variables. También, posee un enfoque cuantitativo porque se recogió y se analizó datos de

carácter numérico sobre las variables estudiadas. De acuerdo a las características de este estudio, el alcance de la investigación fue descriptiva porque se midieron variables en los diferentes medios de cultivo con reguladores de crecimiento establecidos en el ensayo.

5.2.1. Diseño experimental

Se utilizó un diseño complementa al azar (DCA), con un arreglo bifactorial, con 10 tratamientos y 5 repeticiones (Tabla 1, Figura 2). Donde los factores corresponden al medio de cultivo y los reguladores de crecimiento, y los niveles a los medios de cultivos y diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento (Tabla 1). Cada tratamiento tuvo cinco repeticiones, constituidas por una unidad experimental con dos frascos que contenían un explante con un número total de 10 frascos por tratamiento y 50 unidades experimentales y un total de 100 frascos para todo el ensayo (Tabla 2).

El modelo matemático que se utilizará en este estudio es:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha \times \beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

En donde:

Y_{ij} = Variable de respuesta de las k repeticiones en los i niveles del factor del medio y j el nivel del factor del regulador de crecimiento.

μ = Media general de las observaciones.

α_i = efecto de los i –niveles del factor de medio de cultivo.

β_j = efecto de los j – niveles del factor del regulador de crecimiento.

$(\alpha \times \beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción entre el nivel i los diferentes medios de cultivo con el nivel j la concentración de reguladores de crecimiento.

ε_{ijk} = Error asociado a la ijk observación, que se supone normal independientemente

distribuida con esperanza 0 y varianza σ .

5.2.2. Descripción de los tratamientos

Se utilizó el medio de cultivo MS y WPM, en combinación con diferentes concentraciones de auxinas (ANA, AIB) y citoquinas (BAP, 2ip) (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos, medios de cultivo y reguladores de crecimiento

Tratamientos	Medio de cultivo	Combinación de reguladores de crecimiento
T1	Murashige y Skoog	BAP (2,5 mg. L ⁻¹) + ANA (1 mg. L ⁻¹)
T2	Murashige y Skoog	BAP (2,5mg. L ⁻¹) + AIB (1 mg. L ⁻¹)
T3	Murashige y Skoog	2ip (2,5 mg. L ⁻¹) + ANA (1 mg. L ⁻¹)
T4	Murashige y Skoog	2ip (2,5 mg. L ⁻¹) + AIB (1 mg. L ⁻¹)
T5	Murashige y Skoog	Testigo
T6	(WPM)	BAP (2,5 mg. L ⁻¹) + ANA (1 mg. L ⁻¹)
T7	(WPM)	BAP (2,5 mg. L ⁻¹) + AIB (1 mg. L ⁻¹)
T8	(WPM)	2ip (2,5 mg. L ⁻¹) + ANA (1 mg. L ⁻¹)
T9	(WPM)	2ip (2,5 mg. L ⁻¹) + AIB (1 mg. L ⁻¹)
T10	(WPM)	Testigo

5.2.3. Distribución espacial de los tratamientos y repeticiones

La Figura 2, muestra el diseño de campo en el que se puede observar las repeticiones y los tratamientos al que fue sometido el material vegetal (Figura 2; Tabla 2).

T1	T7	T6	T5	T9
T2	T8	T3	T1	T3
T3	T4	T5	T7	T4
T4	T1	T2	T9	T5
T5	T3	T4	T8	T1
T6	T2	T8	T10	T6
T7	T6	T9	T4	T8
T8	T10	T7	T6	T2
T9	T5	T1	T2	T7
T10	T9	T10	T3	T10

Figura 2. Esquema del diseño completamente al azar (DCA)

Tabla 2. Detalles del diseño experimental

Unidad experimental (conjunto de frascos)	2
Número de tratamientos	10
Número de repeticiones	5
Número de total de frascos por tratamiento	10
Número total de unidades experimentales del ensayo	50
Número total de frascos para el ensayo	100

5.3. Metodología para el primer objetivo “Determinar el efecto del medio de cultivo sobre la brotación y enraizamiento en explantes de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en condiciones *in vitro*”

En esta fase se compararon dos medios de cultivo; medio base Murashige y Skoog (MS) y el medio Woody Plant Medium (WPM) con el fin de determinar cuál es el mejor medio de cultivo para la brotación y enraizamiento *in vitro* (Anexo 2).

La fuente de explantes multidonales que se utilizó en este estudio consiste en tejidos previamente desinfectados, los cuales se encontraban disponibles en el laboratorio de micropropagación de la Universidad Nacional de Loja (Anexo 1). Estos explantes pertenecen a la variedad *biloxi*, seleccionada cuidadosamente por sus características distintivas y relevancia

en el contexto de la investigación. Este enfoque se lleva a cabo con el propósito de obtener resultados fiables y reproducibles en el desarrollo de cultivos, contribuyendo así al avance de la investigación en el ámbito de la micropropagación. La variedad Biloxi, utilizada como base de explantes multidonales, ha sido objeto de estudio debido a sus características genéticas y agronómicas únicas. El establecimiento tomó un tiempo de 28 días para la generación de brotes y posterior 60 días para la generación de raíces.

5.3.1. Preparación del medio de cultivo de Murashige y Skoog (MS)

Se empleó un medio de cultivo sólido MS, suplementado con sales minerales: tiamina 5 mg L⁻¹, mio-inositol 100 mg L⁻¹, Piridoxina 5 mg L⁻¹, sacarosa 20 g. L⁻¹ (como fuente exógena de carbono); 5 mg L⁻¹ ácido nicotínico (agentes antioxidantes), agar 5,8 g L⁻¹ (agente solidificante). El pH del medio se ajustó a 6 con hidróxido de sodio (NaOH). Se distribuyeron 25 ml de medio de cultivo en cada frasco de vidrio y se esterilizaron en la autoclave a una temperatura de 120 °C y una presión de 1,50 kg cm² durante 20 minutos.

5.3.2. Preparación del medio de cultivo de Woody Plant Medium (WPM)

Se empleó un medio de cultivo sólido WPM, suplementado con sales minerales: con SM1, SM2, SM3 (como soluciones madre); tiamina 5 mg L⁻¹, mio-inositol 100 mg L⁻¹, Piridoxina 5 mg L⁻¹, sacarosa 20 g. L⁻¹ (como fuente exógena de carbono); 5 mg L⁻¹ ácido nicotínico (agentes antioxidantes), agar 5,8 g L⁻¹ (agente solidificante). El pH del medio se ajustó a 6 con hidróxido de sodio (NaOH). Se distribuyeron 25 ml de medio de cultivo en cada frasco de vidrio y se esterilizaron en la autoclave a una temperatura de 120 °C y una presión de 1,50 kg cm² durante 20 minutos.

5.3.3. Variables de evaluación

1. **Porcentaje de brotación:** Se evaluó la brotación en los explantes, cuando el brote empezó a salir. Se califica con 1 la presencia y 0 la ausencia de brotación, y se contabiliza el número de explantes brotados sobre el total de explantes por tratamiento, por 100.
2. **Callosidad:** Se contabilizó los explantes los cuales formaron callos a los 30 días de su implantación. 0 no formación del callo, 1 formación del callo (hay proliferación de células por todos los bordes del explante, los cuales formaron una masa). Para calcular el porcentaje de callos formados, se empleó la siguiente fórmula: $\text{Número de explantes con callos por tratamiento} \times 100 / \text{número total de explantes por tratamiento} = \text{Callos formados (\%)}$

3. **Porcentaje de enraizamiento:** A los 60 días de haber iniciado el experimento, se contabilizaron el número de explantes que presentaron raíces, registrando el total. Los valores se expresaron en porcentaje, aplicando la siguiente fórmula: $\% = (\text{Número de explantes que enraizaron} / \text{Número total}) \times 100$

5.4. Metodología para el segundo objetivo “Analizar el tipo de concentración y hormonas que influyan positivamente en la brotación y enraizamiento de explantes de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en condiciones *in vitro*”

En esta fase se evaluó el efecto de cuatro reguladores de crecimiento dos citoquininas 2ip y BAP y dos auxinas ANA y AIB, con la finalidad de inducir a la formación de brotes y enraizamiento respectivamente, con el fin de determinar cuál es la mejor concentración de reguladores de crecimiento para la brotación y enraizamiento *in vitro* de explantes de arándano.

Se procedió a extraer de los frascos los segmentos multinodales; se hizo un corte entre la base de la yema y tallo para su separación. Después se sembró un nuevo segmento en frascos de vidrio. Posteriormente se llevó al área de incubación, luego de sellar cada envase y rotular, esperando un promedio de 7 días, para su respectiva toma de datos para la formación de brotes y raíces, en la base de los explantes y multiplicación de los mismos (Anexo 3; Anexo 4; Anexo 5).

5.4.1. Variables de evaluación.

Las evaluaciones se realizan por observación directa, evaluando las siguientes variables:

1. **Longitud del brote:** se fue midiendo la longitud del brote a los 7, 14, 21, 28 días respectivamente, con una regla graduada en cm desde la base del brote hasta el ápice de la hoja.
2. **Número de nudos:** Se contabilizó el número de nudos que presentaron cada uno de los explantes a partir de la siembra 7, 14, 21, 28 días respectivamente.
3. **Índice de multiplicación:** El índice de multiplicación se evaluó con la siguiente fórmula: $IM = \frac{N^{\circ} \text{ Explantes} \times N^{\circ} \text{ Nudos}}{N^{\circ} \text{ Explantes iniciales}}$
4. **Longitud de raíz:** Es importante para evaluar cómo las hormonas influyen en el crecimiento de las raíces.

6. Resultados

6.1. Resultados para el primer objetivo

6.1.1. Brotación de explantes bajo diferentes medios de cultivos

En la Figura 3, y según el análisis de varianza (Anexo 8) se determinó que el medio de cultivo no tuvo efecto significativo ($p > 0,05$) sobre el porcentaje de brotación.

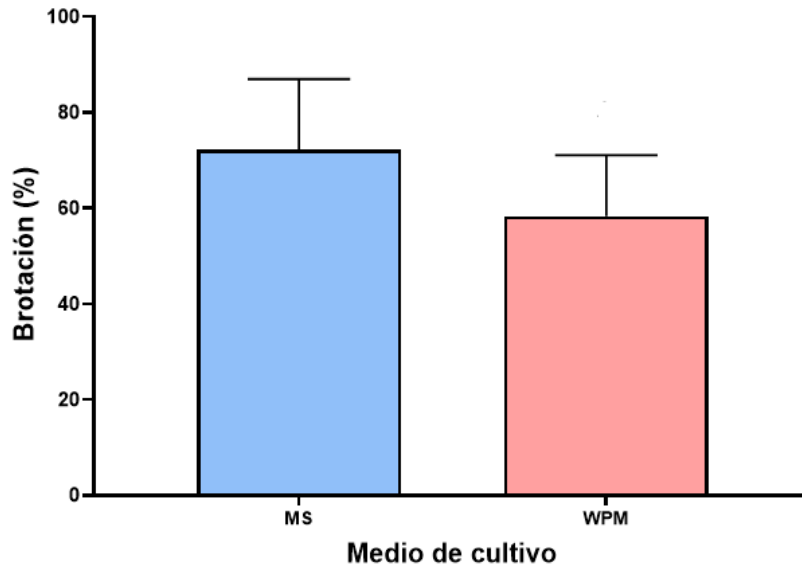


Figura 3. Respuesta de la brotación en dos medios de cultivo. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento.

6.1.2. Formación de callos en los explantes bajo diferentes medios de cultivos

El análisis de varianza (Anexo 9) para la formación de callos determinó que el medio de cultivo tuvo un efecto significativo ($p < 0,0001$) para esta variable, según la prueba estadística de LSD Fisher, donde se evidencia que el medio MS incrementó significativamente la formación de callos (Figura 4).

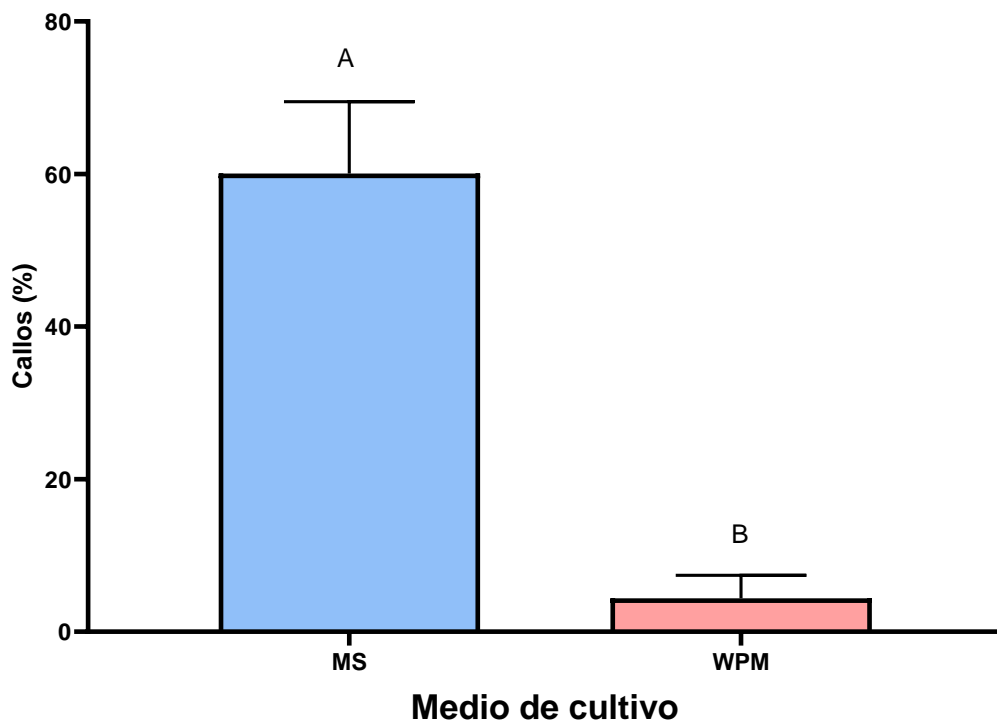


Figura 4. Respuesta de la callosidad en dos medios de cultivo. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento. Mientras que las letras sobre las columnas representan las diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba estadística LSD Fisher.

6.1.3. Porcentaje de enraizamiento

En la tabla 1, se muestran diferentes tratamientos para inducir el enraizamiento, sin embargo, en el presente estudio bajo ningún medio de cultivo se logró inducir raíces, por lo tanto, no se presentan resultados para esta variable.

6.2 Resultados para el segundo objetivo

6.2.1. Longitud del brote

Según los resultados del análisis de varianza (Anexo 10) se determinó que para la longitud del brote no existe efecto significativo ($p > 0,05$) del medio de cultivo y la adición de reguladores de crecimiento vegetal, y tampoco se encontró efectos de los factores independientes (Figura 5).

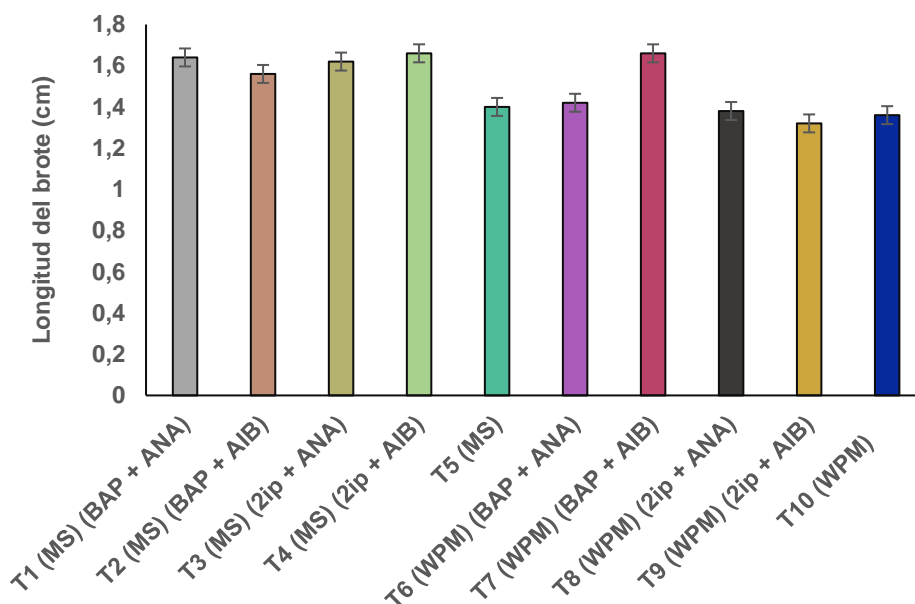


Figura 5. Longitud del brote en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras en la figura representan el error estándar de la media de cada tratamiento.

6.2.2. Número de nudos

Según los resultados que se obtuvieron del análisis de varianza (Anexo 11) se determinó que para el número de nudos no existe efecto significativo ($p > 0,05$) del medio de cultivo y la adición de reguladores de crecimiento vegetal, sin embargo, sí tuvo efecto significativo ($p < 0,04$) en el efecto independiente regulador de crecimiento. El tratamiento con combinaciones de reguladores de crecimiento (BAP (2,5 mg. L⁻¹) + AIB (1 mg. L⁻¹)) y (2ip (2,5 mg. L⁻¹) + AIB (1 mg. L⁻¹)) son aquellos que presentan un mayor número de nudos con respecto a los demás (Figura 6).

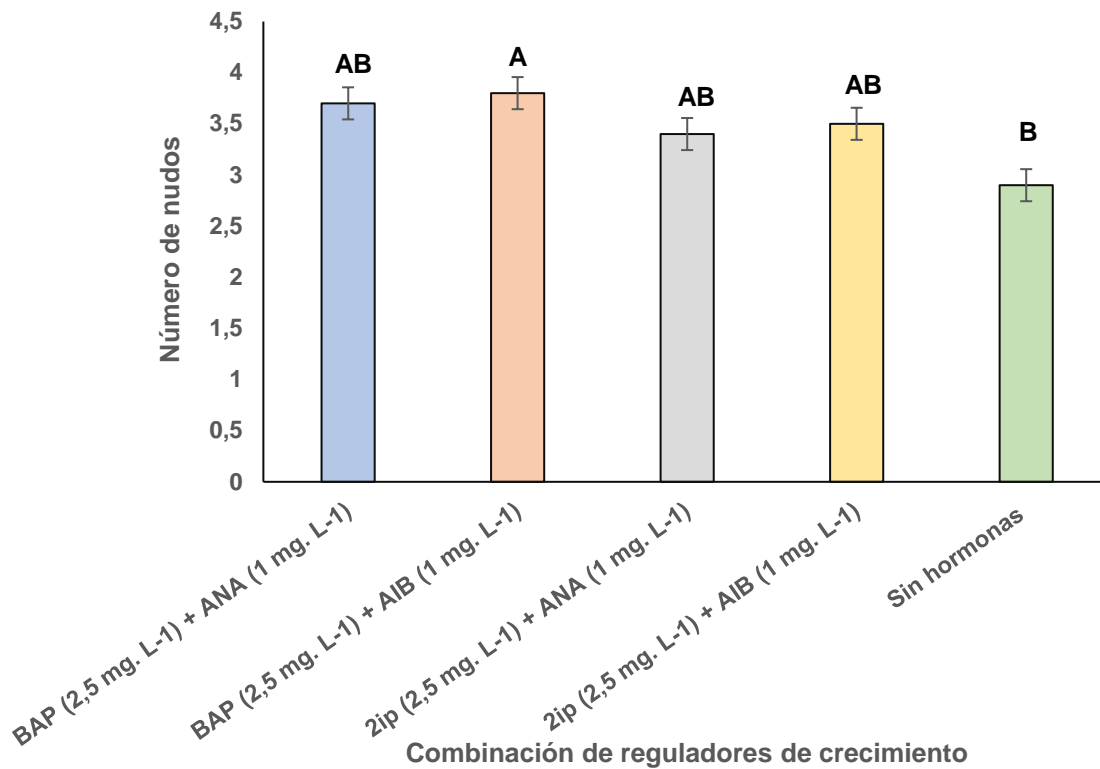


Figura 6. Número de nudos en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras en la figura representan el error estándar de la media de cada tratamiento.

6.2.3. Índice de multiplicación

De acuerdo con los resultados del análisis de varianza (Anexo 12) se determinó que para el índice de multiplicación no existe efecto significativo ($p > 0,05$) del medio de cultivo y la adición de reguladores de crecimiento vegetal, y tampoco se encontró efectos de los factores independientes como se muestra en la Figura 7.

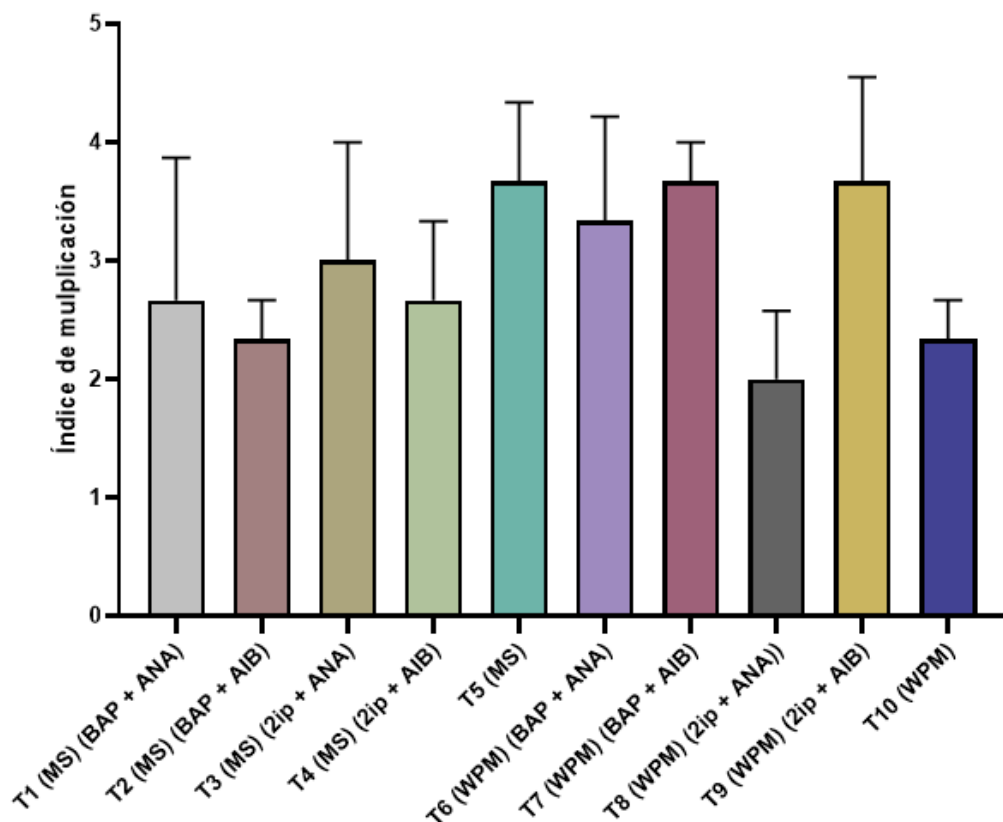


Figura 7. Índice de multiplicación en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento.

6.2.4. Brotación de explantes

Con base en los resultados del análisis de varianza (Anexo 13) muestra el porcentaje de brotación bajo diferentes tratamientos, aunque se observan variaciones en los resultados, no existe efecto significativo ($p > 0,05$) del medio de cultivo y la adición de reguladores de crecimiento vegetal, y tampoco se encontró efectos de los factores independientes (Figura 8).

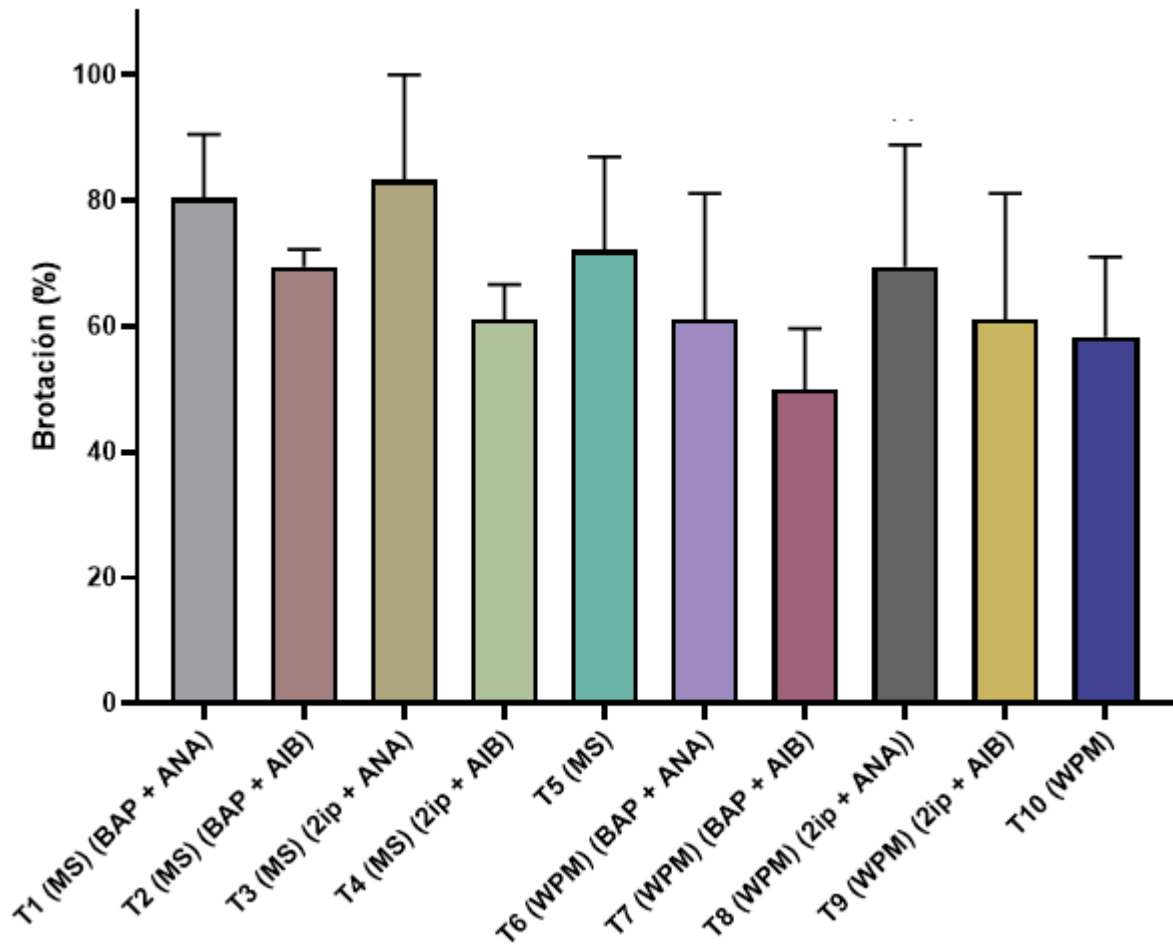


Figura 8. Respuesta de brotación en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento.

6.2.5. Formación de callos en los explantes

A partir del análisis de varianza (Anexo 14) se determinó que para la variable formación de callos, existe un efecto significativo ($p < 0,0011$) de la interacción del medio del cultivo y la adición de reguladores de crecimiento sobre el porcentaje de callos (Figura 9).

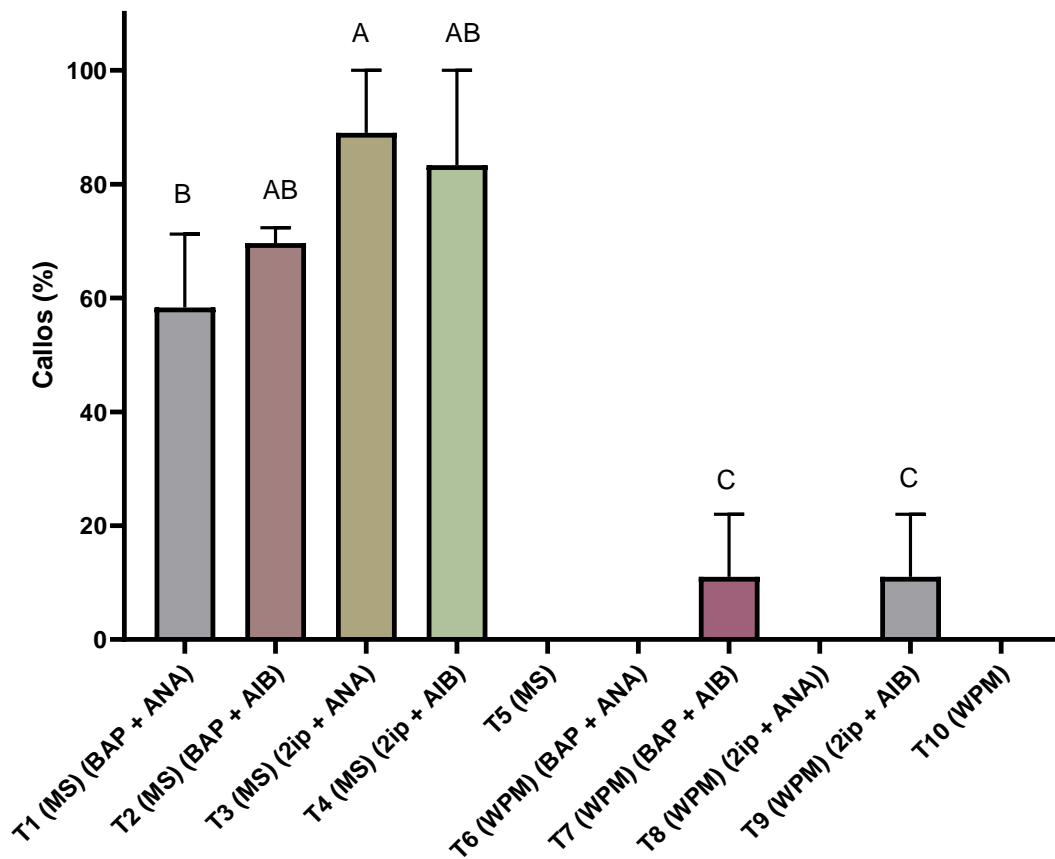


Figura 9. Porcentaje de callos en dos medios de cultivo y reguladores de crecimiento. Las barras sobre las columnas indican el error estándar de la media de cada tratamiento.

6.2.6. Longitud de raíz

En la tabla 1, se muestra diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento para inducir el enraizamiento, sin embargo, en el presente estudio bajo ningún factor se presentó una longitud de raíz, pues debido a que todos los resultados fueron 0, por lo tanto, no se presentan resultados para esta variable (Figura 10).



Figura 10. Efecto de diferentes concentraciones de reguladores de crecimiento en la inducción de longitudes de raíz.

7. Discusiones

El presente estudio evaluó la eficacia de la brotación y enraizamiento de explantes de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en condiciones *in vitro*, empleando diferentes medios de cultivo y varios tipos de reguladores de crecimiento como auxinas (AIB y ANA) y citoquininas (BAP y 2ip) en diversas concentraciones y combinaciones (Tabla 1), el análisis se realizó a través del porcentaje de brotación y enraizamiento en los explantes de arándano, con el fin de identificar el medio de cultivo más eficaz y las concentraciones óptimas de reguladores de crecimiento que favorecen estos procesos.

Según los resultados obtenidos en este estudio, se muestra que el medio de cultivo MS presenta un mayor porcentaje de brotación con un promedio 73,33 %, en comparación con el medio de cultivo WPM que alcanza un 60 %. De igual forma Andrade et al., (2021), menciona que, en arándano, de sus 16 tratamientos aplicados y bajo las condiciones de cultivo, el medio MS fue el que presentó un mayor porcentaje de brotación con un promedio de 50 %. No obstante, Chudetsky et al., (2022), en su estudio demostraron que para promover el crecimiento y la organogénesis durante la micropropagación en el cultivo de arándano, el medio WPM fue el más eficiente con respecto a otros medios de cultivo, adicionalmente destacaron el papel del medio WPM en la mejora de la reproducción y el enraizamiento, lo que contribuyó a una micropropagación exitosa de los arándanos *in vitro*, por lo que concluyen que el medio de cultivo WPM demuestra promover el crecimiento y la organogénesis de plantas leñosas, debido a su capacidad para mejorar la reproducción y el enraizamiento *in vitro*, esencial para la producción eficiente y sostenible de estas plantas en condiciones controladas de laboratorio. Así mismo, Souza et al., (2023), en su investigación mencionan que el WPM ha sido identificado como un medio de cultivo más eficiente para plantas *in vitro* en comparación con el medio MS. Además, se ha destacado el efecto positivo del WPM en la micropropagación de varias especies donde el MS no se recomienda para su micropropagación. En general, la evidencia sugiere que el WPM supera al MS en términos de crecimiento y regeneración de plantas *in vitro*. Al respecto, Zhou et al., (2022) mencionan que el medio de cultivo adecuado para el cultivo *in vitro* de arándanos depende del objetivo específico del cultivo. Para la propagación rápida y el cultivo eficiente de tejidos, el Woody Plant Medium (WPM) ha demostrado ser muy efectivo, especialmente en la inducción de callos, el crecimiento de brotes y el enraizamiento de arándanos. En contraste, el medio Murashige y Skoog modificado (MS) ha mostrado éxito en la organogénesis y el enraizamiento de arándanos, con diferentes cultivares respondiendo mejor a composiciones específicas de este medio. Además, estudios en

plantas vegetativas han destacado el uso del medio MS para la micropropagación lo que subraya su versatilidad y efectividad en diversas especies de plantas. Por lo tanto, aunque el WPM es beneficioso para ciertos aspectos del cultivo de tejidos de arándanos, el medio MS se presenta como una opción versátil y efectiva para el cultivo *in vitro* de varias plantas.

En base de estas evidencias se puede mencionar que tanto MS y WPM pueden ser significativas ya que se obtienen valores altos de porcentaje de brotación, de la literatura mencionada el porcentaje de brote puede deberse al genotipo indiferentemente de los medios que se utilizan. La elección entre MS y WPM como medio de cultivo para el cultivo de plantas *in vitro* depende de la especie de planta específica, la elección entre MS y WPM debe basarse en los requisitos de crecimiento específicos y los resultados deseados para la especie de planta en cuestión ya que los dos funcionan.

De acuerdo a los resultados obtenidos con respecto a la formación de callos, el medio de cultivo que presentó los mayores valores fue el MS con un promedio del 60 % en comparación con el medio de cultivo WPM el cual mostró un promedio del 4,44 %. Cabe resaltar que la formación de callos no impidió la brotación de los explantes. Por otro lado, Ghosh et al., (2017) mencionan que para la formación de callos el medio de WPM presentó una alta tasa de inducción de callos del 97 % con respecto a otros tratamientos, estos hallazgos resaltan la importancia de las composiciones de medios de cultivo personalizados para optimizar la formación de callos en arándanos, esencial para el cultivo de tejidos eficiente y los procesos de transformación genética en la industria del arándano. De tal modo, Kolarević et al., (2021) mencionan que los callos también proporcionan un medio para inducir diferentes tipos de morfogénesis, como la rizogénesis, lo que permite el estudio de los mecanismos de formación de raíces en entornos controlados indiferentemente del medio de cultivo que se utilice. En general, los callos en sistemas de cultivo *in vitro* representan una herramienta universal para estudiar el cultivo de tejidos vegetales, los mecanismos de regeneración y la resistencia al estrés. Al parecer indistinta del medio del cultivo se puede favorecer a la formación de callos, sin embargo, sería importante determinar las condiciones para favorecer la inducción de raíces en brotes con presencia de callos.

Por otro lado, los resultados obtenidos para la longitud del brote indican que el tratamiento que presentó un promedio mayor fue el T7: BAP (2,5mg. L-1) y AIB (1 mg. L-1)) con 1,6 cm, mientras que el tratamiento más bajo fue el T9: 2ip (2,5 mg. L-1) + AIB (1 mg. L-1) ya que nos dio un promedio de 1,3 cm, de acuerdo al número de nudos el tratamiento bajo

tratamiento T4: 2ip (2,5 mg. L-1) + AIB (1 mg. L-1)) fue el que presento un mayor promedio, mientras que el tratamiento T8: 2ip (2,5 mg. L-1) + ANA (1 mg. L-1) fue el que obtuvo el promedio más bajo, en cambio, el tratamiento que mostró un mejor índice de multiplicación fue el T7 BAP (2,5mg. L-1) + AIB (1 mg. L-1)) en comparación con el tratamiento T8 2ip (2,5 mg. L-1) + ANA (1 mg. L-1)) el cual mostro un índice de multiplicación menor, mientras tanto, que para la brotación de explante el tratamiento T3 2ip (2,5 mg. L-1) + ANA (1 mg. L-1) fue el que presento un mejor promedio de 83,33 % y el tratamiento más bajo fue el T7 BAP (2,5mg. L-1) + AIB (1 mg. L-1) con un promedio de 50 % esta variabilidad se refleja en la diferente respuesta/necesidades de reguladores de crecimiento.

Es así que los resultados subrayan la importancia de ajustar las concentraciones de los reguladores de crecimiento en el medio para favorecer tanto el crecimiento de los brotes como la formación de raíces. Además, estos estudios representan un avance significativo en el desarrollo de técnicas optimizadas y prácticas para promover la brotación de arándanos en condiciones *in vitro*. La mejora de los protocolos de micropropagación, mediante la optimización de los reguladores de crecimiento y las condiciones de cultivo, permite una generación más eficaz y eficiente de nuevos brotes.

8. Conclusiones

- El medio de cultivo WPM Y MS fueron eficaces para la inducción de brotes, aunque no mostró un efecto significativo, bajo las condiciones de este experimento en ningún tratamiento presentó inducción de raíces, sin embargo, se observó que el medio de cultivo (MS) tuvo un efecto significativo en la formación de callos en los explantes, con un porcentaje notablemente mayor de callosidad en ciertos tratamientos. Estos resultados sugieren que, aunque el medio de cultivo puede no influir directamente en la brotación ni en la formación de raíces, sí juega un papel crucial en la inducción de callos, lo cual puede ser relevante para la regeneración y propagación de tejidos vegetales en condiciones *in vitro*.
- La adición de diferentes reguladores de crecimiento vegetal auxinas y citoquininas en diversas concentraciones no tuvo un efecto significativo en la longitud del brote ni en el índice de multiplicación de los explantes de arándano. Sin embargo, en el número de nudos sí tuvo efecto significativo en el efecto independiente regulador de crecimiento, especialmente aquellos que combinaban BAP y AIB, y 2ip y AIB. Esto indica que, aunque no se alcanzaron diferencias significativas en general, ciertas combinaciones de reguladores de crecimiento pueden ser más efectivas para promover el crecimiento y desarrollo de los explantes.

9. Recomendaciones

- Aunque el medio de cultivo actual no mostró diferencias significativas en la brotación, se recomienda experimentar con formulaciones nuevas o combinaciones adicionales de nutrientes y reguladores de crecimiento para evaluar su efecto sobre la brotación y el enraizamiento.
- Dado que ciertos tratamientos mostraron una mayor formación de callos, se sugiere ajustar las concentraciones de componentes específicos del medio para optimizar este proceso, lo cual podría facilitar la regeneración de tejidos y la propagación de plantas.
- Aunque no se encontraron diferencias significativas en la longitud de los brotes y el índice de multiplicación, algunas combinaciones de BAP y AIB en el medio WPM, y 2ip y AIB en el medio MS, mostraron tendencias prometedoras. Se recomienda realizar estudios adicionales con estas combinaciones, así como explorar otros reguladores de crecimiento y sus concentraciones.
- Investigar el uso de reguladores de crecimiento alternativos que no fueron evaluados en este estudio podría proporcionar información adicional sobre cómo mejorar la brotación y el enraizamiento de los explantes de arándano.
- Investigar la variabilidad genética entre las plantas regeneradas para asegurar que los métodos utilizados no induzcan cambios genéticos indeseados, lo cual es crucial para mantener la integridad de las características varietales del arándano cv. Biloxi.

10. Bibliografía

- Alcantara Cortes, J., Acero Godoy, J., Alcántara Cortés, J., y Sánchez Mora, R. M. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal. *SciELO*, 17(32), 109-129. doi:1794/2470
- Andrade, A., Gómez, L., Torres, Y., y Aguilera, G. (2021). EVALUACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO PARA EL ESTABLECIMIENTO, MULTIPLICACIÓN Y ENRAIZAMIENTO *in vitro* DE MORA (*Rubus glaucus* Benth.). *Agro-Ciencia*, 37(2), 117-127. doi:0719-3890
- Bhatla, S., y Lal, M. (2022). Fisiología vegetal, desarrollo y metabolismo. 399-420. doi:10.1007/978-981-99-5736-1_15
- Castillo, A. (2004). *Propagación de plantas por cultivo in vitro: una biotecnología que nos*. Obtenido de Unidad de Biotecnología, INIA Las Brujas: <http://inia.uy/en/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
- Cheng, Z. J., Wang, L., Sun, W., Zhang, Y., Zhou, C., Su, Y. H., . . . Zhang, X. S. (2013). Pattern of Auxin and Cytokinin Responses for Shoot Meristem Induction Results from the Regulation of Cytokinin Biosynthesis by AUXIN RESPONSE FACTOR3. *Plant Physiology*, 161(1), 240–251. doi:<https://doi.org/10.1104/pp.112.203166>
- Chudetsky, A., Rodin, S., Zarubina, L., Kuznetsova, I., y Tyak , G. (2022). Clonal Micropropagation and Peculiarities of Adaptation to ex vitro Conditions of Forest Berry Plants of the Genus *Vaccinium*. *Techniques and Technology*, 52(3), 570-581. doi:2313-1748
- Correia, S., Matos, M., y Leal, F. (2024). Advances in Blueberry (*Vaccinium* spp.) *In Vitro* Culture: A Review. *Horticulturae*, 10(6), 533. doi:10.3390/horticulturae10060533
- Fan, C., Li, k., Xu, L., Deng, Z., Shiming Deng, J. L., y Mou, J. (2024). *Paeonia ostii* ‘Feng Dan’ plant regeneration through direct organogenesis and direct meristematic nodule culture. 1-24. doi:<https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4062314/v1>
- Fan, S., Jian, D., Wei, X., Chen, J., Beeson, R. C., Zhou, Z., y Wang, X. (2017). Micropropagation of blueberry ‘Bluejay’ and ‘Pink Lemonade’ through *in vitro* shoot culture. *Scientia horticulturae*, 226, 277-284. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.08.052>

- Filgiel-Kroczyńska, M., Krupa-Malkiewicz, M., y Ochmian, I. (2022). Efficient micropropagation protocol of three cultivars of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*L.) . *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 50(4), 12856-12856. doi:10.15835/nbha50412856
- García-Hernández, E., Loera-Quezada, M. M., Morán-Velázquez, D. C., López, M. G., Chable-Vega, M. A., Santillán-Fernández, A., . . . Alatorre-Cobos, F. (2022). Indirect organogenesis for high frequency shoot regeneration of two cultivars of *Sansevieria trifasciata* Prain differing in fiber production. *Scientific Reports*, 12(1), 8507. doi:10.1038/s41598-022-12640-4
- Ghosh, A., Igamberdiev, A., y Debnath, S. (10 de 2017). Detection of DNA methylation pattern in thidiazuron-induced blueberry callus using methylation-sensitive amplification polymorphism. *Biología Plantarum*, 61, 511–519. doi:https://doi.org/10.1007/s10535-016-0678-3
- González, A., Riquelme, J., France, A., Uribe, H., y Robledo, P. (2017). *Manual de manejo agronómico del arándano*. Obtenido de INIA: <https://bibliotecadigital.ciren.cl/server/api/core/bitstreams/9520d240-ca99-41bc-a464-49d9045d8c08/content>
- Goyali, J. C., Igamberdiev, A. U., y Debnath, S. C. (2015). Propagation Methods Affect Fruit Morphology and Antioxidant Properties but Maintain Clonal Fidelity in Lowbush Blueberry. *HORTSCIENCE*, 50(6), 888–896. doi:https://doi.org/10.21273/HORTSCI.50.6.888
- Gupta, S., Singh, A., Yadav, K., Pandey, N., y Kumar, S. (2022). Chapter 2 - Micropropagation for multiplication of disease-free and genetically uniform sugarcane plantlets. *Advances in Plant Tissue Culture*, 31-49. doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90795-8.00015-1
- Hernández Murillo, J. R., Aramendiz Tatis, H., y Cardona Ayala, C. E. (2005). Influencia del ácido indolbutírico y ácido naftalenoacético sobre el enraizamiento de esquejes de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). *Temas Agrarios*, 10(1), 5-13. doi:https://doi.org/10.21897/rta.v10i1.626
- Hurkova, K., Uttla, L., Ruberta, J., Navratilova, K., Kocourek, V., Stranska-Zachariasova, M., . . . Hajslova, J. (2019). Cranberries versus lingonberries: A challenging authentication

- of similar Vaccinium fruit. *Food Chemistry*, 284, 162-170. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.014>
- Jiménez-Bonilla, V., y Abdelnour-Esquivel, A. (2018). Protocolo de micropropagación de arándano nativo de Costa Rica (*Vaccinium consanguineum*). *Tecnología en Marcha*, 31(1), 144-159. doi:10.18845/tm.v31i1.3504
- Kolarević, T., Milinčić, D., Vujović, T., Gašić, U. M., Prokić, L., Kostić, A. Ž., . . . Pešić, M. B. (20 de 10 de 2021). Phenolic Compounds and Antioxidant Properties of Field-Grown and *In Vitro* Leaves, and Calluses in Blackberry and Blueberry. *Horticulturae*, 7(11), 420. doi:<https://doi.org/10.3390/horticulturae7110420>
- Lopez, B., y Villanueva, J. (2021). Inducción *in vitro* a partir de estolones de fresa. Tesis. Universidad Nacional del Santa, Perú. doi:<https://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14278/3746/52271.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- MAG. (27 de 09 de 2022). *Ecuador entra a competir en el mercado internacional de arándanos*. Obtenido de Ministerio de Agricultura y Ganadería: <https://www.agricultura.gob.ec/ecuador-entra-a-competir-en-el-mercado-internacional-de-arandanos/>
- Mazurek, M., Siekierzyńska, A., Piechowiak, T., Spinardi, A., y Litwińczuk, W. (2024). Comprehensive Analysis of Highbush Blueberry Plants Propagated *In Vitro* and Conventionally. *Int. J. Mol. Sci*, 25(1), 544. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms25010544>
- Neves, M., Correia, S., Cavaleiro, C., y Canhoto, J. (2021). Modulation of Organogenesis and Somatic Embryogenesis by Ethylene: An Overview. *Plants*, 10(6), 1208. doi:<https://doi.org/10.3390/plants10061208>
- Ormazábal, Y. M., Mena, C. A., Cantillana, J. C., y Lobos, G. E. (2020). Caracterización de predios productores de arándanos (*Vaccinium corymbosum*), según nivel tecnológico. El caso de la región del Maule-Chile. *Información Tecnológica*, 31(1), 41-52. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642020000100041>
- Phillips, G. C., y Garda, M. (2019). Plant tissue culture media and practices: an overview. In *In Vitro Cellular y Developmental Biology - Plant*, 55, 242-257. doi:10.1007/s11627-019-09983-5

- Ramon-Alarcon, N. A., Romero-Cabrera, R. W., Aguilar-Ordóñez, L. R., y Enderica-Armijos, H. O. (2024). Análisis de la evolución de exportaciones de arándanos de Ecuador-Perú y su participación en los mercados internacionales años 2020-2023. *Digital Publisher CEIT*, 9(5), 782-794,. doi:10.33386/593dp.2024.5.2665
- Romero, C. A. (2016). *El Arándo en el Perú y el Mundo. Ministerio de Agricultura*. Obtenido de <https://repositorio.midagri.gob.pe/bitstream/20.500.13036/44/1/Bolet%c3%adn%20El%20Ar%c3%a1ndano.pdf>
- Souza, M. I., Verde, D. d., Pinto, C. R., Nobre, L. V., Souza, A. d., Gesteira, A. d., y Filho, W. d. (2023). Determination of the best culture médium for establishment, propagation and conservation in vitro of citrus rootstocks. *CONCILIUM*, 23(9). Doi:0010-5236
- USDA. (2019). *USDA Stat Blueberry. Statistics by Subject*. Obtenido de USDA, NRCS. Estados Unidos de América: https://quickstats.nass.usda.gov/results/CBDCF536-13A5-3D67-94CA-D068D478FBD4?pivot=short_desc
- Vargas, C. S., Sánchez-García, P., Volke-Haller, V. H., y León, M. T. (2018). Respuesta agronómica de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) al estrés osmótico. *Agrociencia*, 52(2), 231-239. doi:2521-9766
- Venkateshwarlu, M. (2022). *In Vitro Culture Techniques from Cotyledon Explants of Celastrus Paiculatus (Wild) a Medicinal Important Plant. Int J Cur Res Rev*, 14(3), 60-62. doi:10.31782/IJCRR.2022.14311
- Wang, Y., Zhang, X., Jiang, Z., Yang, X., Xiaojuan, Ou, X., . . . Chen, R. (2023). Establishment and Optimization of Micropropagation System for Southern Highbush Blueberry. *Horticulturae*, 9(8), 893. doi:<https://doi.org/10.3390/horticulturae9080893>
- Yang, X. S., Yan, G., y Du, G. (2017). Medium pH between 5.5 and 7.5 has Minimal Effects on Tissue Culture of Apple. *HORTSCIENCE*, 52(3), 475–478. doi:10.21273/HORTSCI11443-16
- Zahra, N., Khalid Saeed, M., Hamid, H., Qamar, A., y Saeed, A. (2023). Nutritional composition, health benefits and potential applications of blueberry: a comprehensive review. *Innovare Journal of Agricultural Sciences*, 11(5), 7-13. doi:10.22159/ijags.2023.v11i5.48548

Zhou, Y., Li, Q., Wang, Z., y Zhang, Y. (2022). High Efficiency Regeneration System from Blueberry Leaves and Stems. *Reproductive and developmental Biology*, 13(2), 242-242. doi:<https://doi.org/10.3390/life13010242>

11. Anexos

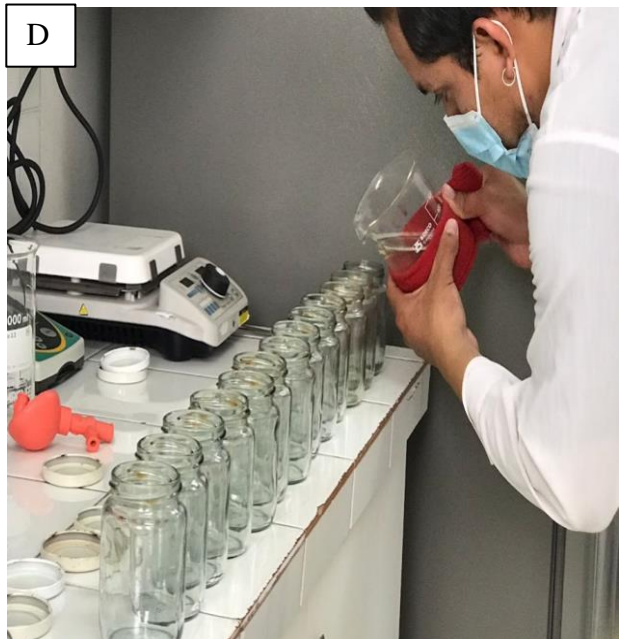
Anexo 1. Elección del material vegetal: selección del material más apto para explantes.



Anexo 2. Preparación de los medios de cultivo (MS y WPM).



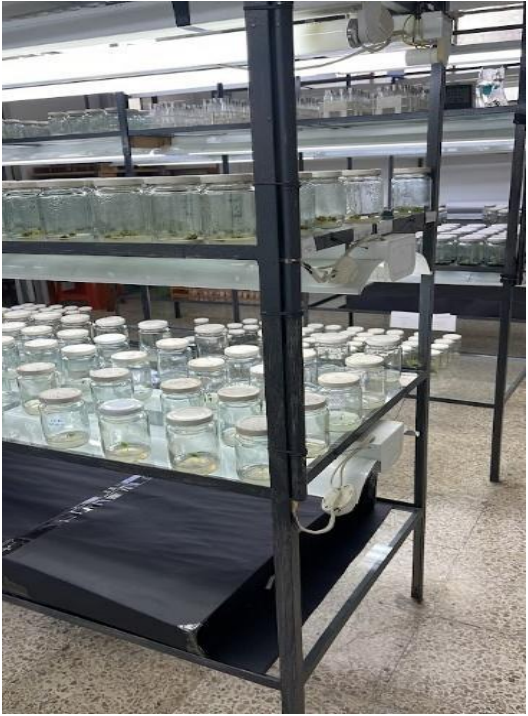
Anexo 3. Preparación del medio de cultivo y sus reguladores de crecimiento: A) Preparación de medio MS y combinación de reguladores de crecimiento, B) Preparación de medio WPM y combinación de reguladores de crecimiento, C) control de pH, D) llenado de frascos con sus respectivos tratamientos.



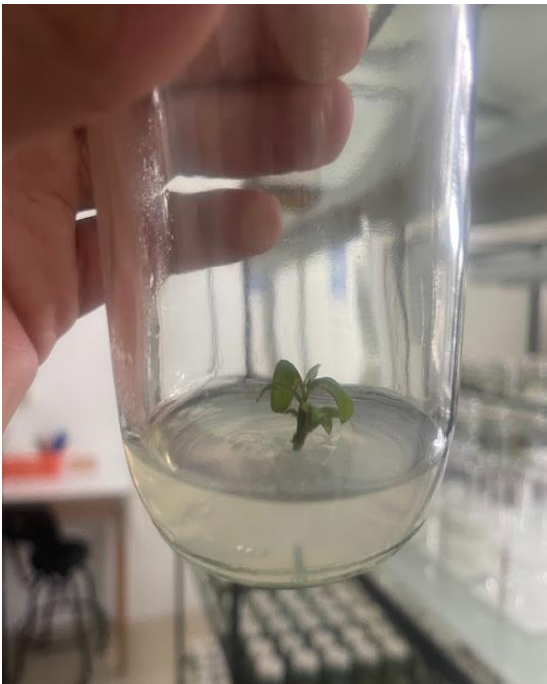
Anexo 4. Implantación de los explantes multinodales de arándano para todos los tratamientos en los frascos dentro de la cámara laminar.



Anexo 5. Establecimiento del ensayo.



Anexo 6. Tratamientos a los 28 días de la implantación.



Anexo 7. Tratamientos después de la implantación: A) A los 28 días B) a los 42 días.



Anexo 8. Análisis de varianza para la brotación de explantes bajo diferentes medios de cultivos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
% brotación	6	0,11	0,00	36,48	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	289,40	1	289,40	0,51	0,5145
Medio de cultivo	289,40	1	289,40	0,51	0,5145
Error	2268,70	4	567,18		
Total	2558,10	5			

Anexo 9. Análisis de varianza para la formación de callos en los explantes bajo diferentes medios de cultivos.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
% callosidad	30	0,53	0,51	84,07	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	23240,83	1	23240,83	31,65	<0,0001
Medio de cultivo	23240,83	1	23240,83	31,65	<0,0001
Error	20562,53	28	734,38		
Total	43803,37	29			

Anexo 10. Análisis de varianza para longitud de brotes bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Longitud del brote a los 2..	50	0,23	0,05	18,03	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,86	9	0,10	1,30	0,2672
Medio de cultivo	0,27	1	0,27	3,74	0,0604
Reguladores de crecimiento..	0,27	4	0,07	0,94	0,4523
Medio de cultivo*Regulador..	0,31	4	0,08	1,05	0,3915
Error	2,93	40	0,07		
Total	3,79	49			

Anexo 11. Análisis de varianza para número de nudos bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Número de nudos a los 28 d..	50	0,32	0,16	25,20	

Datos desbalanceados en celdas.
Para otra descomposición de la SC
especifique los contrastes apropiados.. !!

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	14,02	9	1,56	2,05	0,0585
Medio de cultivo	2,42	1	2,42	3,18	0,0819
Reguladores de crecimiento..	9,72	5	1,95	2,56	0,0423
Medio de cultivo*Regulador..	1,88	3	0,63	0,82	0,4893
Error	30,40	40	0,76		
Total	44,42	49			

Anexo 12. Análisis de varianza para el índice de multiplicación, bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
Multiplicación	30	0,24	0,00	44,01	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10,53	9	1,17	0,70	0,7000
Medio de cultivo	0,13	1	0,13	0,08	0,7802
Reguladores de crecimiento..	1,53	4	0,38	0,23	0,9183
Medio de cultivo*Regulador..	8,87	4	2,22	1,33	0,2932
Error	33,33	20	1,67		
Total	43,87	29			

Anexo 13. Análisis de varianza para la brotación de explantes, bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
% brotación	30	0,19	0,00	37,36	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2870,52	9	318,95	0,51	0,8473
Medio de cultivo	1333,73	1	1333,73	2,15	0,1581
Reguladores de crecimiento..	1157,20	4	289,30	0,47	0,7597
Medio de cultivo*Regulador..	379,58	4	94,90	0,15	0,9594
Error	12408,37	20	620,42		
Total	15278,89	29			

Anexo 14. Análisis de varianza para la formación de callos, bajo diferentes medios de cultivos y combinación de hormonas.

Análisis de la varianza					
Variable	N	R ²	R ² Aj	CV	
% callosidad	30	0,89	0,84	48,47	
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)					
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	38921,37	9	4324,60	17,72	<0,0001
Medio de cultivo	23240,83	1	23240,83	95,21	<0,0001
Reguladores de crecimiento..	8924,87	4	2231,22	9,14	0,0002
Medio de cultivo*Regulador..	6755,67	4	1688,92	6,92	0,0011
Error	4882,00	20	244,10		
Total	43803,37	29			

Anexo 15. Certificado de traducción español-inglés.



ESCUELA DE EDUCACIÓN BÁSICA MUNICIPAL "LA PRADERA"
"SABIDURÍA DISCIPLINA EQUIDAD"

CÓDIGO AMIE: 11H00111 AÑO LECTIVO: 2024-2025 RÉGIMEN: SIERRA
NIVEL EDUCACIÓN: INICIAL/ BÁSICA ELEMENTAL Y MEDIA GRADO: INICIAL II A SÉPTIMO

Loja, 17 de diciembre del 2024

CERTIFICADO DE TRADUCCIÓN ESPAÑOL-INGLÉS

Yo, **MICHAEL ALESSANDRO GRANDA PINTA**, con C.I. 1105158255, docente de inglés como lengua extranjera en la Escuela de Educación Básica Municipal "La Pradera" CERTIFICO: haber traducido el resumen del idioma español al idioma inglés de la tesis de pregrado denominada "INDUCCIÓN DE ORGANOGÉNESIS IN VITRO DE EXPLANTES MULTINODALES DE ARÁNDANO (*VACCINIUM CORYMBOSUM* L.) CV. BILOXI", para el Señor **JEFFERSON AUGUSTO ESPAÑA CUENCA**, estudiante de la **Universidad Nacional de Loja**, en la Facultad de Agropecuaria y Recursos Naturales Renovables, en la Carrera de Agronomía.

Lo certifico en honor a la verdad y autorizo al interesado hacer uso de éste en lo que estime conveniente.

Atentamente.



Firmado digitalmente por:
MICHAEL ALESSANDRO GRANDA PINTA



Mgtr. Michael Alessandro Granda Pinta.

N° de Registro Senecyt 1031-2020-2243621

