

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE AGRONOMIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES AGRONÓMICAS**

**"EFECTO DE CINCO DOSIS DE 2-ISOPENTENIL ADENINA (2iP), SOBRE LA
MICROPROPAGACIÓN DE SEIS VARIEDADES DE
ARANDANO (*Vaccinium ashei* R.)"**

**TESIS
PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA
DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

POR

GUSTAVO ADOLFO ROBLES SPILLARI

En el acto de investidura como

INGENIERON AGRÓNOMO

EN

**SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA
EN EL GRADO ACADEMICO DE
LICENCIADO**

Guatemala, mayo de 2003

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

RECTOR

Dr. M. V. LUIS ALFONSO LEAL MONTERROSO

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE AGRONOMIA

DECANO

Ing. Agr. Edgar Oswaldo Franco Rivera

SECRETARIO

Ing. Agr. Edil René Rodríguez Quezada

VOCAL PRIMERO

Ing. Agr. Walter Estuardo García Tello

VOCAL SEGUNDO

Ing. Agr. Manuel de Jesús Martínez Ovalle

VOCAL TERCERO

Ing. Agr. Erberto Raul Alfaro Ortiz

VOCAL CUARTO

Br. Werner Armando Ochoa Orozco

VOCAL QUINTO

Br. Juan Manuel Corea Ochoa

Guatemala, mayo de 2003

**HONORABLE JUNTA DIRECTIVA
HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR
FACULTAD DE AGRONOMIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

Distinguidos miembros:

De conformidad con las normas establecidas en la Ley Orgánica de la Universidad de San Carlos de Guatemala, tengo el honor de someter a vuestra consideración, el trabajo de tesis titulada:

**"EFECTO DE CINCO DOSIS DE 2-ISOPENTENIL ADENINA (2iP), SOBRE LA
MICROPROPAGACIÓN DE SEIS VARIEDADES DE
ARANDANO (*Vaccinium ashei* R.)"**

Como requisito previo a optar el título de Ingeniero Agrónomo en Sistemas de Producción Agrícola, en el grado académico de Licenciado.

Esperando que el presente trabajo de investigación llene los requisitos para su aprobación, suscribo.

Atentamente,

Gustavo Adolfo Robles Spillari

ACTO QUE DEDICO

A:

- DIOS** Por darme la vida y ser la fuente de toda sabiduría que me permitió llegar a éste momento.
- A MIS PADRES** Leonel Robles Estrada.
Gladys del Carmen Spillari de Robles.
Pilares fundamentales de mi vida, como una muestra de agradecimiento por sus múltiples esfuerzos y sacrificios para mi formación.
- A MIS HERMANOS** Gladys, Claudia, Leonel (+), Verónica y Jorge.
Como muestra de mi amor.
- A MIS SOBRINOS** Estuardo y Allan.
Con mucho amor.
- A MI ABUELO** Mario Augusto Spillari Alvarado.
Por el amor demostrado y por su incondicional presencia en cada momento.
- FAMILIA EN GENERAL** Con cariño y respeto.
- A VASTHI** Por su paciencia y amor en el transcurso de mi carrera universitaria.
- A LA FAMILIA
REYES LAPARRA** Por su apoyo incondicional.
- A MIS COMPAÑEROS
Y AMIGOS** José Salguero, Larry Paul, Rodrigo Gonzales, Juan Cox, David Keck, Fernando de León, Ilde Martinez, Gerardo Navarro, Juan Carlos Paz, Mario Gramajo, José Saravia, Estuardo, Ademar Samayoa, Mariela Melendez y Karin Muller; por las experiencias compartidas en el transcurso de esta etapa universitaria.

TESIS QUE DEDICO

A:

GUATEMALA

UNIVERSIS DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

FACULTAD DE AGRONOMIA

INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGRÍCOLAS

AL COLEGIO “LICEO GUATEMALA”

**TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE CONTRIBUYERON A MI
FORMACION**

AGRADECIMIENTOS

A:

MIS ASESORES

Ing. Agr. MSc. Héctor Alfredo Sagastume Mena.
Ing. Agr. MSc. Domingo Amador.
Ing. Agr. Luis Jerardo Molina.

Por su incondicional aporte, para la realización y orientación de la presente investigación en bien de la educación.

LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA DEL INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGRÍCOLAS (ICTA)

Por abrirme sus puertas y por los recursos invertidos en la realización en la investigación.

EL PERSONAL TÉCNICO Y ADMINISTRATIVO DEL LABORATORIO DE BIOTECNOLOGÍA DEL INSTITUTO DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGRÍCOLAS

COMITÉ DE PRODUCTORES DE ARANDANO, San Juan Chamelco, Alta Verapaz, por donar el material vegetal necesario para el efecto de la investigación:

Sr. Bob Makraski
Sr. Felipe Yurrita
Sr. Faustino Padilla

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	
ÍNDICE DE CUADROS	
RESUMEN.....	
1. INTRODUCCIÓN.....	
2. DEFINICIÓN DEL PROBLEMA.....	
3. JUSTIFICACIÓN.....	
4. MARCO TEÓRICO.....	
4.1 Marco Conceptual.....	
4.1.1 Descripción del cultivo.....	
4.1.1.1 Clasificación botánica.....	
4.1.1.2 Origen del cultivo de arándano.....	
4.1.1.3 Clima	
4.1.1.4 Suelo.....	
4.1.1.5 Riego.....	
4.1.1.6 Propagación.....	
4.1.1.7 Diseño de plantación.....	
4.1.1.8 Control de malezas.....	
4.1.1.9 Nutrición mineral.....	
4.1.1.10 Poda.....	
4.1.1.11 Fruto.....	
4.1.1.12 Cosecha y postcosecha.....	
4.1.1.13 Selección varietal.....	
4.1.1.14 Tipo de planta.....	
4.1.1.15 Variedades.....	
4.1.1.16 Descripción de variedades de ojo de conejo.....	
4.1.2 El cultivo de tejidos vegetales.....	
4.1.3 Explante.....	
4.1.4 Asepcia.....	
4.1.5 Medios de cultivo.....	
4.1.6 Cultivo de tejidos en el arándano.....	
4.1.6.1 Medios de cultivo para el arándano.....	
4.1.6.2 Regeneración de brotes.....	
4.1.6.3 Enraizamiento.....	
4.1.7 Principales factores físicos del ambiente de los cultivos.....	
4.1.8 Azúcar como fuente de energía.....	
4.1.9 Potencial del agua.....	
4.1.10 Efecto osmótico sobre los ingrediente del medio.....	
4.1.11 Senescencia y la inhibición de la división celular.....	

4.2	MARCO REFERENCIA.....	
4.2.1	Área en estudio.....	
4.2.2	Productores de arándano.....	
5.	OBJETIVOS.....	
6.	HIPÓTESIS.....	
7.	METODOLOGÍA.....	
7.1	Localización del experimento.....	
7.2	Material experimental.....	
7.3	Equipo e insumos.....	
7.4	Metodología experimental.....	
7.4.1	Desinfección del material.....	
7.4.2	Fase de iniciación.....	
7.4.3	Fase de propagación.....	
7.4.4	Medio de cultivo.....	
7.4.5	Siembra.....	
7.4.6	Variables de respuesta.....	
7.4.7	Modelo estadístico.....	
7.4.7.1	Unidad experimental.....	
7.4.7.2	Tratamientos.....	
7.4.7.3	Aleatorización.....	
7.4.7.4	Presentación de la información.....	
7.4.7.5	Análisis de la información	
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	
8.1	ETAPA DE INICIACIÓN.....	
8.1.1	Número de brotes.....	
8.1.2	Longitud de brotes.....	
8.1.3	Número de entrenudos.....	
8.1.4	Longitud de entrenudos.....	
8.1.5	Análisis conjunto de las variables de respuesta y dosis	
8.2	ETAPA DE PROPAGACIÓN.....	
8.2.1	Número de brotes.....	
8.2.2	Longitud de brotes.....	
8.2.3	Número de entrenudos.....	
8.2.4	Longitud de entrenudos.....	
8.2.5	Análisis conjunto de las variables de respuesta y dosis	
9.	CONCLUSIONES.....	

10. RECOMENDACIONES.....
11. BIBLIOGRAFÍA.....
 APÉNDICE.....

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Woodard en la iniciación.....
FIGURA 2. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Climax en la iniciación.....
FIGURA 3. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Tifblue en la iniciación.....
FIGURA 4. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Briteblue en la iniciación.....
FIGURA 5. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Brighthwell en la iniciación.....
FIGURA 6. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Premier en la iniciación.....
FIGURA 7. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Woodard en la propagación.....
FIGURA 8. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Climax en la propagación.....
FIGURA 9. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Tifblue en la propagación.....
FIGURA 10. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Briteblue en la propagación.....
FIGURA 11. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Brighthwell en la propagación.....
FIGURA 12. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Premier en la propagación.....

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO 1A. Prueba “t” para la variable número de brotes, etapa de iniciación.....
CUADRO 2A. Prueba “t” para la variable longitud de brotes, etapa de iniciación.....
CUADRO 3A. Prueba “t” para la variable número de entrenudos, etapa de iniciación.....
CUADRO 4A. Prueba “t” para la variable longitud de entrenudos, etapa de iniciación.....
CUADRO 5A. Prueba “t” para la variable número de brotes, etapa de propagación.....
CUADRO 6A. Prueba “t” para la variable longitud de brotes, etapa de propagación.....
CUADRO 7A. Prueba “t” para la variable número de entrenudos, etapa de propagación.....
CUADRO 8A. Prueba “t” para la variable longitud de entrenudos, etapa de propagación.....
CUADRO 9A. Composición del medio de Lyrene (1980).....
CUADRO 10A. Lista de los reactivos para el medio de Lyrene (1980), y sus precios.....
CUADRO 11A. Costo por litro de medio de cultivo.....
CUADRO 12A. Tratamientos evaluados.....

"EFECTO DE CINCO DOSIS DE 2-ISOPENTENIL ADENINA (2iP), SOBRE LA MICROPROPAGACIÓN DE SEIS VARIEDADES DE ARANDANO (*Vaccinium ashei* R.)"

"EFFECT OF FIVE DOSAGES OF 2-ESOPENTINIL ADENINA (2iP), ON THE MICROPROPAGATION OF SIX VARIETIES OF BLUEBERRY (*Vaccinium ashei* R.)"

RESUMEN

El cultivo de arándano se encuentra en expansión en Latino América en países como Chile y Argentina que importaron plantas de invernaderos de los Estados Unidos, con costos bastante elevados y con problemas fitosanitarios. Al igual que estos países, algunos agricultores Guatemaltecos se abastecieron de plantas de la misma forma, teniendo altos costos de transporte y bajo porcentaje de pegue de las plantas importadas.

Actualmente la demanda del fruto del arándano es alto a nivel nacional, por lo que el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) y la Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales (AGEXPRONT), diseñaron el programa de fomento de las exportaciones agrícolas no tradicionales, en donde el cultivo de arándano ocupa una de las alternativas para su expansión, exportación y diversificación en el país.

Para poder absorber la problemática de los altos costos por la importación de las plantas y con el objetivo de poner en disposición plantas a los agricultores guatemaltecos, se realizó en el laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), la presente investigación, que tuvo como objetivo evaluar el Efecto de 5 dosis de 2 isopentenil adenina (2iP), sobre la micropropagación de seis variedades de arándano.

Para la interpretación de los resultados se hizo un análisis de medias por medio de una prueba "t" al 15 %, en donde se evaluaron 30 tratamientos para cada una de las etapas que fueron: etapa de iniciación y la etapa de propagación; para las cuales se evaluaron las siguientes dosis de 2iP: 5, 10, 15, 20 y 25 mg/l, en 6 variedades de arándano: Woodard, Climax, Tifblue, Briteblue, Brighthwell y Premier. Para evaluar el efecto de los tratamientos se consideraron 4 variables de respuesta, que fueron: número de brotes, longitud de brotes, número de entrenudos y longitud de entrenudos, tomando los datos a los 3 meses de la siembra y a los 2 meses del primer subcultivo.

Luego del análisis de los resultados se recomendaron la dosis mas adecuada para cada una de las variedades en sus etapas evaluadas; para la etapa de iniciación, para la variedad Climax y Tifblue se recomienda la dosis de 5 mg/l, para la variedad Briteblue se recomienda la dosis de 10 mg/l, para la variedad Woodard se recomienda la dosis de 15 mg/l y para las variedades Brighthwell y Premier se recomienda la dosis de 20 mg/l. Para la etapa de propagación se recomiendan las siguientes dosis: para la variedad Woodard la dosis de 10 mg/l, para las variedades Briteblue y Tifblue la dosis recomendada es la de 15 mg/l, para la variedad Climax se recomienda la dosis de 20 mg/l, y para la variedad Brighthwell se recomienda la dosis de 25 mg/l.

1. INTRODUCCION

El cultivo de arándano se encuentra en expansión en el hemisferio sur, principalmente en Chile y Argentina, debido que abastecen a los mercados internos de los países del norte (Estados Unidos, Canadá y algunos europeos). Guatemala, al igual que estos países, se abastecieron de los materiales importándolos principalmente de Norteamérica.

El arándano se puede propagar por semilla con fines de investigación y/o desarrollo de nuevas variedades, además, también se puede propagar por estacas, puede parecer relativamente fácil pero, tiene una serie de complicaciones que se traducen en un bajo rendimiento en el enraizamiento o en la propagación de enfermedades indeseables para el cultivo. Los arándanos son una de las pocas especies frutales en que la propagación *in vitro* puede realizarse exitosamente. La técnica utilizada consiste en medios nutritivos que contengan macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, aminoácidos y reguladores de crecimiento, en la actualidad, en países como Chile, la micropropagación es la forma más utilizada debido a la alta demanda de plantas, la seguridad sanitaria que se ofrece al productor, y a la escasa disponibilidad de material de plantas madres adultas.

Antes de realizar algún proyecto de producción de arándanos, por medio de la micropropagación, es necesario evaluar el nivel de 2 isopentenil adenina (2iP) requeridos para el establecimiento y propagación.

En este trabajo se evaluaron cinco dosis de 2iP sobre seis variedades, para determinar su efecto sobre el establecimiento de yemas axilares y la propagación de microesquejes.

Esta investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), ubicado en el kilómetro 21.5 sobre la carretera a Amatitlán, Bárcena, Villa Nueva, Guatemala.

2. DEFINICION DEL PROBLEMA

En la actualidad al abastecimiento de plantas de arándano, para la siembra, es por medio de la importación del material, pero con costos altos, además, existe una pérdida de un 20 a 30% de plantas, debido al tiempo que se lleva en el transporte y en las aduanas.

La actual propagación que se realiza por los agricultores es la asexual, es decir, utilizando los hijuelos, pero la metodología es bastante compleja y, además, no se logra en la mayoría de las variedades existentes en el país.

La propagación por medio de cultivo de tejidos vegetales es una técnica, relativamente reciente, que permite reproducir grandes cantidades de plantas en un tiempo corto y con alta calidad genética y fitosanitaria. Actualmente no existe información generada internamente en el país, relacionada con la micropropagación del arándano, específicamente en lo que respecta a la metodología de establecimiento y propagación *in vitro*.

3. JUSTIFICACION

La Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales (AGEXPRONT) y el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA), han diseñado un programa de fomento de las exportaciones agrícolas no tradicionales, en donde se considero el establecimiento del arándano, con el propósito de fomentar dicho cultivo (15).

Para poder proveer al agricultor guatemalteco de plantas de arándano de alta calidad genética y fitosanitaria, la micropropagación es una alternativa que puede ser viable tanto a nivel técnico como económico, debido a las ventajas que ofrece esta técnica.

Las ventajas comparativas que nos proporcionan los microclimas de Guatemala hacen posible estimar técnicamente viable y económicamente rentable el establecimiento del cultivo de arándanos y que busca fomentar la diversificación actual de la oferta agrícola exportable.

Es de vital importancia conocer el nivel de 2-isopentenil adenina más adecuados para el establecimiento y propagación de las variedades en estudio de arándano de la especie *Vaccinium ashei*, antes de llevar a cabo un proyecto de propagación masiva.

4. MARCO TEORICO

4.1. MARCO CONCEPTUAL

4.1.1 Descripción del cultivo

Arbustos o árboles pequeños, glabrous o pubescente, sobre todo terrestres; hojas sobre todo pequeñas y persistentes, raramente membranosas, a menudo coriáceas, entero o serrado; flores pequeñas, blanco o rosado, en racimes o los fasciculos axilares o terminales, raramente solitarios (23).

Este arándano es un arbusto perenne que en su forma nativa alcanza unos 2 a 4 m de altura. Es deciduo o de hoja caediza. El hecho que se produzca una abscisión de hojas a fines de otoño o principios de invierno es una respuesta típica de una planta que debe prepararse para entrar a un receso vegetativo (23).

Este tipo de plantas tiene en las hojas un sensor (el fitocromo) que es capaz de recibir una señal que le indica que los días se van acortando (va llegando el otoño) y que, por lo tanto, las temperaturas empezarán a bajar y podrían llegar a niveles que destruyeran los tejidos más tiernos de la planta (23).

Como respuesta a esta señal, la planta se prepara para entrar en un receso invernal, iniciando un proceso de lignificación de tallos y encapsulado de puntos de crecimiento con brácteas o escamas resistentes. La idea es presentarse al ambiente sin elementos en actividad, con un metabolismo muy bajo, ya que estos serían fácilmente destruidos por las temperaturas bajas que mencionaron anteriormente (23).

Así y todo, si las temperaturas son extremadamente bajas, la corteza de la planta puede sufrir quemaduras y dañarse el floema que recorre el tronco, poniendo en peligro el sistema conductivo de productos de la fotosíntesis y el suplemento adecuado de reservas para el crecimiento de las raíces (23).

Para salir de esta condición de receso, la planta caducifolia tiene un mecanismo de control que reactiva el crecimiento sólo cuando sus yemas han acumulado un cierto número de horas en que las temperaturas han estado bajo los 7° C y que es característico para la especie. Cumplido este requerimiento de frío la planta entra ahora en un estado de latencia del cual saldrá tan pronto como las temperaturas ambientales sean favorables al crecimiento (23).

La especie arándano necesita acumular entre 650 a 850 horas de frío como mínimo para romper su receso, lo que de por sí pone, entonces, un límite a los lugares geográficos en que se podrá cultivar. El rango se debe a que no todos los cultivares (término preferible a "variedad") de la especie tienen los mismos requerimientos (23).

4.1.1.1 Clasificación botánica

REINO	PLANTAE
SUBREINO	EMBRYOBYONTA
DIVISIÓN	MAGNOLIOPHYTA
SUBDIVISION	ANGIOSPERMAE
CLASE	DICOTYLEDONAE
SUBCLASE	DILLENIIDAE
ORDEN	ERICALES
FAMILIA	ERICACEAE
SUBFAMILIA	VACCINIOIDEAE
GENERO	<i>Vaccinium</i>
ESPECIES	<i>V. ashei</i> Readel

4.1.1.2 Origen del cultivo de arándano

Los arándanos pertenecen a un grupo de especies de plantas nativas principalmente del Hemisferio norte que pertenecen al género *Vaccinium* de la Familia de las Ericáceas. A esta familia de plantas los botánicos le han estimado una edad de más de 13.000 años (22).

El arándano o blueberry (*Vaccinium sp.*), es un frutal menor nativo de Norteamérica, considerado dentro del grupo de los berries, y fue introducido a Chile a principios de la década de los ochenta. Existen tres tipos de arándanos: el arándano "alto" (highbush), *Vaccinium corymbosum* L. , el arándano " ojo de conejo" (rabbiteye) *V. ashei* R., y el arándano "bajo" (lowbush), *V. angustifolium* (21).

El arándano ojo de conejo es una especie hexaploide, que alcanza alturas de hasta 4 metros, su domesticación es más reciente. Es nativa del sur del Continente norteamericano (21).

4.1.1.3 Clima

Los arándanos se desarrollan satisfactoriamente en los más diversos climas por ejemplo, en los Estados Unidos se cultivan desde el norte en el Estado de Washington hasta el sur en Florida y desde el Oeste en California hasta el este en Nueva Jersey (22).

4.1.1.4 Suelo

La preparación del suelo en el cultivo de los arándanos es uno de los factores más importantes para el éxito de la plantación.

Requiere suelos ácidos, bien drenados y que fundamentalmente no retengan el agua anegándose por periodos prolongados (22).

El arándano demanda del suelo ciertas condiciones, siendo la principal que el pH debe ser mantenido entre 4.0 y 6 dependiendo de las variedades de plantas (22).

4.1.1.5 Riego

Debido a las características del cultivo, suelo y de las técnicas de manejo del mismo, se recomienda el uso de riego por goteo, el que además brinda la posibilidad de fertilizar muy eficientemente la plantación (22).

4.1.1.6 Propagación

La propagación se puede conseguir por medio de semillas y vegetativamente por medio de vástagos y estacas de las raíces. Además de la propagación *in vitro* a través del cultivo de tejidos (13).

4.1.1.7 Diseño de la Plantación

Las plantaciones comerciales generalmente se establecen sobre camellones separados entre sí a 3 metros de distancia y con una separación entre plantas de 1.5 m lo que significa colocar 2,222 plantas por

hectárea, aunque en la actualidad muchas variedades comerciales se están plantando con densidades que superan las 5,000 plantas por hectárea (22).

4.1.1.8 Control de Malezas

Se deben controlar muy especialmente las malezas puesto que compiten muy directamente con la plantación, debido a lo superficial de su sistema radicular (22).

4.1.1.9 Nutrición mineral y Fertilizantes

Una plantación realizada sobre un suelo bien preparado no requiere complicadas fertilizaciones post plantación (22).

El principal elemento que se le debe adicionar a una plantación comercial es Nitrógeno; los arándanos pueden tolerar pequeñas cantidades de este elemento en forma simultánea pero debe suministrárselo durante todos los estadios de crecimiento para un saludable desarrollo de la planta (22).

El momento crítico es durante el crecimiento del fruto, ya que durante el mismo se produce el desarrollo de las yemas florales que nos darán la producción del año siguiente (22).

4.1.1.10 Poda

La poda que se realiza es de formación y no de fructificación, esta se realiza al final de la estación de la fruta con el fin de mantener el arbusto dentro de una altura manejable para la cosecha (22).

Además deben eliminarse las ramas viejas improductivas para permitir la entrada de luz, abriendo el centro de la planta (22).

4.1.1.11 Fruto

El fruto del arándano es una baya, de forma esférica que puede variar en variedades comerciales de 1 a 2 cm de diámetro, de color azul intenso y con una epidermis recubierta de una cerocidad característica (22).

La mayor durabilidad post cosecha que presenta el arándano con respecto a otros berries (frambuesa, boyseberry, frutilla), de hasta treinta días, esta dada por la consistencia del fruto y por su cutícula cerosa (epicarpio) (22).

4.1.1.12 Cosecha y Postcosecha

La cosecha puede realizarse en forma manual o en forma mecánica. Esta última es posible gracias a dos características principales de la planta:

Su porte erecto (las plantas pueden "pasar" dentro de las maquinas diseñadas para tal fin) y los frutos de variedades adecuadas pueden ser sometidos a la cosecha mecánica ya que presentan una consistencia tal que lo habilita para dicho proceso (22).

En el manejo de la post-cosecha antes, durante y luego del envasado, el procedimiento fundamental en este proceso es la inmediata aplicación de frío para preservar la calidad del fruto hasta su consumo.

4.1.1.13 Selección Varietal

La adecuada selección varietal es de vital importancia, puesto que de esta depende la fecha de fructificación, calidad de la fruta y la posibilidad de utilizar la cosecha mecanizada (22).

Para poder realizar una elección adecuada debemos tener en cuenta el lugar a implantar, estar seguro donde fueron propagadas y criadas las plantas puesto que existen zonas de enfermedades endémicas importantísimas como, Michigan y Carolina del Norte, en USA (22).

Otro factor a tener en cuenta es la certificación varietal, son de público conocimiento los graves problemas que tiene Chile con la indeterminación varietal en muchos de sus cultivos y, lo que es peor, en algunos de sus viveros (22).

4.1.1.14 Tipo de Plantas

Se puede obtener sus plantas a través de dos vías, importándolas a raíz desnuda (ya que esta es la única forma de ingresar plantas a nuestro país), o adquiriéndolas en un vivero en Argentina (22).

Cuando se decide a importar, generalmente se sale a buscar plantas por el mundo entero, teniendo esta opción el sabor de lo desconocido, porque podemos saber lo que queremos comprar pero no lo que nos van a entregar (22).

La gran diferencia esta dada cuando tenemos la alternativa de ver desarrollándose y elegir las plantas que nos llevaremos al campo, alternativa que nos permite chequear a simple vista el vigor y el estado sanitario.

Existen básicamente dos tipos de plantas:

A. *A raíz desnuda, recién importadas:*

Estas plantas vienen de muy lejos y han sufrido el estrés de haber sido desplantadas, habérsele lavado fuertemente sus raíces y alterarles el ciclo vegetativo por el cambio de hemisferio.

Como podemos imaginar, todo esto es causa mas que suficiente para tener una mortandad elevada y un atraso en el arranque de la plantación. Esta se incrementa si la preparación por parte del exportador no es la adecuada (pudiendo llegar al 100% de pérdidas), no cualquier viverista tiene la experiencia necesaria para la preparación de las plantas en origen. La ventaja es el menor costo de las plantas (22) .

B. *Plantas enmacetadas y aclimatadas:*

En este caso las plantas están creciendo en una maceta, ya superaron su estrés en ella y se encuentran en fase con nuestra estación.

Las plantas van al campo con sus panes de tierra teniendo pérdidas realmente insignificantes (ya que estas las absorbió el viverista local).

La aclimatación, la reducción de la mortandad, la rápida y uniforme entrada en producción, y el fácil manejo de las plantas hacen que sea una alternativa segura y, aunque más cara, resulta más económica. (22)

4.1.1.15 Variedades

En la actualidad se han producido un número creciente de variedades, que en E.U.A. alcanzan a más de 50 para el caso del arándano alto y de más de 30 para el ojo de conejo. Todas ellas han sido producidas por el USDA, instituciones estatales de investigación, o por programas cooperativas entre estas instituciones (22).

Las variedades de arándano se agrupan tomando en consideración la zona en que han sido desarrolladas, junto con algunas características morfológicas sobresalientes. Estos grupos son:

A. Arándano alto de bajo requerimiento de frío

En este grupo se incluyen variedades como: O`Neal , Blue Ridge y Cape Fear, de North Carolina; Flordablue, Sharpblue y Avonblue, de Florida; Georgiagem de Georgia; Cooper y Gulf Coast, de Missisipi. La principal característica de estas variedades es el bajo requerimiento de frío invernal, lográndose producciones muy tempranas y tardías en zonas como Florida, Carolina del Norte, y California (22).

La creación de estas variedades ha permitido ampliar en forma notable el periodo de producción de arándanos en Estados Unidos, alcanzándose precios muy altos debido al escaso abastecimiento de fruta en esa época en el hemisferio norte. No obstante, las productividades y la calidad obtenida de estas variedades aun es inferior al tradicional arándano alto del norte (22).

B. Arándanos de alto requerimiento de frío

Las variedades tradicionales de arándano alto se encuentran en este grupo, destacándose las siguientes como promisorias para Chile :

- a. Variedades tempranas: Duke, Sunrise, Bluechip, Spartan.
- b. Media estación: Bluejay, Bluecrop, Sierra, Nelson, Darrow, Blueray, Patriot.

c. Tardías: Brighitta, Elliot.

C. *Arándanos de tamaño medio*

En este grupo se ubican una serie de variedades que han resultado de la hibridación del tradicional arándano alto con el arándano bajo (lowbush). El objetivo de la creación de estas variedades es obtener arbustos más resistentes a condiciones de frío extremo y nieve en invierno, junto con un menor tamaño de la planta.

Las variedades que destacan en este grupo son: Northland, Northblue, Tophat, Northsky, Northcountry.

D. *Arándanos ojo de conejo (Rabbiteye)*

Las variedades de este grupo presentan en general una mayor adaptabilidad a condiciones edáficas adversas y, por lo general, su producción es más tardía que el arándano alto. La planta es de mucho mayor tamaño, por lo que se requieren mayores distancias de plantación, y la fruta por lo general no goza de las mismas cualidades organolépticas que el arándano alto. (22)

4.1.1.16 Descripción de variedades de ojo de conejo

A. Briteblue (de temporada) es moderado vigoroso y crece vertical y abierto. Las bayas son azules, grandes, muy firmes ligeros, y de buen sabor cuando completamente son maduras. La estación de maduración está generalmente antes de Tifblue. Las bayas se recolectan manualmente fácilmente porque maduran uniformemente dentro de racimos. Las bayas maduras tienen tiempo de la retención larga en la planta y son una opción excelente para escoger sus propias operaciones. Requiere 400-650 horas frío (24).

B. Clímax (estación temprana) crecen verticales y se abren, y son moderadas en el vigor. Las bayas son medias al azul grande, medio en color, tienen una cicatriz pequeña, y tienen un sabor aromático excelente. La maduración de la fruta comienza 3-5 días antes de Woodard. Ha concentrado la maduración con pocos fruta demasiado madura. Este cultivar es excelente para cosechar mecánico. Requiere 450-500 horas frío (24).

- C. Tifblue** (mediados de--tarde a la estación) hacen el crecimiento vigoroso, vertical. Esto ha sido un buen cultivar comercial del punto de vista del aspecto, de la productividad, y de las calidades del envío. Sin embargo, la mayoría de los años la fruta madura demasiado tarde para recibir altos precios de mercado fresco. El medio a grande, bayas azules de la luz es muy firme con una cicatriz excelente de la cosecha y un buen sabor. Se adaptan bien para cosechar mecánico para el mercado procesado pero marginal se adaptan para mecánicamente cosechar para el mercado fresco. Las bayas de este cultivar, como Woodard, son muy agrias hasta completamente maduro. Las bayas tienen un rato de la retención larga en la planta después de que sean maduras. Requiere 550-650 horas que se frío (24).
- D. Woodard** (estación temprana) es corta estación para un arándano del ojo de conejo y produce muchos vástagos. La planta brota sobre un área de 3-4 pies en 6-10 años. Las bayas son azules y grandes ligeros para su estación. La calidad de las bayas es buena cuando son completamente madura, pero son muy agria hasta entonces. Woodard madura 7-10 días antes de Tifblue. No hace bien en las montañas del sur este y es una opción pobre para el envío del mercado fresco porque es demasiado suave. Requiere 350-400 horas frío (24).
- E. Brightwell** (estación en Georgia del sur, de temporada tempranos en Carolina del norte) son vigorosas y verticales. Las bayas son medias a grande, tienen las cicatrices pequeñas, secas del vástago, el sabor medio, y firmeza excelente. Brightwell madura sobre un período relativamente corto que comienza después de clímax y de la estación casi igual como Woodard. Es una variedad excelente para cosechar mecánico para el mercado fresco. Requiere 350-400 horas frío (24).
- F. Premier** (estación temprana) es vigoroso, productivo. Los bastones en las plantas jóvenes son bastantes y pueden tener dificultad el apoyar de una carga pesada de la fruta. Tiene color, tamaño, y sabor excelentes. Se recomienda para el ensayo en la Florida del norte y hacia el norte. Requiere 550 horas frío (24).

4.1.2. EL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

A. Antecedentes Históricos

La técnica del cultivo de tejidos se basa en el cultivo de explantes de planta en medios sintéticos con condiciones controladas, con el objeto de proveer al explante un ambiente similar al que tendría en

condiciones naturales o se define como: "el cultivo de células, tejidos y órganos extraídos de plantas, que se mantienen bajo condiciones artificiales y permite reproducir plantas que poseen todas las características de las plantas madre", o sea que es una técnica de propagación vegetativa en condiciones artificiales. El cultivo de tejidos *in vitro* fue desarrollado al darle aplicación al fenómeno de la TOTIPOTENCIA, que forma parte de la teoría celular actual. El pionero en este campo fue Alexis Carrel, quien a principios del siglo XX consiguió cultivar células animales *in vitro* (3, 17, 18).

La totipotencia de una célula está definida como la calidad de desarrollar a un individuo completo, basado en que toda célula contiene la información genética necesaria para dar origen a un individuo completo. Este término fue acuñado por Morgan en 1901 (4, 5, 14).

El desarrollo histórico del cultivo de tejidos está lleno de descubrimientos que han tenido una aplicación casi inmediata a la mayoría de las ciencias básicas, tales como: la Fitopatología, Entomología e Ingeniería Genética, entre otras. Actualmente constituye una herramienta en el estudio de una serie de fenómenos celulares que no fueron bien comprendidos anteriormente, tales como las interrelaciones entre los tejidos y las correlaciones que se dan en órganos, el papel de algunos componentes y otros que solamente bajo condiciones *in vitro* pueden ser analizados al eliminar una serie de factores que interfieren bajo condiciones *in situ*. Haberlandt, en 1902, fue el pionero en el intento de cultivo de células vegetales *in vitro*. Pero hubo que esperar a que J. P. White, en 1934, resolviera el problema al lograr cultivar células de Apices de raíces de tomate (11, 20).

La aplicación de la técnica tuvo lugar cuando White observó que los meristemas apicales de las raíces de tomate subcultivados regularmente sobre un medio de cultivo estaban generalmente indemnes a los virus. (11, 17).

El cultivo de tejidos permite la propagación clonal rápida de un gran número de plantulas en un periodo breve, y la conservación de germoplasma de papa bajo condiciones controladas, en espacios pequeños y con poca mano de obra (4).

B. *Ventajas del Cultivo de Tejidos*

- a. Propagación acelera: es posible, teóricamente, para obtener en el término de nueve meses, a partir de una sola planta.
- b. Ahorro y ganancia de espacio: en espacio reducido es posible mantener cantidades considerables de clones que servirá como semilla en el campo, por área disponible. El cultivo de tejidos permite hacer uso del área vertical, acumulando varios niveles para el efecto.
- c. Disponibilidad inmediata y permanente: permite el acceso oportuno a la micropropagación en épocas en que las condiciones del campo no son las adecuadas.
- d. Ausencia de infecciones y factores climáticos adversos: debido a las condiciones asépticas en que se tienen los explantes están libres de contaminantes, por lo que se cuenta con material que tiene la capacidad de someterse a las pruebas mas rigurosas de cuarentena (11, 17).

El Centro Intemacional de la Papa (CIP) mantiene una colección de germoplasma de papa de, aproximadamente, 6,000 clones. Esta colección es considerada como fuente de diversidad genética aprovechable por los fitomejoradores en los programas de investigación de la papa. La colección en el campo están expuesta a una amplia gama de riesgos como: enfermedades infecciosas o condiciones climáticas adversas y su mantenimiento en el campo es costoso. La colección de germoplasma *in vitro* posee varias ventajas sobre el mantenimiento en el cuerpo, las que se detallan a continuación:

- a. Menores costos de mano de obra.
- b. Disponibilidad permanente de material para exportación.
- c. Acceso oportuno a material para eliminación de patógenos.
- d. Ausencia de infecciones de campo.
- e. Ausencia de peligros ambientales como granizadas y heladas (3).

4.1.3. Explante

El explante es una parte de un tejido o de un órgano que se aísla del resto de la planta con fines de cultivo. La selección del explante puede hacerse teniendo en cuenta el sistema de propagación de la planta (19).

La elección de un explante apropiado constituye el primer paso para el establecimiento de los cultivos; la elección está determinada por el objetivo perseguido y la especie vegetal utilizada. En el caso de especies propagadas vegetativamente, los brotes jóvenes y los ápices meristemáticos han sido generalmente una fuente rica de explantes (19).

4.1.4 Asepcia

La asociación explante-medio y las condiciones físicas en que normalmente se incuban los cultivos, conforman un ambiente propicio para la proliferación de microorganismos (hongos y bacterias), los cuales pueden destruir tales cultivos, competir con el explante por el medio de cultivo o modificarlo. Uno de los principales aspectos básicos que se debe tener en cuenta para el éxito es evitar contaminaciones con microorganismos, no solamente en el proceso de establecimiento de los cultivos sino también en los procesos de incubación y manipulación (12).

Para establecer cultivos asépticos es conveniente y/o necesario tomar en cuenta lo siguiente:

- a. Trabajar en ambientes adecuados.
- b. Esterilizar adecuadamente los medios de cultivo.
- c. Desinfectar superficialmente los explantes, liberándolos de bacterias y hongos exógenos.
- d. Realizar los cultivos respetando ciertas normas de asepcia (12).

4.1.5 Medios de Cultivo

A. Reguladores del crecimiento

En el cultivo de tejidos se utilizan propiamente cuatro grupos :

a. *Auxinas*: las auxinas comprenden una gran familia de sustancias que tienen en común la capacidad de producir un agrandamiento y alargamiento celular, mas sin embargo, se haciendo al mismo tiempo que promueven la división celular en el cultivo de tejidos (5). Entre las principales auxinas tenemos: AIB (Acido indolbutirico), que se utiliza en un rango de 0.1 a 10 mg/1; AIA (Acido indolbutirico) que se utiliza en un rango de 0.1 a 10 mg/1; PCA (Acido paracloro fenoxiacético), que se utiliza en un rango de 0.001 a 10 mg/1; ANA (Acido naftalcético) y el 2,4-D (Acido 2,4-diclorofenoxiacético) (6). Existen varias auxinas denominadas "auxinas naturales", estas incluyen AIA el cual es un compuesto de mayor utilización entre las auxinas naturales, indol-3-acetonitrilo, etilindol-3-acetato, indol-3- carboxialdehido, indol-3-acetaldehido, indol-3-acetamida, Acido indol-3-carboxilico, Acido indol-3-propiónico, Acido 5-hidroxiindol-3-acético, ácido indol-3-acetilaspártico y otras (8).

b. *Citocininas*: *Skoog et al. (1955)* propusieron el término *cinica* como un nombre genérico para las citocininas promueven la división celular y organización de callos. Las más utilizadas son: BAP (bencilaminopurina) o BA (benciladenina); 2iP (N⁶-2-isopentyladenina), cinetina zeatina, en concentraciones de 0.03 a 30 mg/1. La BA es la citocinina de empleo más generalizada. La cinetina estimula la formación de brotes y yemas adventicias.

c. *Acido giberélico*: luego de su aislamiento a partir del hongo *Gibberella fujikuroi*, el Acido giberélico (AG) se convirtió en un tema de intensa investigación, aunque la adición de este compuesto a los medios de cultivo de tejidos ha sido ocasional a pesar de sus efecto fisiológicos tan amplios. Se sabe que hay varias giberelinas, relacionadas con el AG, que son productos complejos del metabolismos del hongo o de plantas superiores, y que son capaces de intervenir en el crecimiento de muchas plantas ocasionando especialmente un alargamiento celular (8). El ácido giberélico promueve la elongación y reprime la formación de brotes de cualquier clase de tejido organizado (10).

d. *Acido abscisico*: este Acido se utiliza en casos muy especiales, ya que estimula la sincronización durante la etapa de embriogénesis en diferentes cultivos, también inhibe el crecimiento (5).

B. *Interacción de reguladores de crecimiento*

En micropropagación, principalmente, se utilizan citocininas y auxinas como reguladores de crecimiento. Pero lo más importante es la proporción y cantidad de las mismas (19).

C. *Aminoácidos*

Ningún aminoácido es esencial para el crecimiento de tejidos *in vitro*, sin embargo, existen varios que se han utilizado experimentalmente. Los aminoácidos proporcionan una fuente inmediata de nitrógeno al tejido y su asimilación puede ser más rápida que el nitrógeno inorgánico proporcionado por el medio (5).

Las funciones principales de los aminoácidos en los sistemas *in vitro* son: la glutamina y asparagina son aportadores de nitrógeno; L-arginina estimula la formación de raíces; L-serina es empleada en cultivo de microsporas; y L-cisteina es un agente reductor (5).

D. *Vitaminas*

Las plantas verdes se consideraban normalmente autótrofos para las vitaminas, pero puede ser necesario añadir al medio algunas de ellas, hasta cuando los cultivos crezcan o se hayan vuelto verdes. En la mayoría de los medios la tiamina, la piridoxina y el ácido nicotínico se consideran benéficos y se añaden de forma rutinaria. Las vitaminas son necesarias para llevar a cabo una serie de reacciones catalíticas en el metabolismo y son requeridas en pequeñas cantidades. Las vitaminas más empleadas son: tiamina (vitamina B₁) se añade como tiamina HCl en cantidades que varían de 0.1 a 30 mg/l. Esta es realmente la vitamina esencial para el crecimiento de células vegetales. Ácido nicotínico (niacina); Piridoxina (vitamina B₆): se añade como piridoxina HCl; mio-inositol: no es propiamente una vitamina, sino un azúcar-alcohol. Tiene un efecto estimulante sobre la morfogénesis partiendo, probablemente, en la vía biosintética del ácido galacturónico. Vitamina E: ayuda a la formación de callos que provienen de embriones y, en cultivos en suspensión, ayuda a la viabilidad de células. El ácido pantoténico ayuda al crecimiento de ciertos cultivos. El ácido fólico disminuye la proliferación de tejido en la oscuridad, mientras que en la luz aumenta, esto es debido a que en presencia de luz es hidrolizado a ácido p-aminobenzóico y la riboflavina que es un inhibidor del crecimiento de raíces (5).

E. *Carbohidratos*

Los carbohidratos son utilizados frecuentemente como fuente de energía y como "reguladores osmóticos". La sacarosa es el azúcar empleado universalmente. A la sacarosa le siguen, en importancia, la glucosa, maltosa, rafinosa, lactosa, manosa, fructosa y galactosa (5).

F. Agua

El agua es utilizada para la preparación de soluciones. Necesariamente el agua debe ser bidestilada, tridestilada y/o desmineralizada. De cualquier manera el empleo de un destilador de vidrio es requerido en el proceso de la destilación final del agua (5).

G. Sales inorgánicas

a. **Macronutrientes:** los tejidos en cultivo requieren de una fuente continua de compuestos inorgánicos. Además del carbono (C), hidrógeno (H) y oxígeno (O), los elementos más requeridos, principalmente, son: nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg) y azufre (S) (5).

b. **Micronutrientes:** para una adecuada actividad metabólica las células vegetales requieren de cierta cantidad de micronutrientes. Los más esenciales son: hierro (Fe), manganeso (Mn), zinc (Zn), boro (Bo), cobre (Cu), cobalto (Co) y molibdeno (Mo). Los últimos cinco elementos son fundamentales para la síntesis de clorofila y la función de los cloroplastos (5).

H. Agentes solidificantes

Comúnmente se ha utilizado el agar como un sistema de soporte para la preparación de medios sólidos o semisólidos. Las principales ventajas que representa el agar son:

- a. El agar no es alterado por las enzimas vegetales.
- b. El agar no reacciona con los constituyentes del medio.
- c. El agar no interfiere con la movilización de los constituyentes del medio.
- d. El agar con el agua forma geles que se derriten a 100 grados centígrados y se solidifican a 45 grados centígrados. Esto significa que este gel es estable a todas las temperaturas de incubación.

Otros compuestos se han empleado para substituir el agar, sin embargo, pocos han tenido éxito. Posiblemente el compuesto que más popularidad ha alcanzado es el "Gelrite" (5).

I. Suplementos no definidos

Algunos de los suplementos más utilizados son:

- a. Levadura y extracto de malta: la levadura y el extracto de malta de cebada generalmente se suministran en concentraciones de 0.5% hasta 1% v/v. Estas dos sustancias se pueden considerar también como buenas fuentes de nitrógeno reducido y de precursores potenciales de las adenil-citocininas (5, 9, 10).
- b. Caseína hidrolizada (CH): la CH digerida enzimáticamente se ha utilizado de forma rutinaria como un suplemento de medios de cultivo para plantas. Esta caseína es preferida porque la hidrólisis ácida destruye todo el triptófano presente en la sustancia (9).
- c. Agua de coco: el agua de coco es un medio complejo, con una amplia gama de componentes orgánicos e inorgánicos, tiene buena capacidad de amortiguación (buffer) y no es raro encontrar sales en ella. Aunque el agua de coco es muy rica en magnesio y fosfato, no todos los elementos minerales que contienen son indispensables, y se pueden reemplazar por un medio salino basal. Su contenido de azúcar es de alrededor de 2.5% (9, 10).
- d. Absorbentes: uno de los principales absorbentes es el carbón activado (5).
- e. Antioxidantes: uno de los compuestos más utilizados como antioxidante es el ácido ascórbico (5).

4.1.6 Cultivo de Tejidos en el arándano

La propagación de los arándanos se lleva a cabo en gran parte por brotes, aunque la regeneración directa es posible. Los explantes que provienen de plantas adultas son más difíciles de establecer que de material joven, muchos no sobreviven y el índice de crecimiento inicial es bajo. Algunos de los explantes restantes producen brotes largos y gruesos, pero otros pueden dar brotes pequeños y filamentosos y entrenudos cortos. Los brotes de la última clase son similares a los producidos en semillero y tienen la misma alta capacidad para la supervivencia y proliferar (Lyrene, 1980) (8).

Donde es necesario utilizar explantes de plantas adultas, se recomienda que la selección sea de buena calidad y estos se coloquen en un medio con una concentración baja de iones, tal como el MS de sales, mas vitaminas y crecen lentamente hasta que se establecen (Uosukainen, 1987). Es también recomendable colocar gran cantidad de brotes en medio liquido, y esto es debido a que solo en pequeñas proporciones es probable que sobrevivan y den yemas axilares rejuvenecidas (8).

Para iniciar un cultivo, la utilización de las puntas de brotes o yemas axilares se transfieren a un medio semi-sólido o una técnica alternativa descrita por Smagula y Lyrene (1984), las secciones esterilizadas de los brotes, de varios centímetros de largo (de las cuales son hojas se hayan retirado), sean sembrados en un tubo semi sellado con medio semi-liquido. Algunos de estos explantes producen brotes axilares con varios entrenudos después de 8 semanas de incubación, luego se hacen cortes del explante, cada dos nudos y se colocan horizontalmente en la superficie fresca de un medio semi-sólido. Zimemerman y Broone (1980), colocaron puntas de brotes largos horizontalmente en un medio de agar semi-sólido (8).

En cultivos establecidos, numerosos brotes aumentan por un subcultivo adicional por segmentos de nudo. En algunos experimentos se han reportado y obtenido incubaciones satisfactorias en 16 horas de photoperiodo y a temperaturas de 22 - 25°C (8).

4.1.6.1 Medios de cultivo para el arándano

El mejor resultado obtenido usando medios, son cuando se han utilizado bajas concentraciones de iones y en *Vaccinium* que es de la familia de las Ericaceae. El medio conveniente para *Rhododendron* se espera que de buenos resultados. En el medio todos tienen bajos niveles de potasio y de MS excepto Anderson (1975), que tiene bajos niveles de nitrógeno total. Los medios de Zimmerman y Broore (1980) Z-2; y Lloyd y McCown (1981) WPM eran los mas utilizados. Aunque WPM dio el índice mas alto en la proliferación de brotes en *V. macrocarpon*, los brotes eran compactos y las hojas presentaban clorosis, porque probablemente presentaban insuficiencia de nitrógeno. Sin embargo un número mas alto de nudos en *V. corymbosum* que pudo haber sido establecido en medio WPM en ½ Zimmerman y Broore (1980) Z-2 (Wolse et al 1986). Marcotrigiano y Meclaw (1991) fundo esta metodología de crecimiento. Anderson (1975) el medio produce brotes verdes con mayor uniformidad de tamaño y con un mejor y rápido enraizamiento que las metodologías de crecimiento en medios que contenían sales de WPM (8).

Lyrene, quien le agrego al medio la caseina hidrolizada en 1980, Anderson (1978 – 1980) suplemento en el medio 1 gramo por litro de caseina hidrolizada al *V. corymbosum*, (Goldy y Lyrene, 1984). El medio con frecuencia se ajusto a un pH entre 4.8 –5 antes de iniciar la metodología, pero Wolfe et al (1986), proporcionó inicialmente un pH entre 4 – 6, en el crecimiento de Blueberry que eran inafectados (8).

4.1.6.2 Reguladores de enraizamiento en el cultivo de tejidos

A. Citoquininas

En otras Ericaceae, las citoquininas 2-iP son bastante efectivas como promotoras de crecimiento y proliferación de brotes (8).

Las metodologías comúnmente se inician e inducen a reproducir múltiples brotes en un medio que comúnmente contengan únicamente citoquininas, pero comparado con los requerimientos de otras planta y se requieren concentraciones relativamente altas. Dependiendo de la especie, se ha reportado que la adición de 10 a 30 mg/l de 2-iP (8).

Sin embargo aunque las altas concentraciones de 2-iP causen el índice mas grande en la multiplicación de brotes, estos brotes son pequeños y hay una tendencia para que los brotes adventicios sean producidos una vez que entren en contacto con el medio (Eccher, 1986) (8).

Se han evaluado aparte del 2-iP otras citoquininas; Eccher y Noel (1989), encontraron que al agregar 10 mg/l de zeatina, en el medio de iniciación, causan menos daño en el crecimiento de los brotes inducidos (8).

En la segunda etapa la zeatina era menos conveniente, pero las plantas tenían un aspecto sano cuando se encontraban en un medio que contenían 2.25 mg/l de 2-iP y 2.5 mg/l de zeatina. Observe que varios medios usados para el cultivo de *Vaccinium* habían en su formulación original contenían 80 mg/l de sulfato de adenina, según Anderson (1975), era importante para el rompimiento axilar del brote y un brote firme en la segunda etapa. La concentración se ajusto de 0.1 a 0.35 mM, especificado por otros (Read et al., 1989; Smagula y Lyrene., 1984) (8).

B. Auxinas

Además de citoquininas algunas metodologías han utilizado auxinas en el medio, especialmente en la etapa de iniciación, las hormonas que se han usado son: IAA de 2 a 4 mg/l (Brissette et al, 1990) e IBA, 0.2 mg/l (Marcotrigiano y Mcglew, 1991). Frett y Smagula (1983), encontraron que el nivel óptimo en la proliferación de brotes del *V. angustifolium* ocurrieron con 20 mg/l de 2-iP mas 1 mg/l de IAA, o con 12 mg/l de 2-iP únicamente, este último fue preferido en la transferencia antes del enraizamiento (8).

De igual forma, Marcotrigiano y Mcglew (1991), obtuvieron una mejor proliferación de brotes y brotes de mejor calidad, en *V. macrocarpon* por la incorporación de 30.8 mg/l de 2-iP y 0.2 mg/l de IBA dentro del medio WPM o el medio de Anderson (1978-1980) (8).

4.1.6.3 Regeneración directa de brotes

Los brotes pueden ser regenerados directamente por segmentos de hojas existentes *in vitro*, de *V.* y los explantes son incubados en el medio con bajas concentraciones iónicas y suplementado con 2-iP. Las óptimas concentraciones oscilan entre 3 a 5 mg/l. La adición de auxinas promueven el crecimiento de cayos y suspende la formación de brotes (Bittings et al., 1988). Una alternativa costosa es en vez de 2-iP, es zeatina riboside. El número de brotes obtenidos del explante de *V. corymbosum* es mejor cuando se utilizó 20 mM de zeatina riboside, cuando fue adicionada al medio, antes que 2-iP y la zeatina conjugada (Rowland y Ogden., 1992) (8).

4.1.6.4 Enraizamiento

Los brotes de *Vaccinium* casi siempre enraízan *extra vitrum*, en sustrato ácido (peat o perlita). Los brotes pueden usualmente plantar sin ningún pre-tratamiento de auxinas y Hosier et al (1985), encontró que no existía efecto beneficioso. Sin embargo muchos investigadores prefieren sumergir los brotes en un talco de IBA (0.3%. Lyrene. 1980; Brissette, 1990) o en una solución de IBA (una breve inmersión en 1 g/l de IBA en etanol al 50%; Zimmer Fran y Broome, 1980), el enraizamiento es mejor con una alta humedad y bajo una alta intensidad de luz (Marcotrigiano y McGrew, 1991) (8).

Los tratamientos de la segunda etapa pueden influenciar éxito en la tercera etapa. Una gran parte de brotes de *V. angustifolium* enraizó, cuando había crecido en un medio que solo contenía 2-iP, sin ninguna auxina. Si en la segunda etapa se agregaba IIA, su enraizamiento disminuye (Frett y Smagula, 1983), si el sulfato de adenina a estado presente en la segunda etapa, debe ser omitido en los medios de enraizamiento in vitro (Anderson, 1980) (8).

4.1.7 Principales Factores Físicos del Ambiente de los Cultivos

Entre los principales factores físicos del ambiente de los cultivos se encuentran:

- a. La luz
- b. La temperatura
- c. La humedad relativa casi siempre es cercana al 100% en los recipientes de cultivo (19).

Entre los aspectos relacionados con la luz se mencionan los siguientes:

A. Necesidad de luz

Los requerimientos de luz se dividen en diferentes parámetros:

- a. Intensidad luminosa por unidad de superficie expresada en W/w cuadrado.
- b. Periodo de iluminación o la duración de iluminación expresada en horas/día.
- c. Calidad espectral de luz recibida (19).

B. Requerimientos de luz de las plantas

El crecimiento y desarrollo de las plantas depende considerablemente del factor luz.

Procesos en los cuales influye la luz:

- a. Fotosíntesis
- b. Fototropismo
- c. Fotomorfogénesis

La fotosíntesis, el fototropismo y la fotomorfogénesis son facilitados por pigmentos que se encuentran en los tejidos, los cuales absorben la radiación con determinada longitud de onda (6).

C. *Influencia de la luz en el cultivo de tejidos*

Las cualidades de la luz que tienen mayor influencia en el crecimiento y la morfogénesis *in vitro* son:

- a. Longitud de onda (azul y cercano a luz ultravioleta)
- b. Fotoperíodo

D. *Influencia de la temperatura*

La temperatura de los cuartos de incubación de tejidos se regula en forma constante de 22 a 25 grados centígrados. En la práctica se regula la temperatura del cuarto en dos grados centígrados por debajo de la que se desee para los tejidos cultivados, puesto que la temperatura real de los tejidos en el interior de los recipientes de cultivo puede ser mayor en dos o en cuatro grados centígrados a la del cuarto (19).

4.1.8 Azúcar como Fuente de Energía

A. *Carbohidratos autótrofos*

Solamente un limitado número de células de plantas tiene líneas, las cuales son autotróficas cuando se cultivan *in vitro*. Las células autotróficas son capaces de suministrar completamente su propios carbohidratos necesarios por dióxido de carbono asimilado durante la fotosíntesis. Muchos cultivos autotróficos tienen solamente capacidad de crecimiento relativamente lento, especialmente en la atmósfera ambiental cuando la concentración de dióxido de carbono es bajo (6).

Normalmente para el cultivo de cualquier célula, tejido u órgano es necesario incorporar una fuente de carbono dentro del medio. La sucesora es casi universalmente utilizada tanto para propósitos de micropropagación como utilizable generalmente para cultivo de tejidos. El azúcar blanca refinada doméstica es suficientemente pura para la mayor parte del propósito de estas practicas. La presencia de sucrosa en

medios de cultivo de tejido inhibe específicamente la formación de clorofila y la fotosíntesis, haciendo el crecimiento autotrófico poco factible (6).

4.1.9 Potencial del Agua

El movimiento requiere energía. El agua, como todas las sustancias, no se mueve en contra de un gradiente de energía; debe moverse a favor de él, cediendo energía a medida que se mueve. Mientras que la energía pueda perderse como resultado del movimiento del agua, éste continuará (1).

La energía libre se define como la energía disponible (sin cambio de temperatura) para realizar trabajo (1, 2).

El potencial químico de una sustancia bajo cualquier condición (esto es, pura, en solución, o como integrante de un sistema complejo) es la energía libre por mol de esa sustancia. El potencial químico, por lo tanto mide la energía con la cual reaccionara o se moverá una sustancia (2).

El potencial de agua es el potencial químico de esta y es una medida de la energía disponible para reacción o movimiento. Bajo condiciones biológicas normales, el potencial de agua es usualmente bastante alto sin que limite las de reacción que involucran agua (por ejemplo, en reacciones hidrolíticas). Sin embargo el movimiento del agua depende de su potencial, debido a que el movimiento neto de esta es siempre de una región de potencial alto a otra de potencial bajo (2).

El potencial del agua pura o agua libre es, por definición, cero. La presencia de cualquier sustancia disuelta en agua <disminuye su potencial>, de manera que el potencial de agua de una solución es inferior a cero. Esta definición solo es válida a presión atmosférica. La elevación o disminución de la presión alrededor de un sistema, automáticamente asciende o desciende el potencial de agua en exactamente la misma cantidad (2).

4.1.10 Efecto Osmótico sobre los ingredientes del medio

Además de tener efectos puramente nutritivos, soluciones de sales inorgánicas y azúcares, los cuales componen el medio de cultivo de tejidos, influyen en las células de las plantas a través de sus propiedades osmóticas (6).

El movimiento acuoso dentro y fuera de una pared celular es gobernado por las relativas concentraciones de disolver sustancias en las soluciones internas y externas, y por la presión ejercida por esta restricción de la pared celular.

El potencial osmótico (presión) de soluciones es determinado por su concentración molar y por la temperatura. El agua potencial del tejido intermedio de una planta es equivalente a el potencial osmótico de los compuestos disueltos. Solo el agua no ejerce presión potencial, como si tuviera agregado sustancias tal como agar, Gelrite o glicol polietileno que contribuye al potencial matriz (6).

Las propiedades osmóticas de las soluciones pueden ser dificultosas para describe sin confusión. La adición de solutos a un solvente (la cual hace la ósmosis o agua potencial más negativa, pero hace la osmolaridad de la solución incrementar a un alto valor positivo), como puede hacerlo reducir o hacer disminuir el potencial osmótico de soluciones.

4.1.11 Senescencia y la inhibición de la División Celular

Cuando la concentración de sucrosa en un medio con alta cantidad de sal, tal como el medio MS, aumenta por arriba de 4-5 por ciento, puede causar una inhibición progresiva de aumento celular en muchos tipos de cultivos. Esto parece ser un efecto osmótico porque la adición de otras sustancias con actividad osmolítica (tal como manitol y glicol polietileno) en el medio causa un efecto similar. Usualmente concentraciones altas de sucrosa no son tóxicas, no bajan en el corto plazo, y resume el aumento celular cuando el tejido fino u órganos son transferidos a un medio con contenido normal de azúcar (6).

4.2 MARCO REFERENCIAL

4.2.1 Area en estudio

Según Makranski, en San Juan Chamelco, Alta Verapáz, se requieren temperaturas de 5 a 18°C., necesitando de entre 250 – 600 horas frío (menor de 7°C., una precipitación pluvial anual de 1,000 a 3,000 mm., una altitud de entre 1,300 a 2,700 msnm. y una humedad relativa del 75% (13).

Los suelos deben de tener una estructura franco arenosos a franco arcillosos, con un pH de 3.8 a 5.5, haciendo las observaciones de que deben contener alto contenido de materia orgánica (que los hacen con basura forestal degradada o con sulfato de aluminio o azufre), bien drenados y profundo (13).

La plantación se realiza sobre camellones, con el terreno previamente preparado. La distancia de siembra es variable, pero las mas usuales son de 2.5 a 4.5 metros entre surcos y de 1 a 3 metros entre plantas (13).

Según Yurrita la poda durante la primera fase vegetativa ha de conservar de 5 a 6 hijuelos que se emplearon para formar la horquilla. Si aparecen flores en ápice se deberán podarse. En la segunda fase vegetativa se eliminaran las ramas muertas y las dirigidas hacia el centro. En fases sucesivas, las ramificaciones explotadas y las yemas de madera se eliminan (13).

Los factores que afectan su producción son:

- A. Vientos: constituyen un factor limitante para el desarrollo del cultivo.
- B. Malezas: compiten por nutrientes y constituyen hospederos de plagas, por lo cual se hacen 2 limpiezas a todo el terreno plantado y 4 limpiezas al plato en el año.
- C. Enfermedades: marchitamiento (*phytophthora sp.*), antracnosis (*Elcinoe sp.*) y pudrición del fruto (*Botrythia sp.*), para cual se aplica cupravit.
- D. Plagas: trips (*Thrips sp.*), pulgones (*Aphis sp.*), gusano de la hoja (*Eliothis sp.*) , gusano minador (*Agromyza sp.*), para lo cual aplican pieters y la ultima plaga lo constituyan las aves (13).

Según Makraski los arándanos deben cosecharse manualmente con el máximo cuidado para no lastimar las frutas, afectar su calidad (apariencia) y vida útil. El momento adecuado para la cosecha del arándano, es cuando tiene su color característico que es un azul completo (13).

El ciclo del Cultivo es:

- A. 1 a 2 años: Crecimiento y desarrollo.
- B. 3 a 4 años: Primeras cosechas.
- C. 7 años: Estabilidad de cosecha.
- D. 8 a 30 años: Adulto productivo.
- E. Periodo de Floración: 90 días variedades tipo Highbush, 90 a 120 días variedades de tipo ojo de conejo.
- F. Periodo de cosecha: de 6 a 8 semanas.
- G. Época de producción: Junio a Julio (13).

4.2.2 Productores de arándano

En la actualidad se encuentran sembradas 6 a 8 manzanas de arándano, en la región de San Juan Chamelco, Alta Verapaz, de las cuales se encuentra en producción solamente 1 manzanas. Uno de los agricultores impulsores del cultivo de arándano en Guatemala se llama Bob Makraski, el mismo posee un promedio de 50 variedades de las especies de arándano alto y ojo de conejo. Sus parcelas experimentales tienen plantas de hasta 14 años de edad, por lo que su experiencia en el cultivo es incomparable en el país, al igual otro de los impulsores del cultivo es Felipe Yurrita, el mismo a logrado llevar a cabo un manejo agronómico con bastante éxito y posee la mayor área sembrada del cultivo. Ellos con otros dos agricultores más conforman la representación de los agricultores de arándano en el país y agremiados a la AGEXPRONT (*).

Los mismos agricultores por medio de los años de experiencia y la observación, llegaron a diferentes conclusiones del manejo y adaptación de las diferentes variedades de arándano para las dos especies. Por lo que cuando se empezó la realización del presente documento, la información proveniente de los mismos fue de suma importancia, ya que las variedades que se estudiaron en la investigación se baso en las recomendaciones por los mismos agricultores (*).

Los materiales proporcionados procedieron de plantas de 4 a 5 años de edad y que fueron las variedades Woodard, Climax, Tifblue y Briteblue, que poseían vástagos jóvenes y tiernos; y el material proporcionado de las variedades Brighthwell y Premier provenían de plantas de edades de 12 años, con vástagos mas robustos (*).

(*) MAKRASKI, B. 2001. Información del cultivo de arándano. San Juan Chamelco, Alta Verapaz. Comunicación personal.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Contribuir al desarrollo de un protocolo que permita la micropropagación de seis variedades de arándano.

5.2 Específicos

- 5.2.1** Determinar la dosis más adecuada de 2 isopentenil adenina (2iP) que induzca el mayor número de brotes, mayor longitud de brotes, mayor número de entrenudos y mayor longitud de entrenudos en la etapa de iniciación, para cada una de las seis variedades en estudio.
- 5.2.2** Determinar la dosis más adecuada de 2 isopentenil adenina (2iP) que induce el mayor número de brotes, mayor longitud de brotes, mayor número de entrenudos y mayor longitud de entrenudos en la etapa de propagación, para cada una de las seis variedades en estudio.

6. HIPOTESIS

- 6.1** Existe una dosis adecuada de 2iP que produce el mayor número de brotes, mayor longitud de brotes, mayor número de entrenudos y mayor longitud de entrenudos en la etapa de iniciación, para cada una de las variedades en estudio.

- 6.2** Existe una dosis adecuada de 2iP que produce el mayor número de brotes, mayor longitud de brotes, mayor número de entrenudos y mayor longitud de entrenudos en la etapa de propagación, para cada una de las variedades en estudio.

7. METODOLOGIA

7.1 Localización de los experimentos

La presente investigación se realizó en el Laboratorio de Biotecnología del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas (ICTA), ubicado en el kilómetro 21.5 carretera a Amatlán, Bárcena, Villa Nueva.

7.2 Material experimental

En la presente investigación se utilizó la especie *Vaccinium ashei* (ojo de conejo).

7.3 Equipo e insumos

- A. Jabón neutral
- B. Hipoclorito de sodio al 5.2 y 3%.
- C. Agua destilada estéril.
- D. Pinzas
- E. Bisturí
- F. Potenciómetro
- G. Autoclave
- H. Balanza analítica
- I. Magnetos
- J. Agitador magnético
- K. Dispensador manual de medios
- L. Mechero
- M. Cámara de flujo laminar
- N. Horno de esterilización seco
- O. Beakers

7.4 Metodología Experimental

7.4.1 Desinfección del Material

Para este procedimiento los vástagos, previamente, se lavaron con jabón antibacterial y agua destilada y luego colocados en un beacker durante 24 horas. Al siguiente día fueron cortadas del vástago las yemas axilares, 2 a 3 centímetros por debajo y por encima de la yema axilar. El material obtenido se continuó desinfectando en la forma siguiente:

- A. Desinfección con etanol (alcohol etílico) al 70% durante 10 minutos.
- B. Inmersión de los explantes, durante 20 minutos, con agitación constante, en hipoclorito de sodio al 5.25% (cloro comercial sin diluir), al cual se le adicionaron gotas de Tween 20 a razón de una gota por cada 50 ml de cloro.
- C. Con la finalidad de eliminar los residuos de cloro, se procedió a lavar con agua destilada estéril, tres veces consecutivas, por un tiempo de cinco minutos cada uno, con agitación constante.

Bajo todas las medidas de asepsia (la cristalería e instrumentos se esterilizaron en autoclave), se introdujo el material a la cámara de flujo laminar, donde se procedió con el uso del bisturí y una pinza a cortar los extremos quemados de los explantes.

Cada una de las yemas fueron sembradas en el medio de iniciación que a continuación se detalla:

7.4.2 Fase de Iniciación

Las yemas axilares fueron sembradas en tubos de cultivo que contenían el medio basal de Lyrene (1980), suplementado con 5, 10, 15, 20 y 25 miligramos de 2iP por litro, mas dos miligramos de Phytigel por litro, además a cada dosis de 2iP se le añadió un colorante a cada uno, la dosis de 5 (sin color), la de 10 (anaranjado), a la dosis de 15 (ladrillo), a la de 20 (amarillo) y al dosis de 25 (corinto).

Los explantes fueron incubados en el cuarto de crecimiento bajo las siguientes condiciones:

- A. Intensidad lumínica: 3,000 lux, suministrada por tres candelas de gas neón de 40 watts tipo luz de día (daylight).
- B. Fotoperíodo: 16 horas de luz por 8 de oscuridad.
- C. Temperatura: 23 ± 2 grados centígrados.

7.4.3 Fase de Propagación

Los microesquejes que provenían de la etapa inicial, se sembraron en tubos de cultivo que contenían el medio basal de Lyrene (1980), suplementado con 5, 10, 15, 20 y 25 miligramos de 2iP por litro, mas dos miligramos de Phytigel por litro y también se le añadieron los mismos colores a el medio. Los explantes fueron incubados en el cuarto de crecimiento bajo las mismas condiciones a las de la etapa inicial.

7.4.4 Medio de Cultivo

El medio nutritivo artificial que se utilizó fue el de Lyrene (1980). Para la siembra de todos los tratamientos se prepararon en total 3 litros de medio y se sirvieron 10 ml en cada tubo de cultivo de 25 x 150 mm.

7.4.5 Siembra

Se realizó de forma consecutiva, sembrando variedad consecutivamente de la otra en todos sus tratamientos y repeticiones, dando un total de 300 tubos de cultivo sembrados.

7.4.6 Variables de Respuesta

- A. Numero de brotes

Se realizó un contéo del número de brotes promedio para cada unidad experimental y cada repetición. Esta variable se midió a los 12 semanas después de la siembra y dos meses después del primer subcultivo.

B. Longitud de brotes

Esta variable de respuesta se obtuvo midiendo la altura de todos los brotes dentro del tubo de cultivo y luego se hizo un promedio para cada unidad experimental y repetición. Esta variable se midió a los 12 semanas después de la siembra y dos meses después del primer subcultivo.

C. Número de Entrenudos

Se realizó un conteo del número de entrenudos promedio para cada unidad experimental y cada repetición. Esta variable se midió a los 12 semanas después de la siembra y a dos meses del primer subcultivo.

D. Longitud de Entrenudos

Esta variable se obtuvo de la división de la longitud del brote entre el número de entrenudos y esta se anotó a los 12 semanas después de la siembra y a los dos meses del primer subcultivo.

7.4.7 Modelo Estadístico

Se utilizó el diseño estadístico completamente al azar, con arreglo factorial 6x5 de los tratamientos. El modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{il} = M + S_j + N_l + S_jN_l + E_{il}$$

Y_{il} = Variable de respuesta.

M = Efecto de la media general.

S_j = Efecto de la j -ésima variedad.

N_l = Efecto del l -ésimo nivel de 2iP.

S_jN_l = Efecto de la interacción entre la j -ésima variedad y el l -ésimo nivel de 2iP

E_{il} = Efecto asociado al error experimental.

7.4.7.1 Unidad experimental

Como unidad experimental se utilizó un tubo de cultivo de 25 x 150 mm, el cual contenía una yema.

7.4.7.2 Tratamientos

Los factores evaluados fueron: variedad (6): Briteblue, Brighthwell, Woodard, Climax, Premier y Tifblue; y niveles de isopentenil adenina (5): 5, 10, 15, 20 y 25 mg/l. Se hicieron 10 repeticiones por tratamiento, para un total de 300 unidades experimentales.

7.4.7.3 Aleatorización

Todos los tratamientos se aleatorizaron haciendo un sorteo dentro del área experimental.

7.4.7.4 Presentación de la información

La presentación de la información se realizó mediante el uso de cuadros y figuras (gráficas y fotografías).

7.4.7.5 Análisis de la información

Para procesar la información de todas las variables de respuesta, previo al análisis de varianza, se revisaron los supuestos del análisis de varianza, mediante la prueba de Shapiro-Wilks, para determinar la normalidad de los datos, no encontrándose normalidad en los datos. Se hicieron diferentes transformaciones de los datos, tales como la transformación logarítmicas, de raíz cuadrada, arcoseno y recíprocas. Luego se volvió a rectificar que hubiera normalidad en los datos mediante la prueba de Saphiro-Wilks. No obteniéndose normalidad se aplicó estadística no paramétrica, utilizando la prueba de Wilcoxon, en este caso se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos o factores por variable de respuesta y se efectuó un análisis de comparación de medias por medio de una prueba de “t” al 15.

8. RESULTADOS Y DISCUSION

Luego de haberse hecho las pruebas estadísticas para saber que los datos cumplían con los supuestos del análisis de varianza, para lo cual se hizo la prueba de Shapiro-Wilks (ver detalles en el apéndice), se encontró que no tenían normalidad, por lo que se llevo a cabo las siguientes transformaciones: logarítmicas, de raíz cuadrada, arcoseno y recíproca, y nuevamente se volvió a comprobar de que los datos no poseían una distribución normal, por lo que se llegó a la determinación de utilizar la Estadística No Paramétrica, para lo cual se utilizó la prueba de Wilcoxon (ver detalles en el apéndice) y luego de encontrar diferencias significativas, se hizo una comparación de medias, por medio de una prueba “t” de “student”, para llegar, así, a una mejor interpretación de los resultados obtenidos.

8.1 ETAPA DE ESTABLECIMIENTO

8.1.1 Número de brotes

Como se muestra en cuadro de análisis de medias (cuadro 1A), para la variedad Tifblue podemos observar que entre las dosis de 15 y 20 mg/l no existe diferencia significativa, pero sí existe con las otras tres dosis, además, la diferencia entre estas dos dosis es, económicamente apreciable, siendo la diferencia de USD \$ 0.05 por litro de medio.

Con la variedad Brightwell, no existe diferencia significativa entre las dosis 15, 20 y 25 mg/l, aunque, como ya se explicó anteriormente, a menor concentración de 2iP, menor será su costo por litro de medio, siendo la diferencia entre las dosis de 15 y 20 mg/l de USD \$ 0.05 por litro de medio, y USD \$ 0.10 por litro de medio, entre las dosis de 15 y 25 mg/l.

Con la variedad Climax las mejores dosis en la iniciación de brotes, fueron las de 5 y 20 mg/l., aunque, desde el punto de vista económico, la dosis de 5 mg/l es la que tiene menor costo.

Con la variedad Woodard observamos que la dosis en que tuvo una mejor respuesta a la iniciación de brotes, fue la de 15 mg/l.

Lyrene (1980) reporta que las dosis más adecuadas ya estudiadas en otros países están entre los rangos de 10 a 30 mg/l, sin embargo, en este estudio pudimos observar que en variedades como Climax y Briteblue sus mejores resultados en la iniciación de brotes se obtuvieron en los niveles de 5 mg/l.

Las variedades Briteblue y Premier nos proporcionan resultados no tan satisfactorios como para las otras variedades, pero, al menos, dan un brote por explante, que es el principal objetivo en la fase de iniciación, ambas con la dosis de 2iP de 5 mg/l.

8.1.2 Longitud de brotes

Como podemos observar en el cuadro 2A, los mejores tratamientos para la variedad Briteblue fueron las dosis 10 y 25 mg/l de 2iP, ya que entre ellos no existió diferencia significativa, pero, económicamente, sí hay diferencia y es de USD \$ 0.15 por litro de medio, lo que nos permite elegir, desde el punto de vista económico, la dosis de 10 mg/l.

Similar es el caso en la variedad Premier, ya que no se encuentran diferencias significativas entre las dosis de 20 y 25 mg/l de 2iP; pero también, desde el punto de vista económico, la dosis de 20 mg/l de 2iP es la mejor, con un costo de USD \$ 4.99 por litro de medio.

Con las variedades Woodard, Climax y Tifblue se observa en el cuadro 2 que la dosis más conveniente, y sin que exista diferencias significativas con las demás dosis, es la de 5 mg/l, proporcionándonos menor utilización de insumos en el regulador de crecimiento 2iP. Algo que es importante remarcar es que, según Lyrene, la dosis de 5 mg/l no está recomendada para la especie *Vaccinium ashei* y sí se encontraban reportadas las demás dosis como las de 10 y 15 mg/l, y en esta investigación se pudo demostrar que no existe diferencia significativa con la de dosis de 5 mg/l de 2iP.

En el caso de la variedad Brightwell, podemos observar que no existe diferencia significativa entre las dosis 15, 20 y 25 mg/l de 2iP y que, económicamente, la dosis de 15 mg/l de 2iP, sea la más conveniente, porque para el cultivo de tejidos una mayor longitud del brote nos proporciona mayor facilidad en el manejo de su propagación, siendo la diferencia entre la dosis de 15 y 20 mg/l de 2iP, de 0.2 cm, siendo la más conveniente, desde el punto de vista de manejo experimental, la dosis de 20 mg/l de 2iP.

8.1.3 Número de entrenudos

En los resultados observados en el cuadro 3A observamos que en las variedades Woodard y Tifblue la dosis que muestra un mayor número de entrenudos es la de 5 mg/l de 2iP y, desde el punto de vista económico, es también el más adecuado.

En el caso de las variedades Briteblue y Climax, observamos que la dosis de 10 mg/l de 2iP, fue la que tuvo un mayor número de entrenudos.

Con la variedad Premier la dosis en que se observa mejores resultados, en referencia al número de entrenudos, es la de 20 mg/l. Y similar es el caso con la variedad Brighthwell, en el que la dosis que presentó mejores resultados fue la de 20 mg/l.

8.1.4 Longitud de Entrenudos

Como se observa en el cuadro 4A, la variedad Brighthwell es la que tiene mejores resultados en cuanto a la longitud de entrenudos y aunque no existen diferencias significativas entre las dosis de 15 y 25 mg/l de 2iP, sabemos que, económicamente, la dosis de 15 mg/l de 2iP, es la mejor.

En el caso de las variedades Brighthwell y Climax podemos observar que su mejor dosis es la de 5 mg/l, desde el punto de vista económico.

Con la variedad Tifblue la dosis en que se obtuvieron mejores resultados fue con la de 10 mg/l de 2iP, aunque, estadísticamente, no existan diferencias significativas con las dosis de 15 y 25 mg/l de 2iP, sabemos que, económicamente sí las hay, además, estos resultados coinciden con la dosis recomendada por Lyrene (1980).

Con la variedad Woodard las dosis que tuvieron mejor respuesta en la longitud de entrenudos fueron las de 5 y 20 mg/l de 2iP, aunque su diferencia es de 0.1 cm, desde el punto de vista económico, la diferencia es de USD \$ 0.15 por litro de medio.

Y por último, la variedad Premier, que no tuvo diferencias significativas entre sus dosis, sí podemos recomendar la dosis de 5 mg/l de 2iP, ya que desde el punto de vista económico, es la mas conveniente, debido a que sus costos son menores.

8.1.5 Análisis conjunto de las variables de respuesta y dosis recomendadas para cada una de las Variedades.

Según los resultados y un estricto análisis, se tomo en cuenta los puntos de vista más importantes para el investigador, se llegó a recomendar la dosis más adecuada para cada variedad. Importante es mencionar que a pesar que el material que es proveniente de plantas adultas, los resultados obtenidos en las diferentes variedades son bastante satisfactorios ya que según Lyrene (1980), este tipo de material que es proveniente del campo es mucho mas difícil de establecer, que si se llegara a utilizar material joven.

Es conveniente mencionar algunas razones por las que no coinciden las dosis en todas las variedades aunque pertenezcan a la misma especie, una razón puede ser debido a que estas variedades han sido mejoradas para adaptarse a diferentes climas, porque como podemos observar en la literatura unas requieren mas horas frío que otras, como la variedad Briteblue y Tifblue, que requieren de entre 550 y 650 horas frío, esto es referente a sus características fenotípicas. Otra razón es que han sido mejoradas en sus características en el fruto, como lo es en la cicatriz en fruto o en el tiempo de maduración del mismo, caso como la variedad Woodard, que su adaptación en el campo es el mas satisfactorio, pero que no es posible su exportación, debido a la cicatriz que posee el fruto. Y tal vez la razón mas importante en sus diferencias es el periodo o época en el que se puede llegar la cosecha, ya que existen períodos en el que el precio se encuentra mas alto.

Dentro del análisis de los resultados, es importante mencionar que criterios tomé en cuenta para recomendar las distintas dosis:

- A. El número de entrenudos: esta variable de respuesta nos permitió observar el número de explantes que se podrían llevar a la siguiente etapa.
- B. El número de brotes: esta variable nos permitió observar, si existía la posibilidad que además de establecer el cultivo in vitro, también se obtuviera inducción de varios brotes.
- C. Longitud de brotes: la variable nos indicaba si era proporcional la longitud del brote con el número de

entrenudos posibles de producir o a mayor longitud del brote, mayor su distanciamiento de los entrenudos.

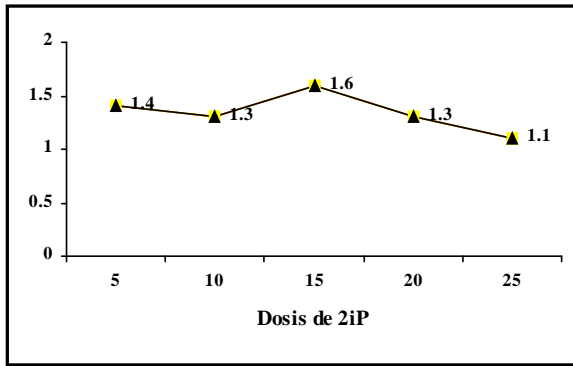
- D. Longitud de entrenudos: esta variable nos indicó la posible dificultad del explante de ser propagado, ya que a menor distancia, mayor es su dificultad para propagar.
- E. Costos por litro de medio: esta no fue una variable de respuesta, pero fue un criterio importante, ya que a menor concentración de 2iP, menores serian sus costos por litro de medio.

• **WOODARD**

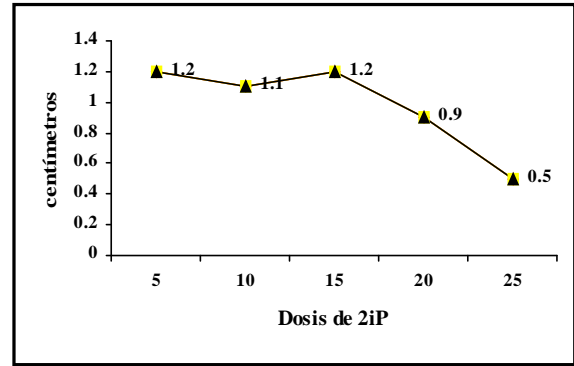
Para la variedad Woodard la dosis de 2iP que se recomienda es la de 15 mg/l, ya que la dosis de 5 mg/l nos proporcionó un mejor resultado en la longitud de brotes, pero que no tiene una diferencia significativa como para que fuera mejor que la dosis de 15 mg/l, otra dosis que tuvo mejor resultado que la recomendada, fue la dosis de 20 mg/l, que en la longitud de entrenudos obtuvo 1 mm más que la dosis recomendada, pero a criterio de un propagador no existe diferencia que lo haga una mejor dosis con referente a los resultados en la longitud de entrenudos. La dosis recomendada coincide con lo reportado por Lyrene (1980), ya que es la dosis que presentó los mejores resultados, estadísticamente, en número de brotes y número de entrenudos, lo que es conveniente para su propagación, porque su tasa de propagación es mayor, siendo de 11 microesquejes por explante, a las 12 semanas.

Figura 1. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Woodard.

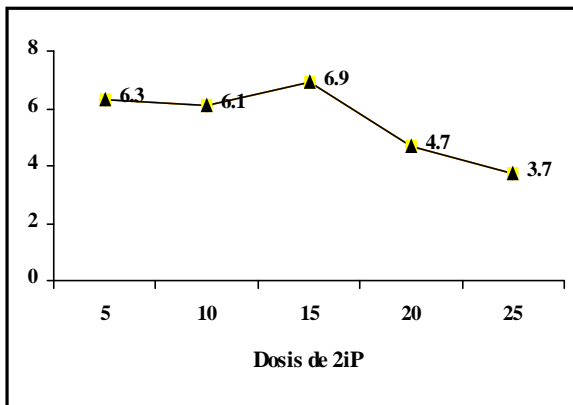
Numero de Brotes



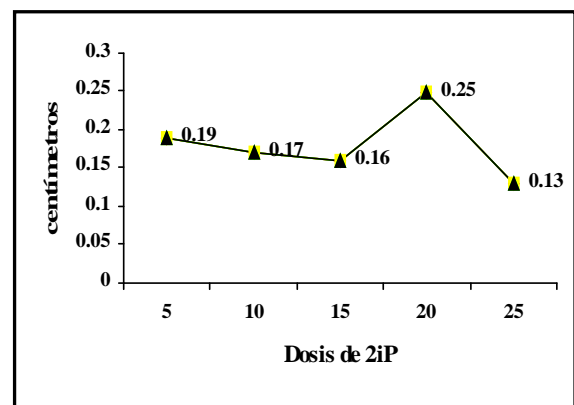
Longitud de Brotes



Número de Entrenudos



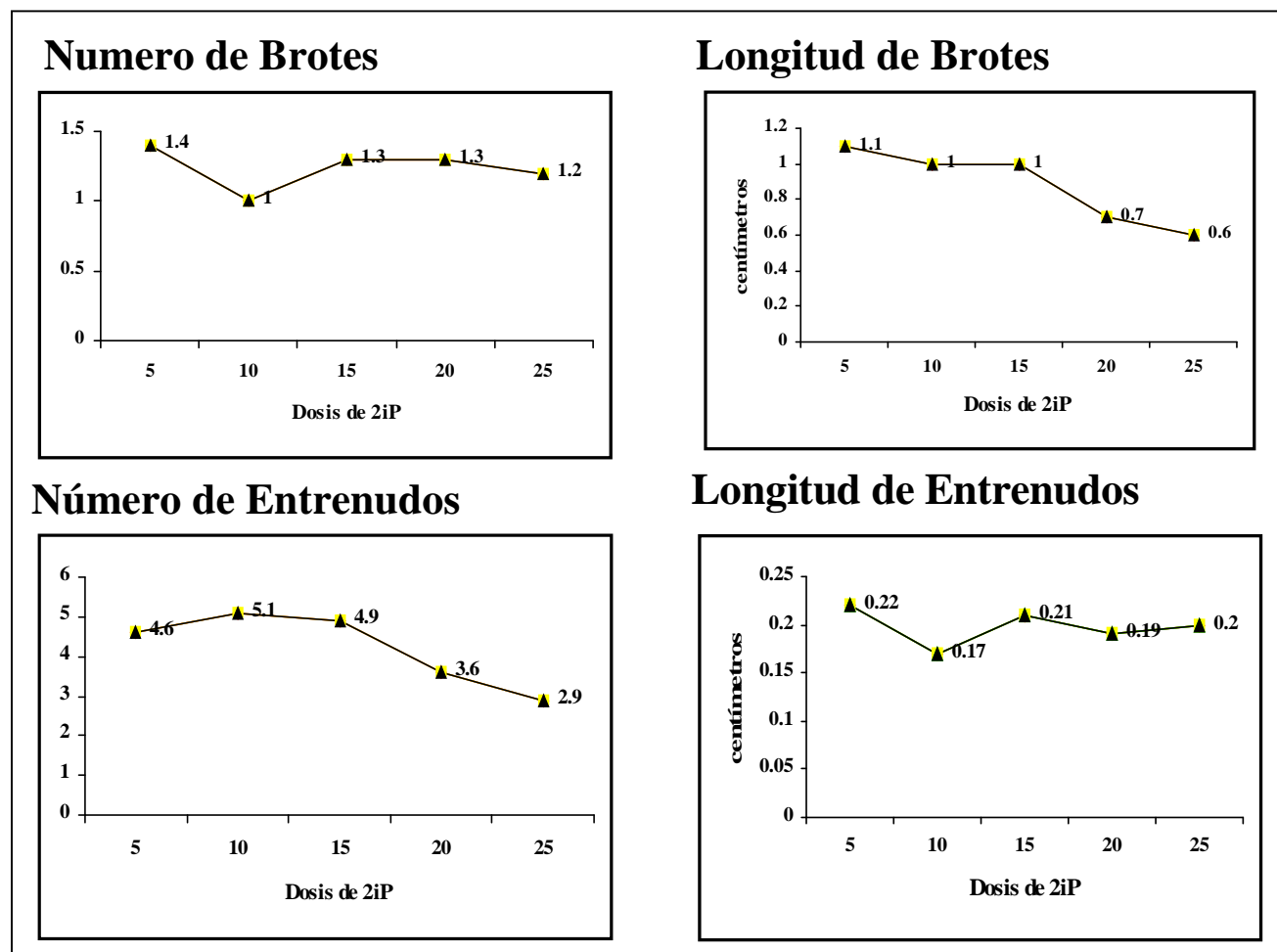
Longitud de Entrenudos



• CLIMAX

Para la variedad Climax la dosis de 2iP que se recomienda es la de 5 mg/l, ya que es la dosis que tuvo una mejor tasa de propagación y que es de 6.4 microesquejes por explante a las 12 semanas, aunque desde el punto de vista estadístico hay otras dosis que tuvieron mejor respuesta en el número de brotes (20 mg/l) y en el número de entrenudos (10 mg/l), la dosis de 5 mg/l es la que tiene mejores resultados cuando conjugamos todos los resultados de las variables de respuesta, ya que tuvo los mejores resultados en la longitud de brotes y en la longitud de entrenudos, lo que nos facilitó su propagación, además como lo menciona Eccher (1986), sobre los brotes cortos, son brotes que producen entrenudos cortos, y que hay una tendencia para que los brotes adventicios sean producidos una vez entren en contacto con el medio, además, desde el punto de vista económico, es la más económica. También es importante mencionar, que esta dosis no se encontraba recomendada, por ningún investigador en la revisión encontrada, para esta especie y mucho menos para esta variedad.

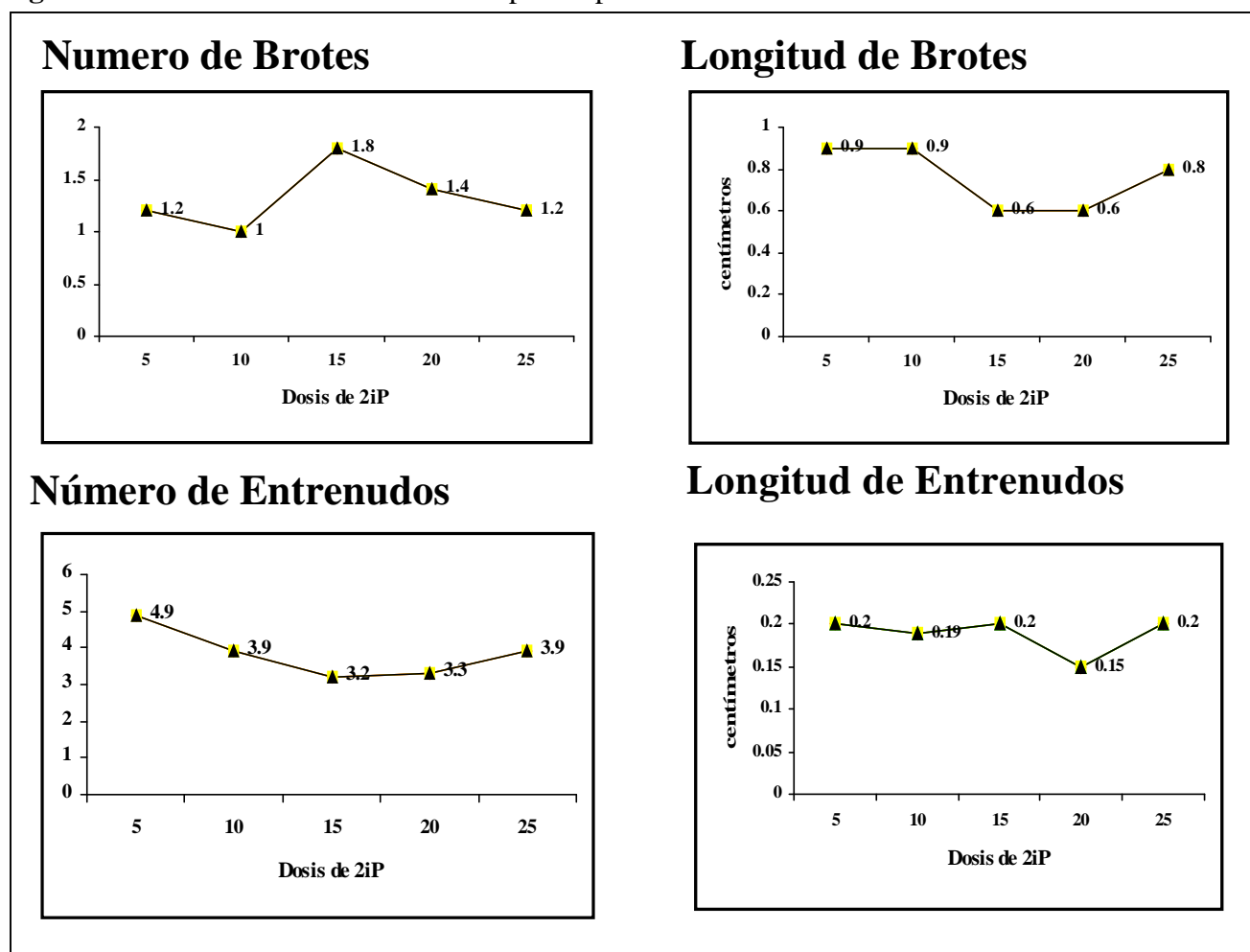
Figura 2. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Climax.



- **TIFBLUE**

Para la variedad Tifblue la dosis de 2iP que se recomienda es la de 5 mg/l, y aunque la diferencia con respecto a la tasa de propagación con la dosis de 15 mg/l, es mínima, la dosis de 5 mg/l posee una tasa de 5.9 y la de 15 mg/l es de 5.8 entrenudos por explante a las 12 semanas. Además, como en el caso anterior de la variedad Climax, la dosis de 5 mg/l no es recomendada en la literatura, por lo que son resultados satisfactorios en esta publicación y desde el punto de vista económico la diferencia es de USD \$ 0.10 por litro de medio.

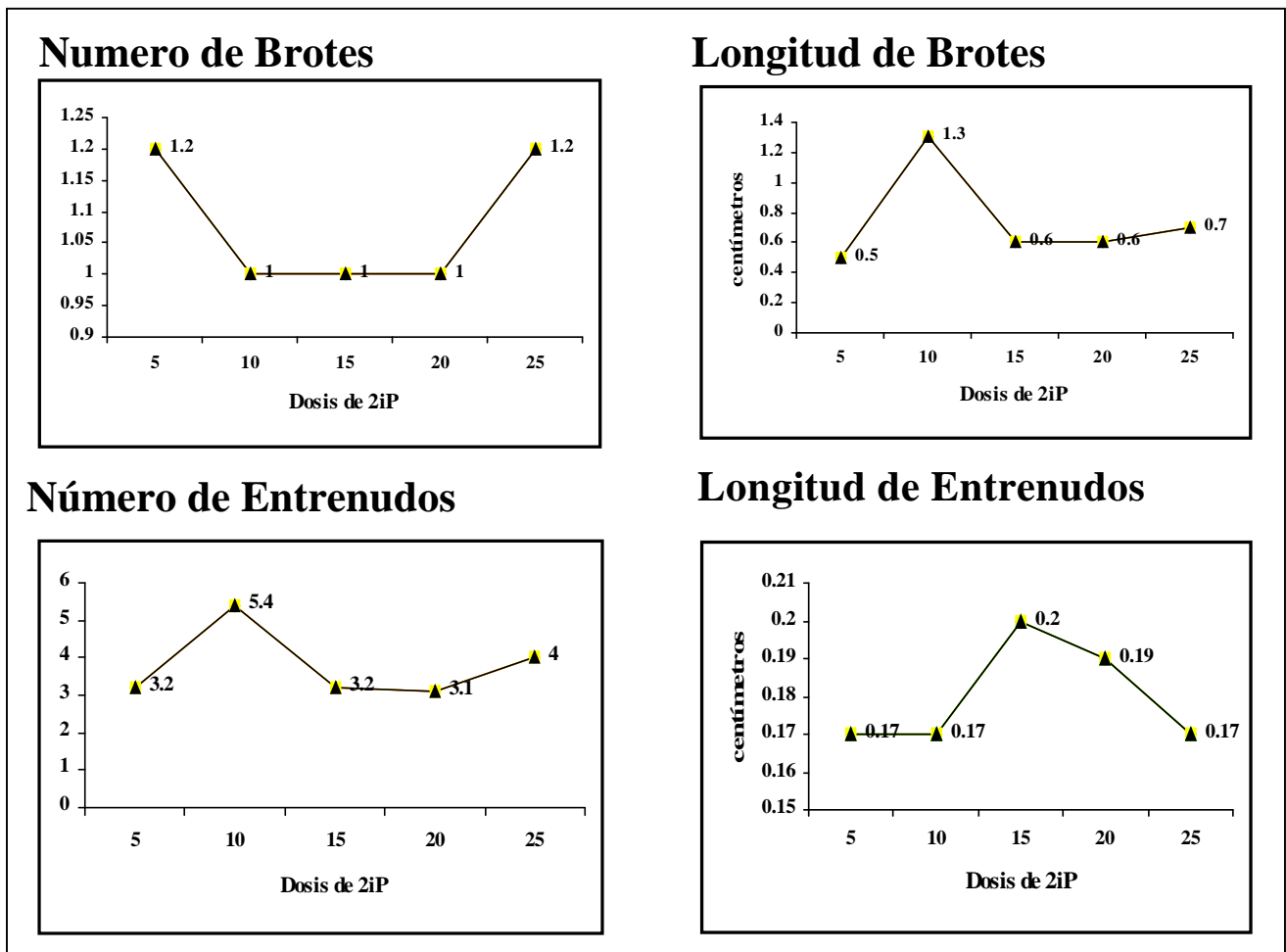
Figura 3. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Tifblue.



- **BRITEBLUE**

Para la variedad Briteblue la dosis de 2iP que se recomienda es la de 10 mg/l, ya que es la que produce la tasa de propagación más alta, además, también produce la mayor longitud de brotes, que a diferencia de la dosis 5 mg/l que tuvo un mayor número de brotes, la longitud de los mismos es demasiado corta, lo que sus hojas podrían entrar en contacto con el medio y producir brotes adventicios, que es lo que no se desea en esta etapa de establecimiento, ya que lo que se busca es producir brotes largos y firmes, para así aumentar el material en la etapa de propagación, como es citado por Smagula y Lyrene (1984).

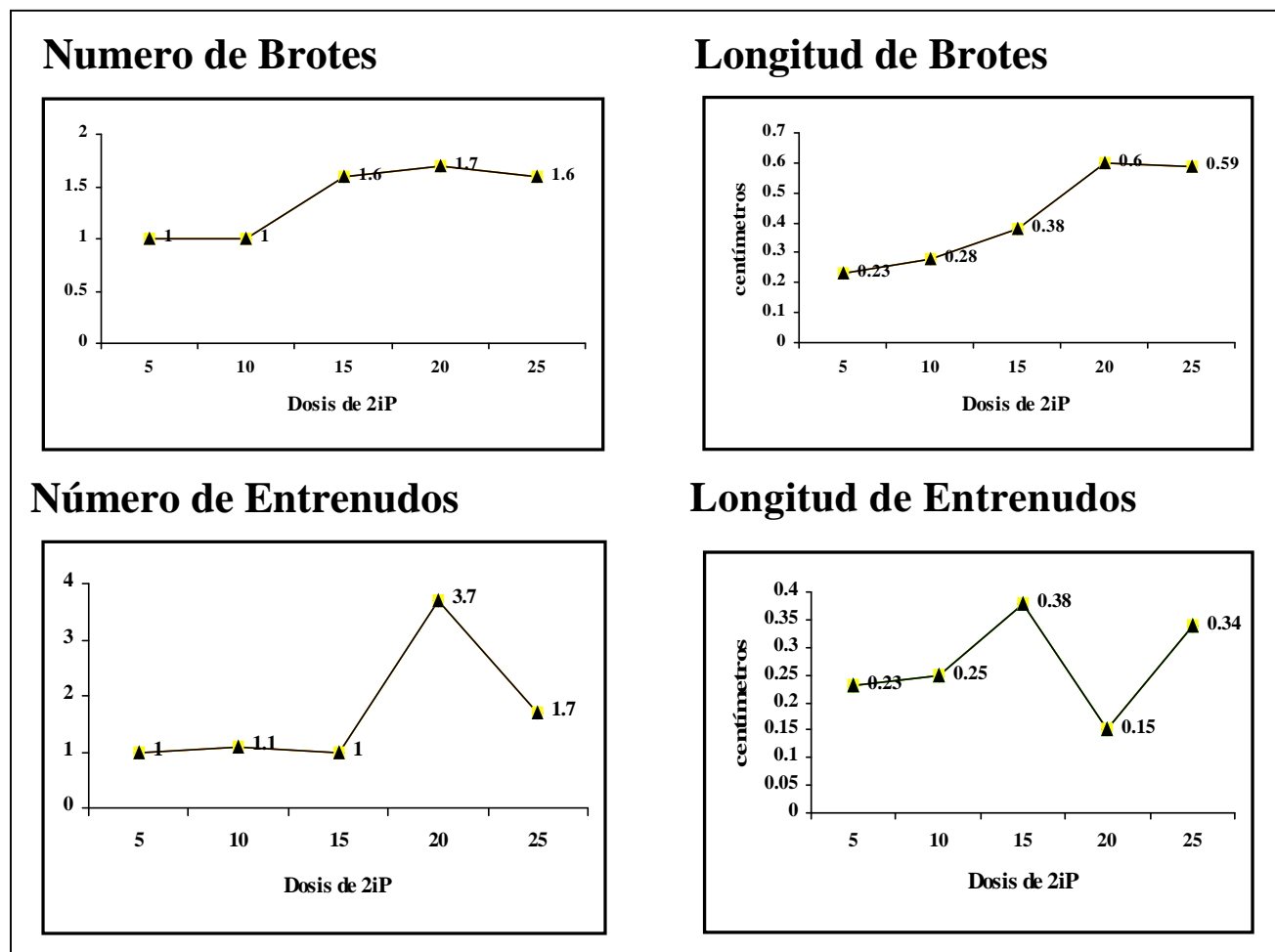
Figura 4. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Briteblue.



- **BRIGHTWELL**

Para la variedad Brighwell la dosis de 2iP que se recomienda es la de 20 mg/l, produce una tasa de propagación de 6.3 microesquejes por explante a cada dos meses, además, es la dosis que induce mayor número de brotes y longitud de brotes, lo que hace que aumente su número de entrenudos, que a diferencia de la dosis de 15 mg/l que fue la tuvo una mejor longitud de entrenudos, pero su tasa de propagación es baja (1.7 microesquejes a cada dos meses), en comparación de la dosis recomendada. Esta dosis coincide con lo recomendada por Lyrene.

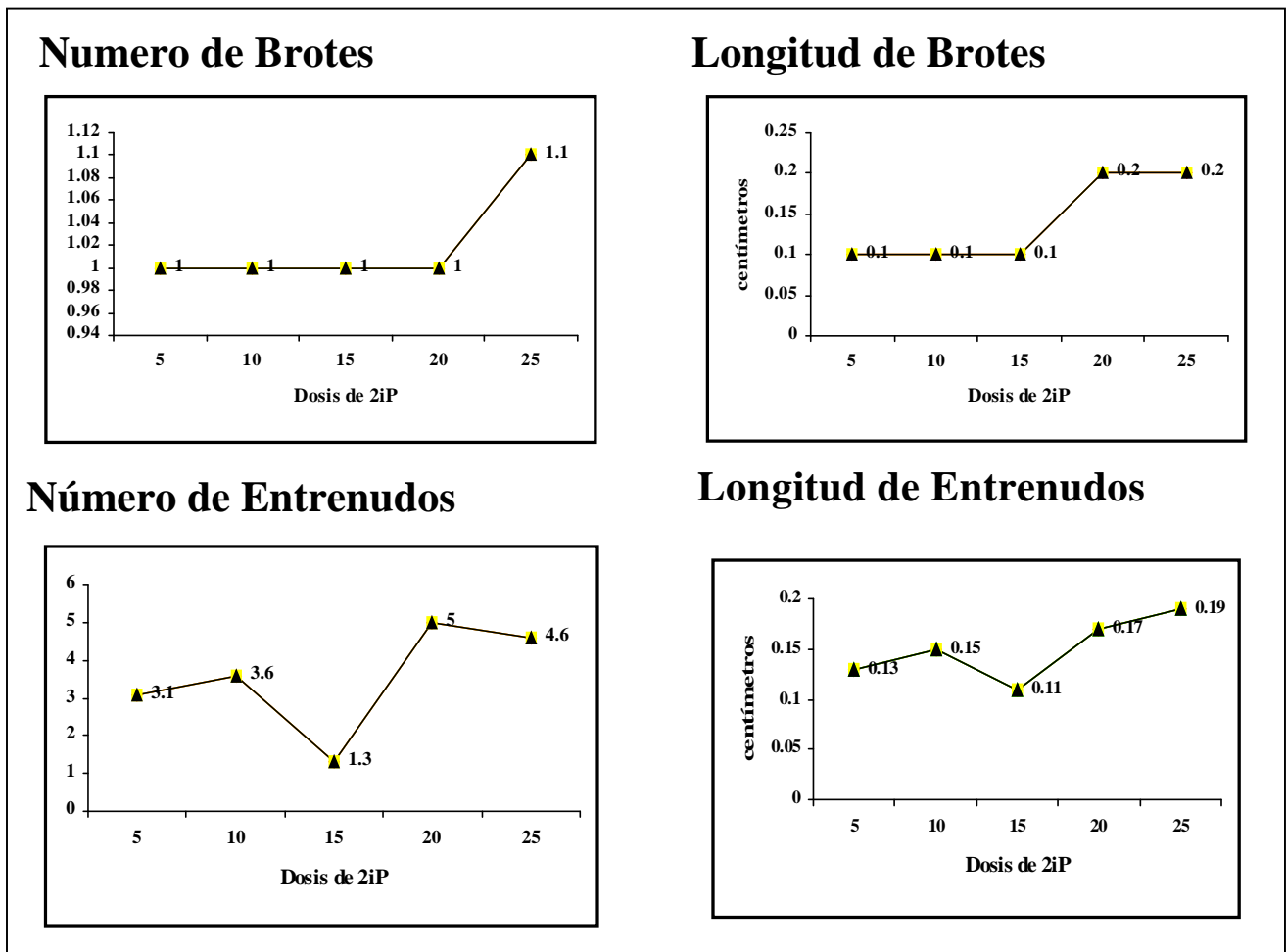
Figura 5. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Brighwell.



- **PREMIER**

Para el caso de la variedad Premier las diferencias entre las dosis de 20 y 25 mg/l son mínimas porque la tasa de propagación de la dosis de 20 mg/l es de 5.0 y el de la dosis de 25 mg/l es de 5.1 microesquejes por explante a cada dos meses, el aspecto por el que se llegó a la recomendación, fue el punto de vista económico, porque la diferencia numérica no es suficiente como para justificar el aumento de USD \$ 0.05 por litro de medio en los costos. Es importante mencionar que también la utilización de concentraciones altas de citocininas, hay una tendencia para que los brotes adventicios sean producidos una vez entren en contacto con el medio, como lo menciona Eccher (1984).

Figura 6. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Premier.



8.2. ETAPA DE PROPAGACIÓN

8.2.1 Número de brotes

Como se observa en el cuadro 5A, en el caso de la variedad Woodard la dosis que tuvo una mejor respuesta a la inducción de brotes fue la de 5 mg/l de 2iP, alcanzando una producción de un 40% más, para obtener otro brote, además, desde el punto de vista económico, sabemos que es la más económica.

Con la variedad Tifblue que no existieron diferencias significativas con las dosis de 10 y 15 mg/l de 2iP, pero, económicamente sí existen diferencias entre las dosis, siendo su diferencia en costos de USD \$ 0.05 por litro de medio. También podemos observar que aumentó su producción en un 60% más para obtener otro brote.

La dosis de 5 mg/l también fue la más adecuada para la variedad Briteblue y aunque no existen diferencias significativas con las dosis de 15, 20 y 25 mg/l, sabemos que económicamente sí las hay. Algo importante para tomar en cuenta es que de un microesqueje, sembrado para la propagación, estas cuatro dosis, nos proporcionaron un brote con por lo menos mas de tres microesquejes, haciendo satisfactoria su propagación.

Con la variedad Brighthwell observamos que la dosis que tuvo mejor respuesta a la inducción de brotes fue la de 20 mg/l de 2iP, aunque estadísticamente no se observó diferencias con la dosis de 25 mg/l de 2iP, sabemos desde el punto de vista económico es de USD \$ 0.05 por litro de medio.

Con la variedad Climax no se observaron diferencias significativas entre las dosis de 2iP, pero la dosis de 15 mg/l de 2iP, nos aumenta un 10% la producción de inducir otro brote más, lo que, desde el punto de vista técnico, es de mucha importancia.

Y por último, con la variedad Premier, las dosis en que tuvieron una mejor respuesta a la inducción de brotes fueron las de 5 y 20 mg/l de 2iP, aunque su capacidad de producir un brote sea de tan sólo un 20%.

8.2.2 Longitud de brotes

Como en el cuadro 6A, en el caso de la variedad Woodard, la dosis de 10 mg/l de 2iP fue la que tuvo mejor respuesta a la longitud de brotes.

En el caso de la variedad Climax que no hubo diferencias significativas entre las dosis de 5, 10, 20, y 25 mg/l de 2iP, pero desde el punto de vista económico la dosis de 5 mg/l de 2iP, es la más conveniente.

Con la variedad Tifblue, se observa que las dosis en que tuvieron mejores resultados fueron las de 5 y 20 mg/l de 2iP, pero sabemos que, económicamente, hay una diferencia de US\$ 0.15 por litro de medio.

Con la variedad Briteblue, se observa que la dosis de 5 mg/l de 2iP, es la que se observa que tuvo mejores resultados en la longitud de brotes.

En el caso de la variedad Brighthwell, se observa que la dosis de 25 mg/l de 2iP, se obtuvo una mejor respuesta a esta variable de respuesta, aunque sabemos que mayor concentración de una citocinina, aumenta la probabilidad de que haya alguna mutación en las siguientes propagaciones de este material.

Y por último, con la variedad Premier, se observa que la dosis de 5 mg/l de 2iP, es la que tiene una mejor respuesta a la longitud de brotes.

8.2.3. Número de entrenudos

En el caso de la variedad Woodard se observa en el cuadro 7A, aunque no se observan diferencias significativas entre las dosis de 10 y 15 mg/l de 2iP, aunque, desde el punto de vista económico, la dosis más adecuada es la de 10 mg/l de 2iP, observándose la tasa de propagación más alta, que es de 9.2 entrenudos por microesqueje sembrado, a cada dos meses.

En el caso de la variedad Climax que no existe diferencia entre las dosis de 10 y 20 mg/l, pero en costos la diferencia es de USD \$ 0.10 por litro de medio, siendo la dosis de 10 mg/l de 2iP, la dosis más adecuado.

Con respecto a la variedad Tifblue, que la dosis de 15 mg/l de 2iP, es la que produce una mayor tasa de propagación, que es de 8 entrenudos por explante cada dos meses.

Para la variedad Brighthwell, que no existe diferencia significativa entre las dosis de 20 y 25 mg/l de 2iP, pero, desde el punto de vista económico y por su tasa de propagación (5.4 entrenudos por explante cada dos meses, la dosis de 20 mg/l de 2iP, es la más adecuada.

En el caso de la variedad Briteblue, que no existe diferencia significativa entre las dosis de 15 y 25 mg/l de 2iP, aunque, desde el punto de vista económico, la dosis de 15 mg/l de 2iP, es más económica y, además, su tasa de propagación es más alta.

Y por último, con la variedad Premier, que no existe diferencia significativa, estadísticamente, ni en su tasa de propagación, entre las dosis de 5 y 20 mg/l de 2iP, pero sí las hay desde el punto de vista económico, siendo esta diferencia de USD \$ 0.15 por litro de medio.

8.2.4. Longitud de entrenudos

Como se observa en el cuadro 8A, con las variedades Woodard y Tifblue, la dosis que tuvo una mayor longitud de entrenudos fue la de 10 mg/l de 2iP.

Con las variedades Brighthwell y Climax que la dosis de 25 mg/l de 2iP es la que tuvo mejor respuesta a la longitud de entrenudos.

8.2.5 Análisis conjunto de las variables de respuesta y dosis recomendada para cada una de las variedades.

Según los resultados y un estricto análisis tomando en cuenta los puntos de vista más importantes para el investigador, se llegó a recomendar la dosis más adecuada para cada variedad. Como en el caso de etapa de establecimiento, es importante mencionar los factores positivos y negativos que pudieron afectar en la obtención de los diferentes resultados, para cada variedad, además como vamos observar solo las variedades como Woodard, Climax y Tifblue; poseen resultados favorables para llevar a cabo alguna propagación

masiva o para llevar a cabo un proyecto. En esta etapa, se tuvieron algunos inconvenientes como es el caso de la temperatura en los cuartos de crecimiento, ya que por un lapso de dos semanas existieron fallos en el aire acondicionado, lo que provoco un aumento en la temperatura de entre 28 y 30 °C, y como nos reporta Villalobos y Thorpe, que en la práctica se regula la temperatura del cuarto en dos grados centígrados por debajo de la que desea para los tejidos cultivados, puesto que la temperatura real de los tejidos en el interior de los recipientes de cultivo pueden ser mayor en dos o en cuatro grados centígrados a la del cuarto (19). Además es importante mencionar que una probable causa de los resultados obtenidos con las variedades Brighthwell y Premier, se debe a que, el material que se utilizó para la presente investigación era proveniente de brotes de plantas adultas, por lo que el material no fue el mas adecuado y pudo haber sido causa de los resultados obtenidos.

Como en el caso de la etapa de establecimiento, se tomó criterios para la recomendación de las dosis para cada variedad, en esta etapa también se tomaron los mismos criterios a diferencia de los siguientes dos aspectos:

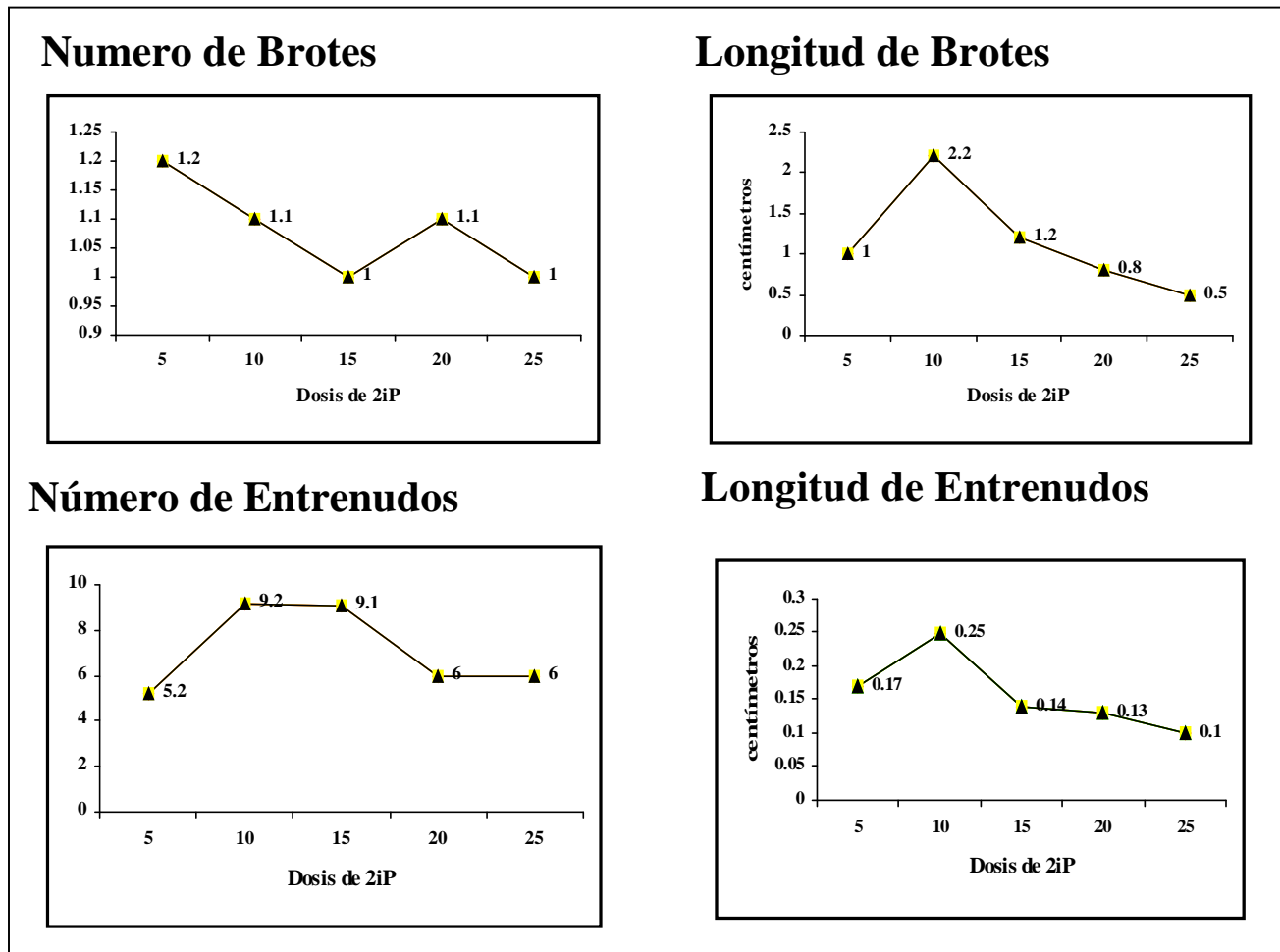
- A. Número de entrenudos: en este caso, en la propagación, esta variable nos indicaba, que número de microesquejes nos produjeron, por explante sembrado en esta etapa., lo que nos proporcionó la tasa de propagación.
- B. Número de brotes: esta variable nos indicó, que a mayor número de brotes, mayor su número de entrenudos y así se obtuvo una mayor su tasa de propagación.

● **WOODARD**

Para la variedad Woodard la dosis de 2iP recomendada es la de 10 mg/l, es la dosis que produce la tasa de propagación más alta, que es de 10.1 microesquejes por explante a cada dos meses, además, también es la dosis que muestra mejores resultados en la inducción en la longitud brotes y longitud de entrenudos, lo que nos facilitó su propagación, otra dosis que presenta resultados un poco favorables es la de 5 mg/l que, presente mejores resultados en el número de brotes pero su longitud de los mismos no es la mejor, por lo que

lo dosis de 10 mg/l es la que se recomienda, debido a que lo que se busca es producir brotes largos y firmes, para así aumentar el material en el siguiente subcultivo, como es citado por Smagula y Lyrene (1984).

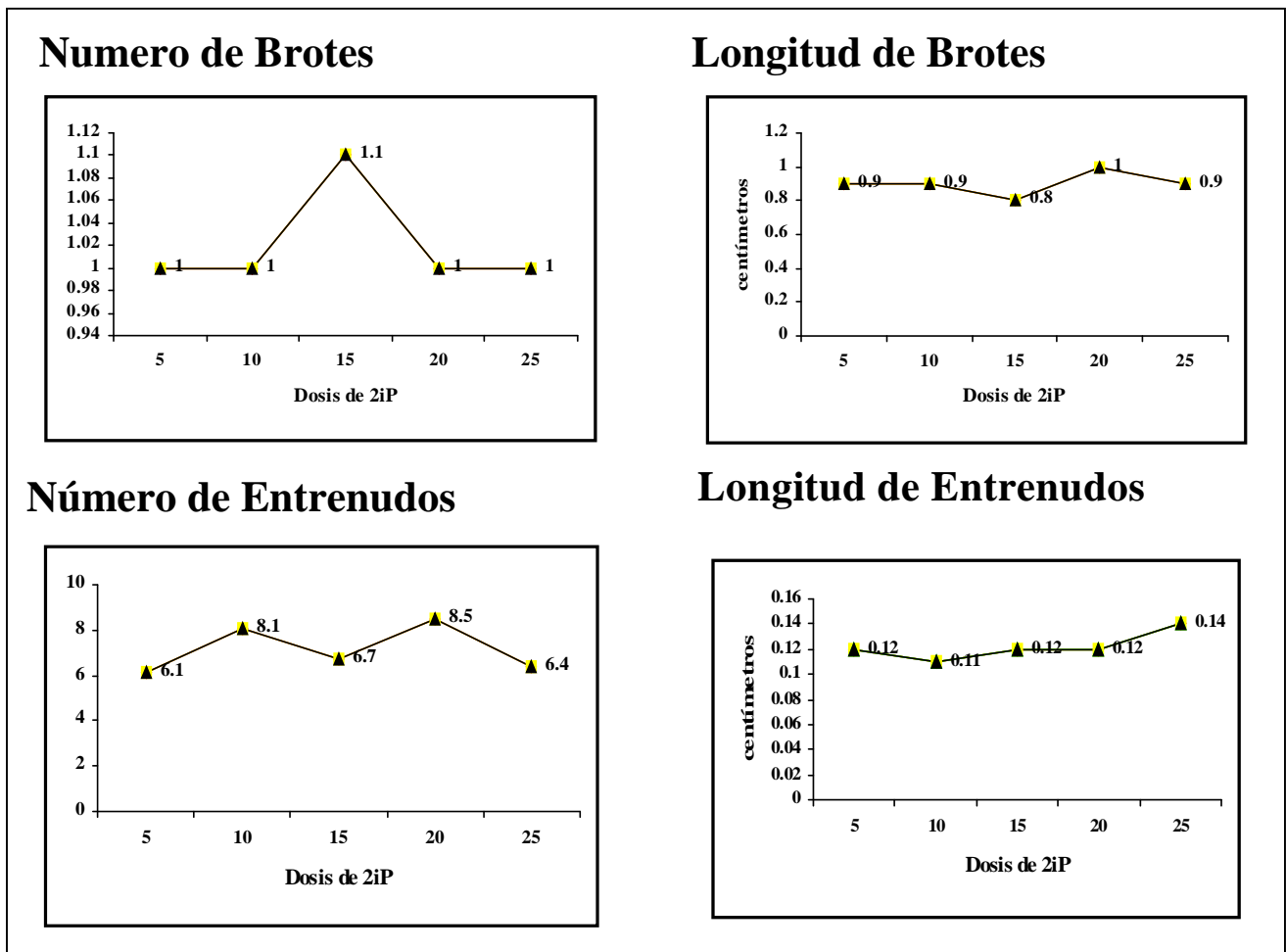
Figura 7. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Woodard.



- **CLIMAX**

Para la variedad Climax la dosis de 2iP recomendada es la de 20 mg/l, debido a que su tasa de propagación es de 8.5 microesquejes por explante a cada dos meses, además, es la dosis que induce la mayor longitud de brotes, que es un aspecto importante en tomar en cuenta para su siguiente subcultivo, debido a lo que se busca en la propagación es mayor longitud de brotes y mayor número de microesquejes, ya que si estos llegaran a entrar en contacto con el medio, habrían posibilidades de inducir brotes adventicios, como lo cita Eccher (1986). Otra dosis que presenta un resultado satisfactorio es la de 15 mg/l, que obtuvo mejores resultados en el número de brotes, pero su tasa de propagación es de 7.4 microesquejes por explante a cada dos meses.

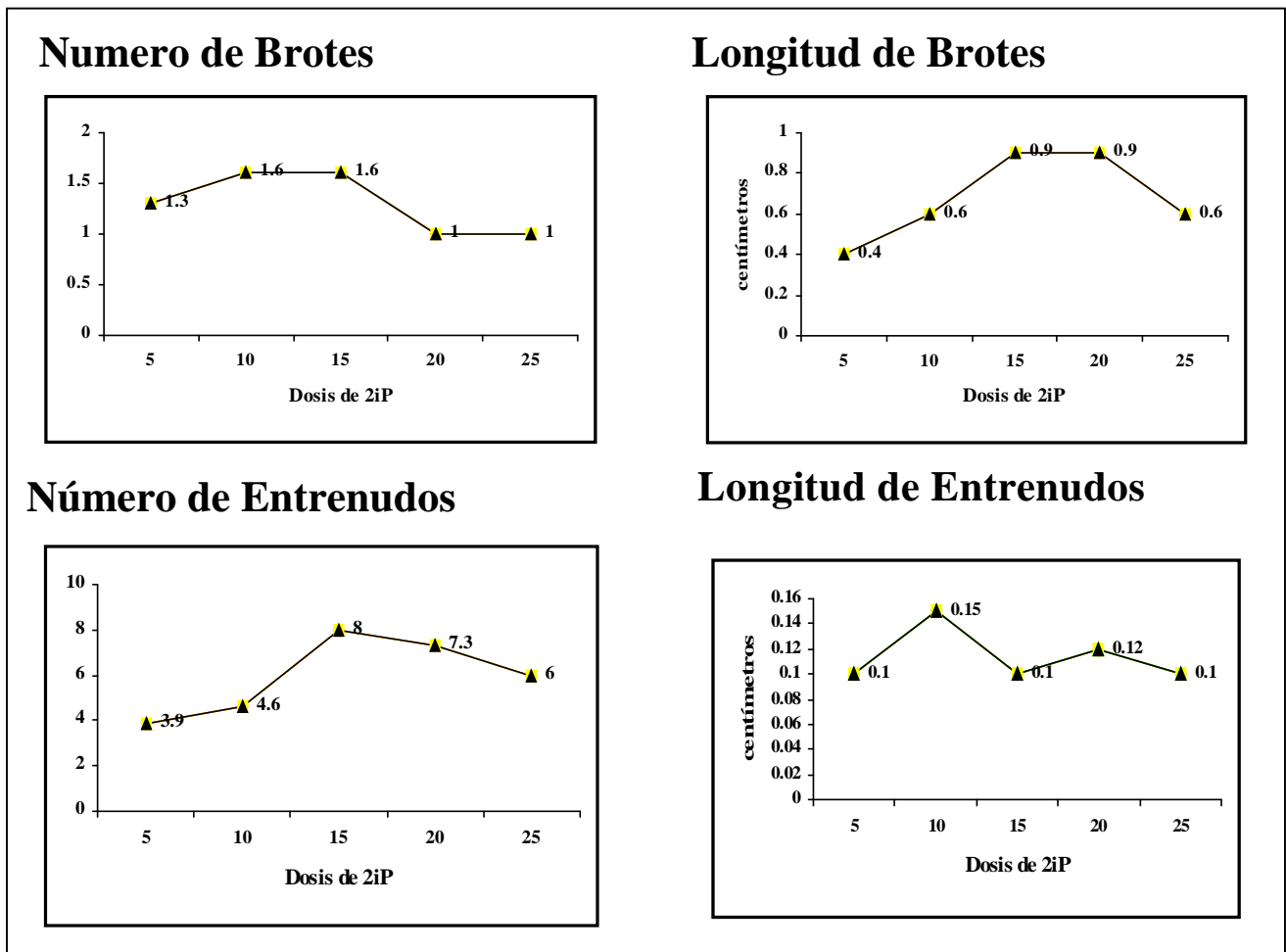
Figura 8. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Climax.



- **TIFBLUE**

Para la variedad Tifblue la dosis de 2iP recomendada es la de 15 mg/l, ya que su tasa de propagación es de 12.8 microesquejes explante a cada dos meses, pero en este caso se observa que su longitud de entrenudos es de 0.1 cm, que es el mismo resultado con las demás dosis. Respecto a este resultado, es importante mencionar que, aunque su tasa de propagación sea la más alta en comparación con las otras variedades, su trabajo de propagación se complica un poco más, debido a la corta distancia que existe entre cada entrenudo, lo que probablemente ocasionaría una mortandad mayor de los microesquejes sembrados, por lo tanto se tendría que propagar a cada dos entrenudos, lo que disminuiría su tasa de propagación. También se podría esperar a observar otra siguiente propagación para observar alguna posible variación, ya que como es citado por Lyrene (1980), son brotes pequeños, que produjeron entrenudos cortos, similares a los producidos en semilleros y que tienen la misma alta capacidad de supervivencia y proliferación.

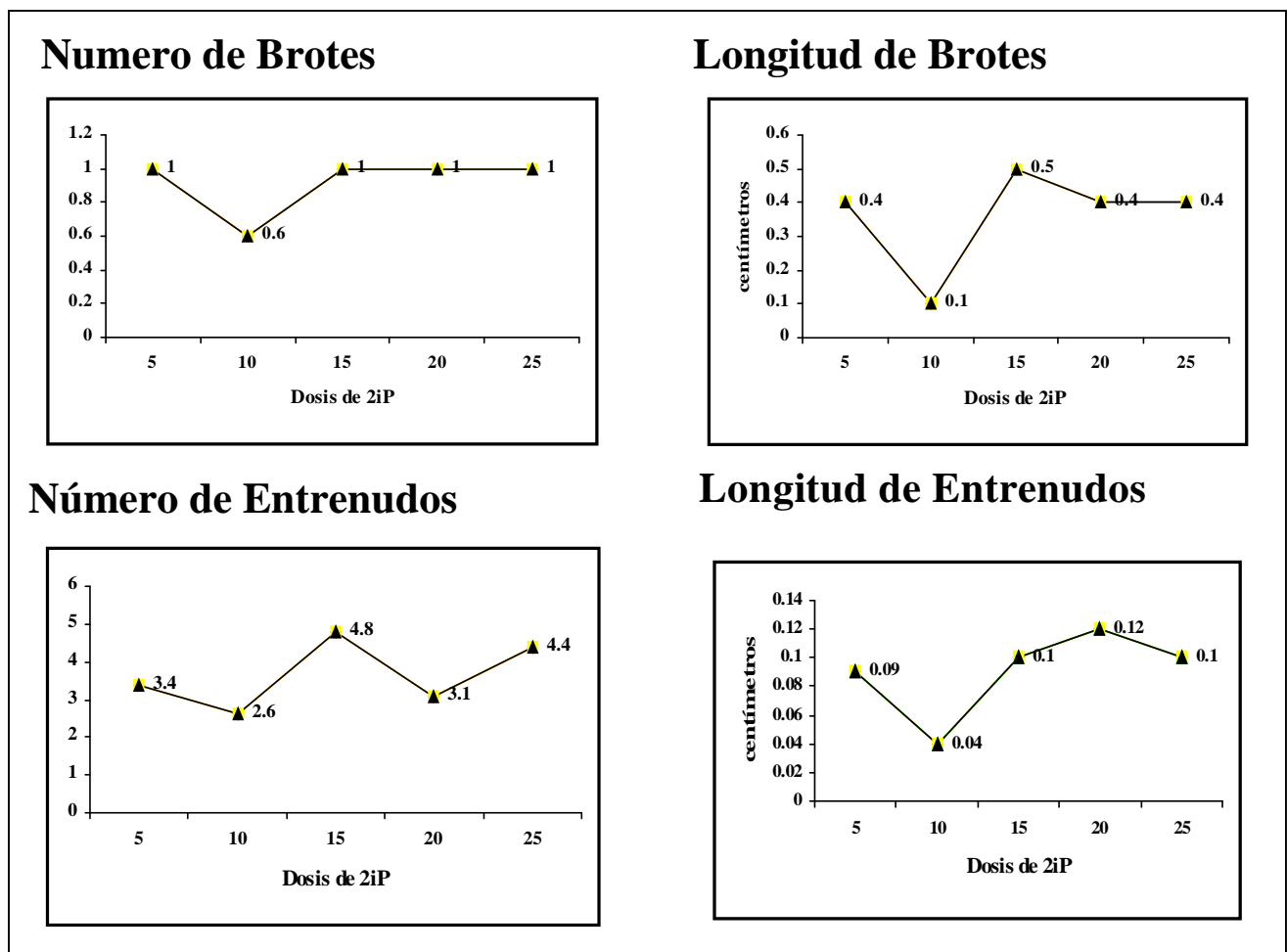
Figura 9. Gráficas de la variables de respuesta para la variedad Tifblue.



- **BRITEBLUE**

Para la variedad Briteblue la dosis de 2iP recomendada es la de 15 mg/l, que tuvo una tasa de propagación de 4.8 microesquejes por explante cada dos meses. Es importante mencionar que su longitud de brotes (0.5 cm) y longitud de entrenudos (0.1 cm), es pequeña, lo que dificulta su propagación, además observamos que tuvo una gran reducción en la longitud de brotes, en comparación a los datos obtenidos en la etapa de iniciación (1.3 cm), y su número de microesquejes por explante fue muy similar. Estos datos sirvieron para explicar el porque la longitud de entrenudos es pequeña, ya que el mismo número de entrenudos se produjeron en una longitud de brote mucho mas corto. Es importante añadir que los resultados no son del todo satisfactorios. Por lo que no se recomienda iniciar una masiva propagación hasta no obtener resultados mas favorables, en esta etapa.

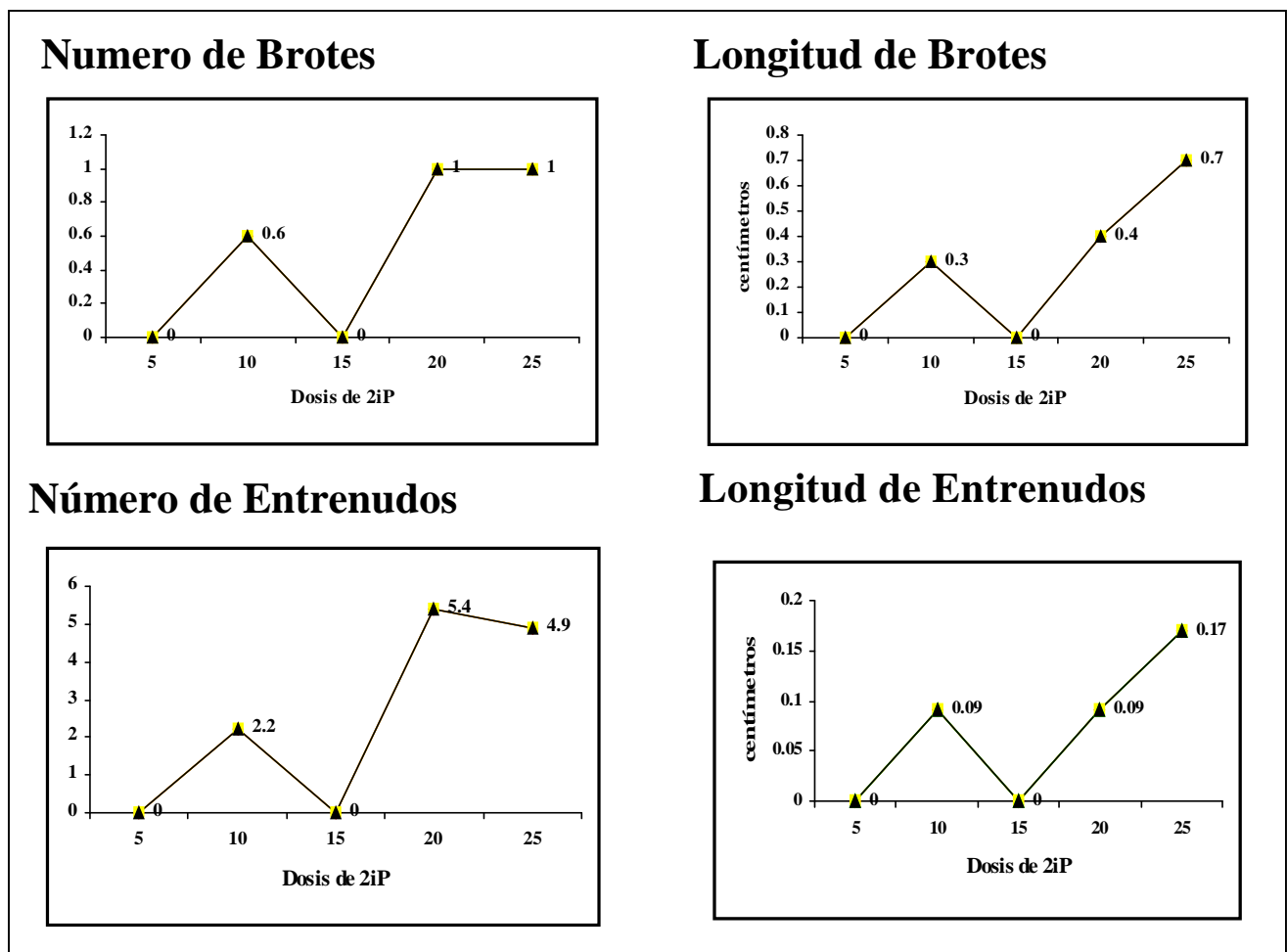
Figura 10. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Briteblue.



- **BRIGHWELL**

Para la variedad Brighthwell la dosis de 2iP recomendada es la de 25 mg/l, aunque su tasa de propagación no sea la más alta, pero su longitud de brotes y longitud de entrenudos, si lo es y por esta razón es la dosis más adecuada porque facilita un poco más su propagación. Aunque se observa que la dosis recomendada, es la que podría ser la mas adecuada para la propagación, es importante mencionar que como se tuvieron problemas a nivel de laboratorio, en el control de la temperatura, pudieron haber sido afectadas las plantas y en este caso, Oesta variedad es menos tolerante a temperaturas altas in vitro. Es importante mencionar que casi todas las unidades experimentales que poseían las dosis de entre 5 y 15 mg/l se perdieron, por lo que el rango de la dosis recomendada se quedo entre 20 25 mg/l de 2iP y esto pudo haber sido debido a que se observó marchités en los explantes.

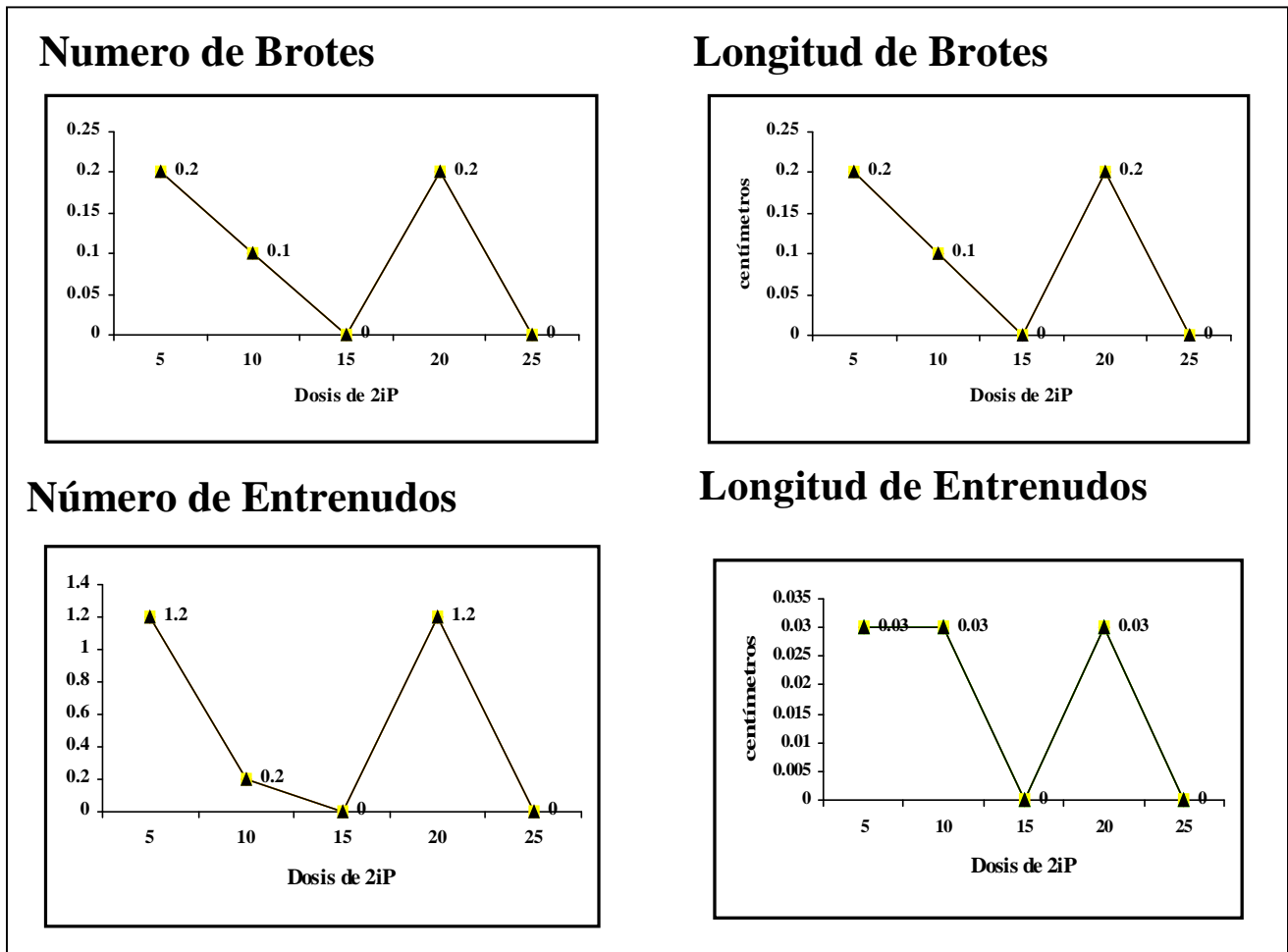
Figura 11. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Brighthwell.



- **PREMIER**

Para la variedad Premier, no podemos recomendar ninguna de las dosis, ya que se perdieron en un 95% las unidades experimentales de esta variedad, observándose como en la variedad Brighthwell, una marchitez en el explante. También como en el caso de la variedad Brighthwell, se llegó a la determinación de que esta variedad también pudo haber sido afectada por la alta temperatura que se manejó durante dos semanas dentro de los cuartos de crecimiento. Los resultados observados tanto en la variedad Brighthwell como en esta variedad, esta fase de propagación no son del todo satisfactorios, ya que se observó una gran disminución en el material existente, debido a una gran mortandad, que pudieron haber sido afectados debido a que las dosis de 2iP, no son del todo adecuadas, sino que también por el método de propagación.

Figura 12. Gráficas de las variables de respuesta para la variedad Premier.



9. CONCLUSIONES

9.1 Para la fase de iniciación las dosis de 2 isopentenil adenina (2iP) más adecuadas para cada una de las variedades en estudio son las siguientes:

VARIEDAD	DOSIS DE 2iP (mg/l)
Climax	5
Tifblue	5
Briteblue	10
Woodard	15
Brigthwell	20
Premier	20

9.2 Para la fase de propagación las dosis de 2 isopentenil adenina (2iP) más adecuadas para cada una de las variedades en estudio son las siguientes:

VARIEDAD	DOSIS DE 2iP (mg/l)
Woodard	10
Briteblue	15
Tifblue	15
Climax	20
Brigthwell	25

10. RECOMENDACIONES

- 10.1** Se recomienda que para la etapa de establecimiento de las variedades Brighthwell y Premier se haga una mejor selección del material en el campo, utilizando brotes tiernos y de buena calidad y así poder observar mejores resultados en su iniciación.
- 10.2** Se recomienda que para la etapa de propagación para las variedades Briteblue, Brighthwell y Premier, se evalúe otro método de propagación, como el de hojas provenientes de una planta *in vitro*.
- 10.3** Se recomienda utilizar otros medios de cultivo reportados para otras especie de *Vaccinium*, para las variedades de Briteblue, Brighthwell y Premier, y evaluar su propagación *in vitro*.
- 10.4** Se recomienda evaluar la aclimatación de las variedades de las plantas regeneradas satisfactoriamente.

11. BIBLIOGRAFIA

1. BARCELO, J. 1980. Fisiología vegetal. Ediciones Pirámide. Madrid, España. 750 p.
2. BIDWELL, R. 1990. Fisiología vegetal. 1ra. ed. Trad. por Guadalupe Jerónimo Cano y Cano y Manuel Rojas Garcidueñas. México, D.F. 784 p.
3. DOODS, J.; LORIN, W. 1985. Experiments in plant tissue culture. 2a. ed. New York, EE.UU. Cambridge University Press. 232 p.
4. ESPINOSA, N. 1992. Cultivo de tejidos: micropropagación, conservación y exportación de germoplasma de papa. Guía de investigación CIP (Perú) no. 1: 1 - 19.
5. FUNDAMENTOS TEORICO-PRACTICOS del cultivo de tejidos vegetales. 1990. Ed. C. Rosse y V. Villalobos. Roma, FAO. Producción y protección vegetal. 105, s.p.
6. GEORGE, E. 1993. Plant propagation by tissue culture. 2a. ed., edit. Exegetics Limited, Inglaterra. 1361 pp.
7. HANDBOOK OF plant cell culture. 1984. ed. D.A. Evans. New York, EE.UU. M^cmillan. V. 3. 620 p.
8. HORTON, D. 1987. Potatoes, production, marketing and programs for developing Countries. London, Westriew Press. 243 p.
9. KRIKORIAN, A. 1991. Medios de cultivo: generalidades, composición y preparación. En: cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones, ed. William Roca y Luis A. Mroginski. Colombia, CIAT. 41-69 pp.
10. ----- 1991. Propagación clonal *in vitro*. En: cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones, ed. William Roca y Luis A. Mroginski. Colombia, CIAT. 95-125 pp.
11. MARTIN, C. 1985. La multiplicación de las plantas en probeta. Mundo científico (España) no. 44:160-169.
12. MROGINSKI, L. ROCA, W. 1991. Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales *in vitro*. En: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones. Ed. William Roca y Luis A. Mroginski. Colombia, CIAT. p. 19 -40.
13. DÍA DE CAMPO PARCELAS DE INVESTIGACIÓN DEL CULTIVO DE ARANDANOS. (1.18 septiembre de 2002, San Juan Chamelco. Alta Verapáz. Guatemala). Parcelas de investigación del cultivo de arándano. La Asociación Gremial de Exportadores de Productos No Tradicionales (AGEXPRONT) y el Programa de investigación y Desarrollo Agrícola (PIDA), con el apoyo financiero del Fondo Multilateral de Inversiones (ARF) a travez del Banco Interamericano de Desarrollo (BID-FOMIN). 8 p.
14. PEREA, M.; NAVARRO, A. 1988. Técnicas *in vitro*. Universidad Nacional, Costa Rica, s.n 88p.

15. RESUMEN DEL PROGRAMA DE FOMENTO DE LAS EXPORTACIONES AGRÍCOLAS NO TRADICIONALES. 2000. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (MAGA) y Asociación Gremial de Exportadores de Productos no Tradicionales (AGEXPRONT). Gobierno de Guatemala a través del Ministerio de Finanzas Públicas. 23 p.
16. ROCA, W. 1991. Métodos de conservación *in vitro* de germoplasma. En: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones. ed. William Roca y Luis A. Mroginski. Colombia, CIAT. p. 698-713.
17. SHIDE-RENTSCHLER, L.; SFIMIEDICHE, P. 1984. El cultivo de tejidos, su pasado, presente y futuro. CIP. Circular (Perú) 12(1):1-12.
18. USUI, K. 1996. Principios Básicos del Cultivo de Tejidos Vegetales. ICTA-JOCV, Guatemala. 166 p.
19. VILLALOBOS, V.; THORPE, T. 1991. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. En: Cultivo de tejidos en la agricultura, fundamentos y aplicaciones. ed. William Roca y Luis A. Mroginski. CIAT, Colombia. p. 127-141.
20. WHITE, P. 1934. Potentially unlimited growth of excised tomato root tips in a liquid medium. Plant Physiol. 9:585-600.
21. www.fundeh.cl/dt/allberr2000/arand2.htm.
22. [www.agrobit.com.ar/Info-tecnica/alternat ...](http://www.agrobit.com.ar/Info-tecnica/alternat...)
23. www.agroneg.com/articulos/0003.htm

A P E N D I C E

Cuadro 1A. Prueba “t” para la variable número de brotes en la fase de iniciación.

VARIEDAD	DOSIS DE 2iP	NÚMERO DE BROTOS	PRUEBA “t” al 15%		
Tifblue	15	1.8	A		
Brightwell	20	1.7	A		
Climax	20	1.7	A		
Brightwell	15	1.6	A		
Brightwell	25	1.6	A		
Woodard	15	1.6	A		
Tifblue	20	1.4	A		
Climax	5	1.4	A		
Woodard	10	1.4		B	
Climax	15	1.3		B	
Woodard	20	1.3		B	
Climax	25	1.2		B	
Tifblue	5	1.2		B	
Tifblue	25	1.2		B	
Briteblue	5	1.2		B	
Briteblue	25	1.2		B	
Brightwell	10	1.1			C
Woodard	5	1.1			C
Woodard	25	1.1			C
Premier	25	1.1			C
Briteblue	10	1.0			C
Briteblue	15	1.0			C
Briteblue	20	1.0			C
Brigthwell	5	1.0			C
Climax	10	1.0			C
Premier	5	1.0			C
Premier	10	1.0			C
Premier	15	1.0			C
Premier	20	1.0			C

Cuadro 2A. Prueba “t” para la variable longitud de brotes en la fase de iniciación.

VARIEDAD	DOSIS DE 2-iP	LONGITUD DE BROTOS (cm)	PRUEBA “t” al 15%		
Briteblue	10	1.3	A		
Woodard	5	1.2	A		
Woodard	15	1.2	A		
Woodard	10	1.1	A		
Climax	5	1.1	A		
Climax	15	1.0	A		
Climax	10	1.0	A		
Premier	25	0.9	A		
Tifblue	5	0.9	A		
Tifblue	10	0.9	A		
Woodard	20	0.9	A		
Premier	20	0.8	A		
Tifblue	25	0.8		B	
Briteblue	25	0.7		B	
Premier	10	0.7		B	
Climax	20	0.7		B	
Briteblue	15	0.7		B	
Tifblue	15	0.6		B	
Briteblue	20	0.6		B	
Climax	25	0.6		B	
Brightwell	20	0.6		B	
Brightwell	25	0.6		B	
Tifblue	20	0.6		B	
Briteblue	5	0.5		B	
Premier	5	0.5		B	
Woodard	25	0.5		B	
Brightwell	15	0.4		B	
Brightwell	10	0.3			C
Brightwell	5	0.2			C
Premier	15	0.2			C

Cuadro 3A. Prueba “t” para la variable número de entrenudos en la iniciación.

VARIEDAD	DOSIS DE 2-iP	NÚMERO DE ENTRENUDOS	Prueba “t” al 15%			
Woodard	15	6.9	A			
Woodard	5	6.3	A			
Woodard	10	6.1	A			
Briteblue	10	5.0	A			
Climax	10	5.1	A			
Premier	20	5.0	A			
Climax	15	4.9		B		
Tifblue	5	4.9		B		
Woodard	20	4.8		B		
Climax	5	4.6		B		
Premier	25	4.6		B		
Briteblue	25	4.0		B		
Tifblue	10	3.9		B		
Tifblue	25	3.9		B		
Brightwell	20	3.7		B		
Woodard	25	3.7		B		
Premier	10	3.6		B		
Climax	20	3.6		B		
Tifblue	20	3.3		B		
Briteblue	5	3.2		B		
Briteblue	15	3.2		B		
Tifblue	15	3.2		B		
Premier	5	3.1		B		
Briteblue	20	3.1			C	
Climax	25	2.9			C	
Brightwell	25	1.7			C	
Premier	15	1.3				D
Brightwell	10	1.1				D
Brightwell	5	1.0				D
Brightwell	15	1.0				D

Cuadro 4A. Prueba “t” para la variable longitud de entrenudos en la fase de iniciación.

VARIEDAD	DOSIS DE 2-iP	LONGITUD DE ENTRENUDOS (cm)	PRUEBA “t” al 15%		
Brightwell	15	0.4	A		
Brightwell	25	0.3	A		
Brightwell	10	0.3		B	
Woodard	20	0.3		B	
Brightwell	5	0.2		B	
Climax	5	0.2		B	
Climax	15	0.2		B	
Briteblue	15	0.2		B	
Climax	25	0.2		B	
Tifblue	15	0.2		B	
Tifblue	25	0.2		B	
Tifblue	10	0.2		B	
Briteblue	20	0.2		B	
Woodard	5	0.2		B	
Premier	25	0.2			C
Climax	20	0.2			C
Briteblue	25	0.2			C
Climax	10	0.2			C
Briteblue	5	0.2			C
Premier	20	0.2			C
Woodard	10	0.2			C
Briteblue	10	0.2			C
Woodard	15	0.2			C
Tifblue	5	0.2			C
Brightwell	20	0.2			C
Tifblue	20	0.2			C
Premier	10	0.1			C
Premier	5	0.1			C
Woodard	25	0.1			C
Premier	15	0.1			C

Cuadro 5A. Prueba de “t” para la variable número de brotes en la fase de propagación.

VARIEDAD	DOSIS DE 2iP	NÚMERO DE BROTOS	PRUEBA "t" al 15%			
Tifblue	15	1.6	A			
Tifblue	10	1.6	A			
Woodard	5	1.4	A			
Tifblue	5	1.3		B		
Woodard	10	1.1		B		
Climax	15	1.1		B		
Woodard	20	1.1		B		
Briteblue	5	1.0		B		
Briteblue	15	1.0		B		
Briteblue	20	1.0		B		
Briteblue	25	1.0		B		
Brighthwell	20	1.0		B		
Brighthwell	25	1.0		B		
Climax	5	1.0		B		
Climax	10	1.0		B		
Climax	20	1.0		B		
Climax	25	1.0		B	C	
Tifblue	20	1.0			C	
Tifblue	25	1.0			C	
Woodard	15	1.0			C	
Woodard	25	1.0			C	
Briteblue	10	0.6				D
Brighthwell	10	0.7				D
Premier	5	0.2				E
Premier	20	0.2				E
Premier	10	0.1				E
Brighthwell	15	0.0				E
Brighthwell	15	0.0				E
Premier	15	0.0				E
Premier	25	0.0				E

Cuadro 6A. Prueba de “t” para la variable longitud de brotes en la fase de propagación.

VARIEDAD	DOSIS DE 2iP	LONGITUD DE BROTOS	PRUEBA "t" al 15%			
Woodard	10	2.2	A			
Woodard	15	1.1		B		
Climax	20	1.0		B		
Woodard	5	1.0		B		
Climax	10	0.9		B		
Tifblue	20	0.9		B		
Climax	25	0.9		B		
Climax	5	0.9		B		
Tifblue	15	0.9		B	C	
Climax	15	0.8			C	
Woodard	20	0.7			C	
Brighthwell	25	0.7			C	
Tifblue	10	0.6			C	
Tifblue	25	0.6			C	
Woodard	25	0.5			C	
Briteblue	15	0.5			C	
Brighthwell	20	0.4				D
Tifblue	5	0.4				D
Briteblue	25	0.4				D
Briteblue	5	0.4				D
Briteblue	20	0.4				D
Brighthwell	10	0.3				D
Premier	5	0.2				D
Premier	20	0.2				D
Briteblue	10	0.1				D
Premier	10	0.1				D
Brighthwell	5	0.0				D
Brighthwell	15	0.0				D
Premier	15	0.0				D
Premier	25	0.0				D

Cuadro 7A. Prueba de “t” para la variable número de entrenudos en la fase de propagación.

VARIEDAD	DOSIS DE 2iP	NÚMERO DE ENTRENUDOS	Prueba "t" al 15%				
Woodard	10	9.2	A				
Woodard	15	9.1	A				
Climax	20	8.5	A				
Climax	10	8.1	A				
Tifblue	15	8.0	A				
Tifblue	20	7.3		B			
Climax	15	6.7		B			
Climax	25	6.4		B			
Climax	5	6.1		B			
Tifblue	25	6.0		B			
Woodard	20	6.0		B			
Woodard	25	6.0		B			
Brighthwell	20	5.4			C		
Woodard	5	5.2			C		
Brighthwell	25	4.8			C		
Briteblue	15	4.8			C		
Tifblue	10	4.6			C		
Briteblue	25	4.4			C		
Tifblue	5	3.8			C		
Briteblue	5	3.4				D	
Briteblue	20	3.2				D	
Briteblue	10	2.6				D	
Brighthwell	10	2.2				D	
Premier	5	1.2				D	
Premier	20	1.2				D	
Premier	10	0.2					E
Brighthwell	5	0.0					E
Brighthwell	15	0.0					E
Premier	15	0.0					E
Premier	25	0.0					E

Cuadro 8A. Prueba de “t” para la variable longitud de entrenudos en la fase de propagación.

VARIEDAD	DOSIS DE 2iP	LONGITUD DE ENTRENUDOS (cm)	PRUEBA "t" al 15%				
			A	B	C	D	E
Woodard	10	0.25	A				
Brigthwelll	25	0.17		B			
Woodard	5	0.17		B			
Tifblue	10	0.14		B			
Climax	25	0.14		B			
Woodard	15	0.14		B			
Woodard	20	0.13			C		
Climax	5	0.12			C		
Climax	15	0.12			C		
Tifblue	20	0.12			C		
Briteblue	20	0.12			C		
Climax	20	0.12			C		
Climax	10	0.11			C		
Tifblue	15	0.10			C		
Briteblue	15	0.10			C		
Tifblue	25	0.10			C		
Tifblue	5	0.09			C		
Wodard	25	0.09			C		
Briteblue	25	0.09			C		
Brigthwell	20	0.09				D	
Briteblue	5	0.09				D	
Brigthwell	10	0.09				D	
Briteblue	10	0.04					E
Premier	5	0.03					E
Premier	20	0.03					E
Premier	10	0.03					E
Brigthwell	15	0.00					E
Brigthwell	15	0.00					E
Premier	15	0.00					E
Premier	25	0.00					E

CUADRO 9A. Composición del medio de Lyrene (1980).

REACTIVOS	CONCENTRACIÓN EN EL MEDIO (mg/l)
KNO ₃	190
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	1,140
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,300
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,600
H ₃ BO ₃	6,200
KI	830
CuSO ₄ .5H ₂ O	20
NaMoO ₄ .2H ₂ O	250
CoCl ₂ .6H ₂ O	20
FeSO ₄ .7H ₂ O	55,600
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	74,600
Inositol	100
Tiamina.HCl	0.1
Acido nicotínico	0.5
Piridoxina-HCl	0.5
Glicina	0.2

CUADRO 10A. Lista de los reactivos para el medio de Lyrene (1980) y sus precios.

Reactivos	Presentación en el mercado	Precio (\$)	Cantidad de gramos para 1 litro de medio	Precio del litro de medio
KNO ₃	500 g	33.90	0.13	0.013
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	500 g	37.00	1.14	0.084
MgSO ₄ .7H ₂ O	500 g	27.50	0.37	0.02
KH ₂ PO ₄	500 g	40.60	0.17	0.014
MnSO ₄ .4H ₂ O	100 g	9.20	0.0156	0.0014
ZnSO ₄ .7H ₂ O	100 g	18.00	0.0086	0.0016
H ₃ BO ₃	500 g	25.00	0.0062	0.0003
KI	100 g	30.90	0.0008	0.0002
CuSO ₄ .5H ₂ O	250 g	20.90	0.00002	0.000002
NaMoO ₄ .2H ₂ O	100 g	30.10	0.00025	0.000075
CoCl ₂ .6H ₂ O	25 g	16.60	0.00002	0.000013
FeSO ₄ .7H ₂ O	250 g	20.20	0.056	0.0045
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	100 g	31.10	0.075	0.023
Agar	100 g	29.60	7.5	2.22
Azúcar	465 g	0.225	30	0.0145
Inositol	50 g	23.60	0.1	0.047
Tiamina-HCl	25 g	16.70	0.0001	0.000067
Acido nicotínico	100 g	13.70	0.0005	0.000068
Piridoxina-HCl	10 g	15.50	0.0005	0.00078
Caseina hidrolizada	250 g	31.80	0.3	0.038
Glicina	100 g	16.70	0.002	0.00033
2iP	1 g	53.80	0.0015	0.081
Phytigel	100 g	27.00	4.5	1.2
TOTAL		\$ 542.40		\$ 2.47
Transporte, impuestos y Comisiones.		x 2		x 2
		\$ 1084.8		\$ 4.94

$$\frac{1,000 \text{ ml / medio}}{\$ 4.94} \times 10 \text{ ml} = \$ 0.05 \text{ centavos / tubo}$$

CUADRO 11A. Costo estimado por litro de medio de cultivo.

Costos por litro de medio de 2iP	
Dosis (mg/l)	Precio por litro de medio (US\$)
5	4.84
10	4.89
15	4.94
20	4.99
25	5.04

FACTORES EVALUADOS

- **Factor N** : niveles de 2 isopentenil adenina (2iP), con 5 niveles
 - $N_1 = 5 \text{ mg/l}$
 - $N_2 = 10 \text{ mg/l}$
 - $N_3 = 15 \text{ mg/l}$
 - $N_4 = 20 \text{ mg/l}$
 - $N_5 = 25 \text{ mg/l}$

- **Factor V** : variedades de arándano, con 6 niveles
 - $V_1 = \text{Briteblue}$
 - $V_2 = \text{Brighthwell}$
 - $V_3 = \text{Premier}$
 - $V_4 = \text{Tifblue}$
 - $V_5 = \text{Climax}$
 - $V_6 = \text{Woodard}$

Cuadro 13A. Tratamientos evaluados.

No. de Tratamiento	Código del Tratamiento
1	N1V1
2	N1V2
3	N1V3
4	N1V4
5	N1V5
6	N1V6
7	N2V1
8	N2V2
9	N2V3
10	N2V4
11	N2V5
12	N2V6
13	N3V1
14	N3V2
15	N3V3
16	N3V4
17	N3V5
18	N3V6
19	N4V1
20	N4V2
21	N4V3
22	N4V4
23	N4V5
24	N4V6
25	N5V1
26	N5V2
27	N5V3
28	N5V4
29	N5V5
30	N5V6

PRUEBA DE SHAPIRO – WILKS

Para la variable Número de Brotes de la etapa de establecimiento

Variable=RESIDNB

Moments			
N	247	Sum Wgts	247
Mean	0	Sum	0
Std Dev	0.513272	Variance	0.263449
Skewness	1.747501	Kurtosis	3.849777
USS	64.80833	CSS	64.80833
CV	.	Std Mean	0.032659
T:Mean=0	0	Prob> T	1.0000
Sgn Rank	-2343	Prob> S	0.0288
Num ^= 0	240		
W:Normal	0.813167		
Prob<W	0.0		

Para la variable Longitud de Brotes de la etapa de establecimiento

Variable=RESIDLB

Moments			
N	247	Sum Wgts	247
Mean	0	Sum	0
Std Dev	0.630916	Variance	0.398055
Skewness	2.36503	Kurtosis	9.077342
USS	97.92159	CSS	97.92159
CV	.	Std Mean	0.040144
T:Mean=0	0	Prob> T	1.0000
Sgn Rank	-3397.5	Prob> S	0.0024
Num ^= 0	247		
W:Normal	0.822344	Prob<W	0.0

Para la variable Número de entrenudos de la etapa de establecimiento

Variable=RESIDNE

Moments			
N	247	Sum Wgts	247
Mean	0	Sum	0
Std Dev	2.489922	Variance	6.199713
Skewness	2.371974	Kurtosis	9.176519
USS	1525.129	CSS	1525.129
CV	.	Std Mean	0.15843
T:Mean=0	0	Prob> T	1.0000

Sgn Rank -3368 Prob>|S| 0.0026
Num ^= 0 247
W:Normal 0.820097 Prob<W 0.0

Para la variable Longitud de Entrenudos de la etapa de establecimiento

Variable=RESIDLE

N 247 Sum Wgts 247
Mean 0 Sum 0
Std Dev 0.070654 Variance 0.004992
Skewness 2.461153 Kurtosis 15.37644
USS 1.22803 CSS 1.22803
CV . Std Mean 0.004496
T:Mean=0 0 Prob>|T| 1.0000
Sgn Rank -1181 Prob>|S| 0.2943
Num ^= 0 247
W:Normal 0.836386 Prob<W 0.0

Para la variable Número de Brotes de la etapa de propagación

Variable=RESIDNB

Moments

N 223 Sum Wgts 223
Mean 0 Sum 0
Std Dev 0.358103 Variance 0.128238
Skewness 2.308361 Kurtosis 11.8719
USS 28.46886 CSS 28.46886
CV . Std Mean 0.02398
T:Mean=0 0 Prob>|T| 1.0000
Sgn Rank -6886 Prob>|S| 0.0001
Num ^= 0 220
W:Normal 0.736234 Prob<W 0.0

Para la variable Longitud de Brotes de la etapa de propagación

Variable=RESIDLB

N 223 Sum Wgts 223
Mean 0 Sum 0
Std Dev 0.445374 Variance 0.198358
Skewness 1.553894 Kurtosis 4.911693
USS 44.03551 CSS 44.03551
CV . Std Mean 0.029824
T:Mean=0 0 Prob>|T| 1.0000
Sgn Rank -2217.5 Prob>|S| 0.0212
Num ^= 0 223
W:Normal 0.881417 Prob<W 0.0

Para la variable Número de Entrenudos de la etapa de propagación

Variable=RESIDNE

Moments

N	223	Sum Wgts	223
Mean	0	Sum	0
Std Dev	2.357384	Variance	5.55726
Skewness	1.110391	Kurtosis	3.16247
USS	1233.712	CSS	1233.712
CV	.	Std Mean	0.157862
T:Mean=0	0	Prob> T	1.0000
Sgn Rank	-1562.5	Prob> S	0.1054
Num ^= 0	223		
W:Normal	0.931037	Prob<W	0.0001

Para la variable Longitud de Entrenudos de la etapa de propagación

Variable=RESIDLE

Moments

N	223	Sum Wgts	223
Mean	0	Sum	0
Std Dev	0.049625	Variance	0.002463
Skewness	1.08423	Kurtosis	2.891127
USS	0.5467	CSS	0.5467
CV	.	Std Mean	0.003323
T:Mean=0	0	Prob> T	1.0000
Sgn Rank	-1215.5	Prob> S	0.1930
Num ^= 0	218		
W:Normal	0.934117	Prob<W	0.0001

PRUEBA DE WILCOXON

NPARIWAY PROCEDURE

Para la variedad Número de Brotes de la etapa de establecimiento

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable NB
Classified by Variable TRATA

Kruskal-Wallis Test (Chi-Square Approximation)
CHISQ= 50.980 DF= 29 Prob > CHISQ= 0.0071

Para la variable Longitud de Entrenudos de la etapa de establecimiento

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable LB
Classified by Variable TRATA

Kruskal-Wallis Test (Chi-Square Approximation)
CHISQ= 67.939 DF= 29 Prob > CHISQ= 0.0001

Para la variable Número de Entrenudos de la etapa de establecimiento

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable NE
Classified by Variable TRATA

Kruskal-Wallis Test (Chi-Square Approximation)
CHISQ= 102.81 DF= 29 Prob > CHISQ= 0.0001

Para la variable Longitud de Entrenudos de la etapa de establecimiento

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable LE
Classified by Variable TRATA

Kruskal-Wallis Test (Chi-Square Approximation)
CHISQ= 70.833 DF= 29 Prob > CHISQ= 0.0001

Para la variable Número de Brotes de la etapa de propagación

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable NB
Classified by Variable TRATA

Kruskal-Wallis Test (Chi-Square Approximation)
CHISQ= 152.81 DF= 29 Prob > CHISQ= 0.0001

Para la variable Longitud de Brotes de la etapa de propagación

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable LB
Classified by Variable TRATA

Kruskal-Wallis Test (Chi-Square Approximation)
CHISQ= 139.43 DF= 29 Prob > CHISQ= 0.0001

Para la variable Número de Entrenudos de la etapa de propagación

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable NE
Classified by Variable TRATA

Kruskal-Wallis Test (Chi-Square Approximation)
CHISQ= 136.52 DF= 29 Prob > CHISQ= 0.0001

Para la variable Longitud de Entrenudos de la etapa de propagación

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable LE
Classified by Variable TRATA

Kruskal-Wallis Test (Chi-Square Approximation)
CHISQ= 115.48 DF= 29 Prob > CHISQ= 0.0001

Cedia