

ARTICLE / INVESTIGACIÓN

Efecto de diferentes tipos de sustratos y auxinas en el establecimiento *ex vitro* de segmentos nodales de arándano *Var. Biloxi***Effect of different substrates and auxins on *ex vitro* establishment of nodal segments of blueberry *Var. Biloxi***Leiva Mora Michel^{1*}, Andrea Alejandra Toapanta², Juan David Ati Tamayo³ and Tatiana Macarena Acosta³DOI: [10.21931/RB/2023.08.03.7](https://doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.7)¹ Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Agronomía, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.² Departamento de Agronomía, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.³ Departamento de Veterinaria, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica de Ambato, Ecuador.Corresponding author: m.leiva@uta.edu.ec

Resumen: La micropropagación de especies de *Vaccinium* mediante el uso del medio de cultivo Murashige Skoog (MS) suplementado con Benzil-amino-purina ha sido exitosamente desarrollada. El presente trabajo se propuso como objetivo, determinar el efecto de diferentes tipos de sustratos así como auxinas (ácido naftalenacético ANA, ácido indol acético AIA y ácido indol butírico AIB) sobre en el enraizamiento *ex vitro* y enraizamiento de segmentos nodales de arándano *Var. Biloxi* para conformar un banco de plantas donantes. Se utilizaron cinco combinaciones de sustratos, así como tres tipos de auxinas y sus concentraciones para determinar sus efectos en el enraizamiento *ex vitro* de segmentos nodales. Mediante el uso del sustrato compuesto a base de 40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba se logró el mayor porcentaje de enraizamiento *ex vitro* de *V. corymbosum Var. Biloxi*. Por otra parte, con la dosis de 100 ppm de ANA se alcanzó enraizamiento *ex vitro* de *V. corymbosum Var. Biloxi*. Con los resultados del presente trabajo se pudo conformar un banco de plantas juveniles de *V. corymbosum* que incrementan las posibilidades de establecer explantes *in vitro* como material de partida para la micropropagación masiva.

Palabras clave: aclimatización, ericaceae, fitohormonas, *Vaccinium*.

Abstract: Micropropagation of *Vaccinium spp.* using Murashige Skoog (MS) and benzylaminopurine (BAP) has been successfully developed. This work aimed to determine the effect of different types of substrates and auxins (naftalen acetic acid NAA, indol acetic acid IAA y, indol butyric acid IBA) on *ex vitro* establishment and rooting of nodal segments of *V. corymbosum Var. Biloxi* to create a donor bank of blueberry plants. The influence of five different substrates and three types of auxins using five concentrations was assessed for a better nodal segment *ex vitro* establishment. The 40 % coconut fiber substrate, 20 % pomine + 40 % peat improved *ex vitro* establishment of *V. corymbosum Var. Biloxi* nodal segments. Otherwise, using 100 ppm of NAA the *ex vitro* establishment of *V. corymbosum Var. Biloxi* nodal segments increased. These results will facilitate the conformation of a donor bank of youth plants of *V. corymbosum*, increasing possibilities of *in vitro* establishment for massive micropropagation.

Key words: Acclimatization, ericaceae, hormones, *Vaccinium*.

Introducción

El arándano es un arbusto perenne de la familia *Ericaceas*, género *Vaccinium*. Tiene como centro de origen América (25% en Norte América y un 10% de Centro y Sur América). Estados Unidos es el principal productor y exportador a nivel mundial. Actualmente es un cultivo con una gran demanda a nivel mundial por sus contenidos en antioxidantes (betacaroteno, antocianinas, vitamina C y ácido fólico), fibra y minerales¹.

Varios países han priorizado el desarrollo de herramientas que permitan la obtención de plantas de arándanos con calidad genética, fisiológica y fitosanitaria para incrementar el potencial productivo, mejorar y adaptar el cultivo a diversas condiciones edafoclimáticas y convertirlo en un

agronegocio de alta rentabilidad para los agricultores².

Se ha informado la presencia en Ecuador de aproximadamente unas 230 especies de la familia *Ericacea*, 131 de estas especies son endémicas, las cuales en su mayoría se ubican en bosques montanos nublados (1700–2500 msnm), con suelo bien drenados, ácidos, con alto contenido de material orgánica, la presencia de niebla, humedad y lluvias es un requerimiento bioecológico necesario para su buen desarrollo³. La mayoría de las especies poseen un porte bajo que puede alcanzar de 0.1–0.2 m de altura, en otros casos prevalece el porte arbustivo de 1–3 m y menos frecuentemente se encuentran especies que pueden llegar a los 10 m con porte arbórea⁴.

Citation: Leiva Mora M, Toapanta AA, Ati Tamayo J D, Acosta T M. Efecto de diferentes tipos de sustratos y auxinas en el establecimiento *ex vitro* de segmentos nodales de arándano *Var. Biloxi*. *Revis Bionatura* 2023;8 (3) 7. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.03.7>

Received: 28 May 2023 / **Accepted:** 15 July 2023 / **Published:** 15 September 2023

Publisher's Note: Bionatura stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



El cultivo de arándanos en Ecuador ha comenzado a desarrollarse en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Azuay, debido a las características de sus suelos y las condiciones climáticas las cuales son apropiadas para el cultivo. Acorde con la Federación de Productores y Exportadores de Arándanos (Fepexa), en Ecuador existían 50 hectáreas en producción en el 2021, superficie insuficiente para cubrir la demanda local.

La propagación por injertos y porta injertos en algunas variedades de arándanos es posible, mientras que en otras no se logran con éxito debido a problemas de incompatibilidad⁵. La propagación por estacas se realiza en viveros y depende del tipo y concentración de auxina, así como del cultivar que se desea enraizar⁶. Por último, la propagación mediante semillas botánicas no garantiza obtener plantas con estabilidad genética, lo cual reduce el potencial productivo.

La micropropagación vía organogénesis mediante el uso del medio de cultivo Murashige Skoog (MS) suplementado con Benzil-amino-purina también ha sido posible⁷. Sin embargo, una de las principales limitantes de las técnicas micropropagativas de arándanos radica en la ausencia de bancos de plantas donantes para el establecimiento *in vitro* de los explantes seleccionados, debido a un alto porcentaje de contaminación causada por microorganismos presente en los mismos. Esta situación provoca que los índices de establecimiento sean bajos y que se incremente notablemente el costo de las plantas micropropagadas así como la reducción de su calidad⁸.

En base a la problemática anterior el presente trabajo se propone como objetivo determinar el efecto de diferentes tipos de sustratos y auxinas sobre en el enraizamiento ex vitro y enraizamiento de segmentos nodales de arándano Var. Biloxi para conformar un banco de plantas donantes.

Materiales y métodos

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de biotecnología vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato en el período comprendido de marzo-septiembre 2021.

Material vegetal

Los segmentos nodales se tomaron a partir de plantas de arándanos de aproximadamente 50 cm de altura, crecidas en bolsas de 20 L que contenía como sustrato una mezcla homogénea de fibra de coco 80% + perlita 20%. Como promedio los segmentos nodales tenían 1.5 cm de longitud. Para determinar el efecto de diferentes tipos de auxinas y sus concentraciones se realizaron ensayos para cada tipo de auxina.

Ensayo 1. Influencia de diferentes sustratos en el enraizamiento ex vitro de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. Biloxi (tabla 1).

Ensayo 2. Influencia de tres tipos de auxinas y sus concentraciones en el enraizamiento ex vitro de segmentos nodales de arándano Var. Biloxi (tabla 2).

Control sin auxina

En ambos ensayos se utilizaron diez segmentos nodales por cada tratamiento, así como el control. Durante 15 minutos fueron sumergidos cada solución de auxina. Posteriormente se colocó cada esqueje en un recipiente plástico de 500 mL de capacidad que contenía 450 mL de cada sustrato preparado. Las plantas fueron regadas diariamente y se colocaron en la parte superior vasos plásticos transparentes para mantener la humedad y evitar deshidratación del material vegetal.

Evaluaciones

Se determinó el porcentaje de enraizamiento ex vitro a los 15, 24, 30 y 42 días para cada ensayo.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar. Los datos registrados fueron analizados mediante el paquete estadístico SPSS versión 26.0. Para comprobar si los datos tenían distribución normal se utilizó la prueba de Kolmogorov Smirnov, mientras que para determinar si existía homogeneidad de varianza se utilizó la prueba de Levene. Para separar las medias se utilizó la prueba de Kruskal Wallis completada con una prueba de U Mann Whitney. En cada ensayo se trabajó con un nivel de significación de un 95 %.

Tratamientos	Descripción
T1	40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba.
T2	50% de fibra de coco +20% de pomina + 30 % turba.
T3	60% fibra de coco + 20% de pomina + 20 de turba.
T4	30 % fibra de coco + 20 % de pomina + 50 % turba.
T5	20 % de fibra de coco + 20% de pomina + 60 % de turba.

Tabla 1. Tratamientos relacionados con la composición de diferentes sustratos.

Auxinas		
ANA	AIA	AIB
<ul style="list-style-type: none"> • T1 100 ppm ANA • T2 200 ppm ANA • T3 250 ppm ANA • T4 300 ppm ANA • T5 350 ppm ANA 	<ul style="list-style-type: none"> • T6 100 ppm AIA • T7 150 ppm AIA • T8 200 ppm AIA • T9 250 ppm AIA • T10 300 ppm AIA 	<ul style="list-style-type: none"> • T11 300 ppm AIB • T12 400 ppm AIB • T13 500 ppm AIB • T14 600 ppm AIB • T15 700 ppm AIB
Control sin auxina		

Tabla 2. Efecto del uso de auxinas en diferentes concentraciones sobre el enraizamiento *ex vitro* de segmentos nodales de arándano *Var. Biloxi*.

Resultados

Ensayo 1

La mejor composición de sustrato para el enraizamiento *ex vitro* de los segmentos nodales de *V. corymbosum* fue el sustrato formulado con un 40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba, en las evaluaciones correspondientes a los 15, 24, 30 y 42 días (tabla 3, figura 1).

Ensayo 2

El mayor porcentaje de enraizamiento *ex vitro* de los segmentos nodales de *V. corymbosum* se obtuvo cuando los explantes fueron sumergidos durante 15 minutos en ANA a una concentración de 100 ppm (tabla 4).

Discusión

Al usar el sustrato compuesto de 40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba. el porcentaje de enraizamiento

ex vitro de los segmentos nodales fue similar al referido por otros autores en cuanto al uso de los componentes fibra de coco y turba, aunque estos autores utilizaron dichos materiales en menor porcentaje y en lugar de utilizar pomina como mineral prefirieron la agrolita⁹. Por otra parte, otros han logrado hasta un 93,75% de porcentaje de supervivencia de *V. floribundum* al utilizar un sustrato compuesto a base de turba y vermiculita, lo cual es superior al valor alcanzado en el presente estudio¹⁰.

De modo similar, se han aclimatado plantas de *V. arboreum* mediante el uso de un sustrato compuesto por 70% de turba y 30 % de perlita que permitió un 100% de supervivencia de las plantas enraizadas en condiciones *ex vitro* mediante una cámara de niebla en la fase de aclimatación¹¹. Sin embargo, en el presente trabajo no fue necesario utilizar humedad en forma de niebla para aclimatar las plantas de *V. corymbosum* lo cual no solamente redujo el costo sino que evito la aparición de algas en la superficie de los sustratos usados.

La fibra de coco es un componente natural muy utilizado en la preparación de sustratos para el desarrollo de

Tratamientos	Rango promedio	Medias Reales
40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba.	108,69 a	1,64
50% de fibra de coco +20% de pomina + 30 % turba.	76,24 b	1,24
60% fibra de coco + 20% de pomina + 20 de turba.	74,30 b	1,22
30 % fibra de coco + 20 % de pomina + 50 % turba.	72,47 b	1,19
20 % de fibra de coco + 20% de pomina + 60 % de turba.	70,47 b	1,14

Tabla 3. Efecto de sustratos en el enraizamiento *ex vitro* de los segmentos nodales de *V. corymbosum*.



Figura 1. Plantas de arándanos establecidas *ex vitro* en 40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba a los 42 días de establecido el ensayo.

Tratamiento	Evaluación a los 15 días		Evaluación a los 24 días		Evaluación a los 30 días		Evaluación a los 42 días	
	Rango promedio	Medias Reales						
T1	103,95 a	1,55						
T2	90,45 b	1,35	68,85 d	1,15	73,85 c	1,15	74,35 c	1,15
T3	60,60 d	1,05	62,40 d	1,1	67,40 cd	1,1	67,90 cd	1,1
T4	77,75 c	1,25	75,30 c	1,2	80,30 b	1,2	80,80 bc	1,2
T5	73,30 c	1,15	62,40 d	1,1	67,40 cd	1,1	67,90 cd	1,1
T6	74,45 c	1,25	77,90 c	1,25	69,50 cd	1,15	69,95 cd	1,15
T7	68,10 d	1,2	71,45 c	1,2	69,50 cd	1,15	69,95 cd	1,15
T8	74,45 c	1,25	77,90 c	1,25	69,50 cd	1,15	69,95 cd	1,15
T9	83,85 bc	1,35	86,95 b	1,35	71,60 cd	1,2	72,00 c	1,2
T10	71,15 c	1,25	74,05 c	1,25	78,05 c	1,25	78,45 c	1,25
T11	61,75 d	1,15	65,00 d	1,15	69,50 cd	1,15	69,95 cd	1,15
T12	77,50 c	1,3	80,50 bc	1,3	84,50 b	1,3	78,45 c	1,25
T13	86,90 b	1,4	89,55 b	1,4	86,60 b	1,35	86,95 b	1,35
T14	74,20 c	1,3	76,65 c	1,3	80,15 bc	1,3	80,50 bc	1,30
T15	58,70 d	1,1	62,40 d	1,1	60,95 d	1,05	61,45 d	1,05
C	46,24 e	0,86	46,24 e	0,86	46,24 e	0,86	49,10 e	0,92

Tabla 4. Influencia de auxinas en el enraizamiento de segmentos nodales de *V. corymbosum* Var. *Biloxi*.

plántulas tanto en cultivos hortícolas como ornamentales, incluso debido a la baja conductividad eléctrica y a su pH; este material a su vez suele ser más favorable que incluso el vermicompost¹². Estos autores observaron un efecto potenciador del rendimiento agrícola en *Cucumis melo* L. y *Solanum lycopersicum* L. cuando utilizaron fibra de coco para la formulación de sustratos.

Por otra parte, al utilizar pomina como componente del sustrato mezclado con turba para el enraizamiento de

microestacas así como de plantas procedentes del cultivo *in vitro* de *V. corymbosum* de las variedades 'Bluecrop' y 'Duke' un grupo de investigadores lograron una mayor supervivencia y crecimiento¹³. Sin embargo, otros determinaron que el mejor sustrato para la aclimatización de plantas propagadas de *V. floribundum* fue la turba¹⁴.

En relación con el mayor porcentaje de supervivencia logrado mediante el uso del ANA a 100 ppm este resultado no coincide con lo informado por Braha y Rama (2016)



Figura 2. Plantas de *V. corymbosum* establecidas *ex vitro* utilizando 100 ppm de ANA.

quienes lograron un mayor enraizamiento *ex vitro* y supervivencia de planta de *V. corymbosum* cuando utilizaron IBA en lugar de ANA.15 Sin embargo, las concentraciones utilizadas por estos autores fueron muy superiores (IBA 2000–4000 ppm) a las ensayadas en el presente trabajo (300 -700 ppm).

De modo similar, Erst *et al.*, (2018) determinaron que el uso de AIB y condiciones de oscuridad favorecieron el establecimiento, el porcentaje de enraizamiento y la supervivencia de plantas de *V. uliginosum* en condiciones *ex vitro*¹⁶. Asimismo, Mendoza *et al.*, (2020) determinaron que el AIB fue superior al ANA en el enraizamiento *ex vitro* de estacas de especies leñosas, entre las cuales se encontraba el arándano¹⁷.

Conclusiones

Con el sustrato compuesto a base de 40 % fibra de coco + 20 % pomina + 40 % turba se logró el mayor porcentaje de enraizamiento *ex vitro* de *V. corymbosum* Var. Biloxi lo cual garantiza mayor éxito en la obtención de plantas donantes.

Con la dosis de 100 ppm de ANA se alcanzó el mayor porcentaje de enraizamiento *ex vitro* de *V. corymbosum* Var. Biloxi lo cual significa una reducción sustancial en lo que sugiere la literatura.

Contribuciones de los autores

Conceptualización, Michel Leiva Mora, Metodología, Michel Leiva Mora y Andrea Toapanta, software, Michel Leiva Mora y Patricio Nuñez Torres, validación, Michel Leiva Mora y Sandra Cruz Quintana, análisis formal, Michel Leiva Mora y Sandra Cruz Quintana; investigación, Michel Leiva Mora y Andrea Toapanta; recursos, Andrea Toapanta, Michel Leiva Mora y Patricio Nuñez Torres, curado de datos, Andrea Toapanta, Michel Leiva Mora; redacción—redacción borrador original, Andrea Toapanta, Michel Leiva Mora; redacción, revisión y edición, Andrea Toapanta, Michel Leiva Mora, Patricio Nuñez Torres y Sandra Cruz Quintana; supervisión, Michel Leiva Mora; administración del proyecto, Andrea Toapanta, adquisición del financiamiento, Andrea Toapanta y Michel Leiva Mora; Todos los autores han leído y están de acuerdo con la versión publicada del manuscrito.

Agradecimiento

Agradecemos al apoyo ofrecido por la coordinadora de investigación Deysi Alexandra Guevara Freire y a las autoridades de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, así como a la Dirección de Investigación y Desarrollo (DIDE-FCAGP) por siempre haber valorado positivamente y apoyado los esfuerzos realizados en este proyecto, mismo que fue autofinanciado por la Señorita Andrea Toapanta y el doctor Michel Leiva Mora.

Conflictos de Interés

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

Referencias bibliográficas

1. Varo, M., Martín-Gómez, J., Mérida, J., & Serratos, M. P. (2021). Bioactive compounds and antioxidant activity of high-bush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) grown in southern Spain. *Eur. Food Res. Technol.*, 247(5): 1199-1208.
2. Aggio, C., Milesi, D., Verre, V., Zanazzi, L. and Lengyel, M. (2022). Rise and fall (and recovery?) of the blueberry business in Argentina: an analysis of private and public-private strategies. *J. Agribus. Dev. Emerg. Econ.*, 12(4):584-603.
3. Luteyn, J. L., Judd, W. S., Vander Kloet, S. P., Dorr, L. J., Wallace, G. D., Kron, K. A., Clemants, S. E. (1996). *Ericaceae of the southeastern United States*. *Castanea*, 101-144.
4. Zotz, G., Almeda, F., Bautista-Bello, A. P., Eskov, A., Giraldo-Cañas, D., Hammel, B., & Weichgrebe, L. (2021). Hemiepiphytes revisited. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.*, 51: 125620.
5. Li, Q., Yu, P., Lai, J., & Gu, M. (2021). Micropropagation of the potential blueberry rootstock—*Vaccinium arboreum* through axillary shoot proliferation. *Sci. Hortic.*, 280: 109908.
6. Villegas-Monter, A., & Castro-Garibay, S. L. (2019). Enraizamiento de estacas en tres cultivares de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). *Agro product.*, 12(3): 63-68.
7. Georgieva, M., & Kondakova, V. (2021). *In vitro* propagation of *Vaccinium corymbosum* L. *BJAS.*, 27(2): 323-327.
8. Toapanta Nuela, A. A. (2021). Obtención de un banco de plantas donantes de arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.) para el establecimiento *in vitro* de segmentos nodales en medio de cultivo semisólido (Bachelor's thesis).
9. Peralta, M. D. L. Á., Nava, J. R. G., Santos, G. G. D. L., García, A. R. R., Salado, N. T. (2017). Reguladores del crecimiento y sustratos en la propagación vegetativa de Nanche (*Malpighia mexicana* A. Juss. y *Byrsonima crassifolia* (L) HBK). *Rev. Bras. Frutic.*, 39(3): 1-9.

10. Cobo, M. M., Gutiérrez, B., & de Lourdes Torres, M. (2018). Regeneration of mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) plants through axillary bud culture. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant*, 54(1): 112-116.
11. Li, Q., Yu, P., Lai, J., & Gu, M. (2021). Micropropagation of the potential blueberry rootstock—*Vaccinium arboreum* through axillary shoot proliferation. *Sci. Hortic.*, 280, 109908.
12. Mejía, P. A., Ruíz-Zubiate, J. L., Correa-Bustos, A., López-López, M. J., & Salas-Sanjuán, M. D. C. (2022). Effects of Vermicompost Substrates and Coconut Fibers Used against the Background of Various Biofertilizers on the Yields of *Cucumis melo* L. and *Solanum lycopersicum* L. *Hortic.*, 8(5): 445.
13. Nowakowska, K., & Pacholczak, A. (2017). Analysis of genetic stability in the ex vitro rooted microcuttings of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Acta Sci Pol-hortoru*, 16(5): 19-27.
14. Meneses, L. S., Morillo, L. E., & Vásquez-Castillo, W. (2022). In vitro propagation of *Vaccinium floribundum* Kunth from seeds: promissory technology for mortiño accelerated production. *Can. J. Plant Sci.*, 102(1): 216-224.
15. Braha S, Rama P. (2016). The effects of indol butyric acid and naphthalene acetic acid of adventitious root formation to green cuttings in blueberry cv. *Vaccinium corymbosum* L. *Int J Sci Res.*, 5(7), 876-879.
16. Erst, A. A., Gorbunov, A. B., & Erst, A. S. (2018). Effect of concentration, method of auxin application and cultivation conditions on in vitro rooting of bog blueberry (*Vaccinium uliginosum* L.). *J. Berry Res.*, 8(1): 41-53.
17. Mendoza, W., López-Medina, S., Mostacero-León, J., Gil-Rivero, E., López, A., & De La Cruz-Castillo, A. (2020). Determinación de las concentraciones adecuadas de 2,4 diclorofenoxiacético y Kelpak en el enraizamiento de estacas de *Vaccinium floribundum* Kunth "pushgay". *Manglar*, 17(1): 21-25.