

**UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN SIMÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS, AGRÍCOLAS, PECUARIAS Y FORESTALES**  
**“Dr. MARTIN CARDENAS”**  
**ESCUELA DE CIENCIAS FORESTALES**



LA PRACTICA NOS ENSEÑA

**MICROPROPAGACIÓN DE ARÁNDANO *Vaccinium corymbosum* L.**

Tesis de grado para obtener el título de  
Ingeniero Forestal

ESTUDIANTE: José Andrés Cespedes Vargas  
TUTOR: M.Sc. Cecilia Ugarte Ballón

Cochabamba - Bolivia

2024

## RESUMEN

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigación en Forrajes “La Violeta” (CIF). El arándano es una baya de gran interés comercial a nivel internacional por su contenido nutricional, sin embargo, la alta demanda insatisfecha, presenta una nueva oportunidad como punto de inversión y producción en territorio boliviano (Núñez, 2018). La micropropagación es una técnica de cultivo *in vitro* utilizada para la reproducción masiva de plantas a partir de una pequeña cantidad de material vegetal, además de mantener las características genéticas de interés. Por estas razones, se realizó esta investigación, con el objetivo de desarrollar un protocolo de micropropagación de arándano *Vaccinium corymbosum* (L.). Para la germinación se aplicaron dos tratamientos pre-germinativos, alcanzando una germinación del 94.44 % con el tratamiento Ácido Giberélico + Ácido Sulfúrico. Para el establecimiento se usó un medio M&S modificado y para la desinfección se aplicó maxim XL e hipoclorito de sodio al 2.5 % con tiempos de 5 y 10 minutos, siendo este último el más efectivo, aunque con una baja tasa del 6 % debido a la contaminación endógena; posteriormente se evaluó dos medios, M&S modificado y WPM, observándose que el tratamiento con medio WPM fue efectivo, con una tasa de multiplicación de 4 brotes por explante. En la etapa de aclimatación los sustratos 1 (3 Turba de Bosque + 2 Turba de Pino + 1 Tierra Agrícola + 1 Arenilla) y 3 (Good Dirt Potting Mix) fueron los más efectivos con tasas de sobrevivencia cercanas al 80 %.

**Palabras clave:** Medio de cultivo, *in vitro*, baya, propagación.

## ABSTRACT

The research was carried out at the Forage Research Center "La Violeta" (CIF). The blueberry is a berry of great commercial interest at an international level due to its nutritional content, however, the high unmet demand presents a new opportunity as a point of investment and production in Bolivian territory (Núñez, 2018). Micropropagation is an *in vitro* cultivation technique used for the mass reproduction of plants from a small amount of plant material, in addition to maintaining the genetic characteristics of interest. For these reasons, this research was carried out, with the aim of developing a micropropagation protocol for blueberry *Vaccinium corymbosum* (L.). For germination, two pre-germinative treatments were applied, reaching a germination of 94.44% with the Gibberellic Acid + Sulfuric Acid treatment. For the establishment, a modified M&S medium was used and for disinfection, Maxim XL and 2.5% sodium hypochlorite were applied for 5 and 10 minutes, the latter being the most effective, although with a low rate of 6% due to endogenous contamination; two media were subsequently evaluated, modified M&S and WPM, observing that the treatment with WPM medium was effective, with a multiplication rate of 4 shoots per explant. In the acclimatization stage, substrates 1 (3 Forest Peat + 2 Pine Peat + 1 Agricultural Soil + 1 Sand) and 3 (Good Dirt Potting Mix) were the most effective with survival rates close to 80%.

**Keywords:** Culture medium, *in vitro*, berry, propagation.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Antecedentes

El género *Vaccinium* tiene alrededor de 400 especies, de las cuales la mayoría tienen origen en el hemisferio norte, su característica principal es ser una planta silvestre de zonas frías, perteneciente a la familia de las *Ericaceas* (Bustillo, 2018).

Los arándanos se han convertido en un producto saludable, cuyo consumo se ha incrementado en los últimos cinco años. Los principales países productores y exportadores como Estados Unidos, Canadá, Chile y Holanda (Haikal, 2019) han avanzado significativamente. Es la baya más demandada y consumida, teniendo un crecimiento del 38% a nivel global para el año 2021, equivaliendo a 904 000 toneladas (Projar Group. 2018). El mayor productor y consumidor es Norteamérica con 446 000 toneladas al año, Europa con 135 400 toneladas y Asia Pacífico con 69 000 toneladas. (Haikal, 2019).

El arándano es una excelente fuente de antioxidantes y fitonutrientes, posee antocianinas, las cuales le dan el tono azul y en menores cantidades posee quercetina, ácidos y taninos condensados; una fuente de vitamina C, fibra dietética y otros minerales, con un nivel bajo en calorías; estas características lo convierten en alimento y producto con altos beneficios para la salud en general (Pritts y Hancock, 1992; Gough, 1994; Fabiani et al., 2013).

Debido a la importancia internacional que ha recibido el arándano y a la alta demanda insatisfecha de este producto, representa una gran oportunidad como punto de inversión y producción en el territorio boliviano; la demanda local ha iniciado en los últimos años y va en aumento en la última década en el departamento de Tarija, y se ha expandido su venta a los departamentos de La Paz, Santa Cruz y Cochabamba (Núñez, 2018). La producción de arándano en Cochabamba inició hace poco relativamente, en el último lustro en el municipio de Tolata y con otros cultivos experimentales llevados a cabo en el municipio de Tarata (El Estado Digital, 2019).

El método tradicional de propagación de arándanos es por esquejes, pero el bajo porcentaje de enraizamiento, plantines altos, raíces poco desarrolladas y la falta de desarrollo

lateral debido a que no forman corona, limitan el número de ramas productivas, resultando complicado esta forma de propagación para muchos productores (Cajo, 2021).

Otro método de propagación usado es por germinación de semillas, sin embargo, la testa que posee es muy dura y no permite la germinación de manera usual. La semilla posee una latencia fuerte que le permite sobrevivir a condiciones desfavorables, de esta manera con el uso de métodos artificiales, tal como el ácido giberélico, que regula y reemplaza los estímulos ambientales, como lo son la luz y temperatura (Alvarado, 2019).

El cultivo *in vitro* es una herramienta biotecnológica, que permite la propagación de explantes en condiciones asépticas, en el caso del arándano, se busca una producción clonal en masa para posteriormente llevarlas a campo. El establecimiento es la introducción de explantes a un medio de cultivo, previamente desinfectado, siendo de esta manera que se garantiza el estado aséptico y libre de patógenos, para así posteriormente proseguir con la etapa de multiplicación. En la multiplicación se busca la reproducción asexual de los explantes, para mantener y garantizar la calidad del individuo original y mantener sus características fisiológicas, en el caso del arándano, para preservar la variedad y así también la producción de cantidad y calidad de las bayas. Finalmente, la aclimatación es crucial, ya que se enfoca en adaptar los explantes a las condiciones ambientales, asegurando un alto porcentaje de supervivencia en el vivero. Dada la escasa información sobre esta especie leñosa y su dificultad para enraizar, esta etapa es fundamental para el desarrollo del protocolo de cultivo *in vitro*.

## **1.2. Problema de investigación**

El propósito de esta investigación es fomentar y promover la producción de arándanos como una alternativa altamente rentable en comparación con cultivos de baja demanda. Además, busca ampliar el conocimiento sobre las técnicas de micropropagación del arándano y su aplicación en la producción a gran escala. Esta investigación no solo generará nuevas oportunidades de negocio, sino que también diversificará los ingresos de los agricultores, impulsando el desarrollo sostenible en el sector agrícola.

## CONTENIDO

|                                                               | Pág.     |
|---------------------------------------------------------------|----------|
| <b>1. INTRODUCCIÓN</b>                                        | <b>1</b> |
| 1.1. Antecedentes                                             | 1        |
| 1.2. Problema de investigación                                | 2        |
| 1.3. Objetivos                                                | 3        |
| 1.3.1. <i>Objetivo general</i>                                | 3        |
| 1.3.2. <i>Objetivos específicos</i>                           | 3        |
| 1.4. Hipótesis                                                | 3        |
| <b>2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>                              | <b>4</b> |
| 2.1. Consideraciones generales del arándano                   | 4        |
| 2.2. Origen y distribución del cultivo de arándano            | 4        |
| 2.3. Aspectos generales de la familia <i>Vaccinium</i>        | 6        |
| 2.4. Importancia del Arándano a nivel internacional           | 7        |
| 2.5. Importancia del Arándano a nivel nacional                | 7        |
| 2.6. Descripción botánica de <i>Vaccinium Corymbosum</i> (L.) | 8        |
| 2.6.1. <i>Descripción del arbusto</i>                         | 8        |
| 2.6.2. <i>Taxonomía</i>                                       | 8        |
| 2.6.3. <i>Morfología</i>                                      | 9        |
| 2.6.4. <i>Variedad Misty</i>                                  | 10       |
| 2.7. Consideraciones edafoclimáticas                          | 10       |
| 2.8. Aspectos Sanitarios                                      | 11       |
| 2.8.1. <i>Plagas del arándano</i>                             | 11       |
| 2.8.3. <i>Enfermedades del arándano</i>                       | 12       |
| 2.9. Fisiopatías del arándano                                 | 13       |
| 2.10. Usos del arándano                                       | 14       |
| 2.10.1. <i>Beneficios del arándano</i>                        | 15       |
| 2.10.2. <i>Valor nutritivo</i>                                | 15       |
| 2.11. Germinación                                             | 16       |
| 2.11.1. <i>Métodos pregerminativos</i>                        | 16       |
| 2.12. Métodos de propagación                                  | 18       |

|         |                                                                   |    |
|---------|-------------------------------------------------------------------|----|
| 2.12.1. | <i>Propagación por esquejes</i>                                   | 18 |
| 2.12.2. | <i>Propagación por acodo</i>                                      | 19 |
| 2.12.3. | <i>Propagación in vitro</i>                                       | 19 |
| 2.13.   | <b>Biotecnología</b>                                              | 19 |
| 2.13.1. | <i>La biotecnología en Bolivia</i>                                | 20 |
| 2.13.2. | <i>Importancia de la micropropagación</i>                         | 20 |
| 2.13.3. | <i>Cultivo in vitro</i>                                           | 20 |
| 2.13.4. | <i>Ventajas, y Desventajas de la Técnica de Cultivo In Vitro.</i> | 21 |
| 2.13.5. | <i>Cultivo in vitro de especies leñosas</i>                       | 21 |
| 2.13.6. | <i>Cultivo in vitro del arándano</i>                              | 22 |
| 2.14.   | <b>Etapas del cultivo in vitro</b>                                | 23 |
| 2.14.1. | <i>Selección del explante</i>                                     | 23 |
| 2.14.2. | <i>Desinfección</i>                                               | 23 |
| 2.14.3. | <i>Establecimiento</i>                                            | 24 |
| 2.14.4. | <i>Multipliación</i>                                              | 24 |
| 2.14.5. | <i>Enraizamiento</i>                                              | 25 |
| 2.14.6. | <i>Aclimatización</i>                                             | 26 |
| 2.14.7. | <i>Cultivo de meristemos</i>                                      | 26 |
| 2.15.   | <b>Reguladores de crecimiento</b>                                 | 27 |
| 2.15.1. | <i>Auxinas</i>                                                    | 27 |
| 2.15.2. | <i>Giberelinas</i>                                                | 27 |
| 2.15.3. | <i>Citoquininas</i>                                               | 28 |
| 2.15.4. | <i>Ácido abscísico</i>                                            | 28 |
| 2.15.5. | <i>Etileno</i>                                                    | 28 |
| 2.15.6. | <i>Material de soporte</i>                                        | 29 |
| 3.      | <b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>                                       | 30 |
| 3.1.    | <b>Ubicación</b>                                                  | 30 |
| 3.2.    | <b>Materiales</b>                                                 | 31 |
| 3.3.    | <b>Metodología</b>                                                | 32 |
| 3.3.1.  | <i>Germinación</i>                                                | 32 |
| 3.3.2.  | <i>Desinfección</i>                                               | 33 |

|          |                                         |    |
|----------|-----------------------------------------|----|
| 3.3.3.   | <i>Establecimiento</i>                  | 35 |
| 3.3.4.   | <i>Multipliación</i>                    | 37 |
| 3.3.5.   | <i>Enraizamiento</i>                    | 39 |
| 3.3.5.   | <i>Aclimatación</i>                     | 39 |
| 3.3.3.1. | Aclimatación fase 1                     | 39 |
| 3.3.3.1. | Aclimatación fase 2                     | 42 |
| 3.4.     | Diseño experimental                     | 43 |
| 3.4.1.   | <i>Tratamientos por etapa</i>           | 43 |
| 3.4.2.   | <i>Variables de respuesta por etapa</i> | 43 |
| 3.4.3.   | <i>Modelo estadístico por etapa</i>     | 43 |
| 4.       | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>           | 45 |
| 4.1.     | Germinación                             | 45 |
| 4.2.     | Establecimiento                         | 54 |
| 4.2.     | Multipliación                           | 57 |
| 4.1.     | Aclimatación                            | 69 |
| 4.1.1.   | <i>Aclimatación fase 1</i>              | 70 |
| 4.1.2.   | <i>Aclimatación fase 2</i>              | 79 |
| 5.       | <b>CONCLUSIONES</b>                     | 81 |
| 6.       | <b>RECOMENDACIONES</b>                  | 83 |
| 7.       | <b>REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA</b>         | 84 |
| 8.       | <b>ANEXOS</b>                           | 96 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Vaccinium corymbosum</i> (L.).....                                                                                    | 9  |
| Tabla 2. Composición nutricional por cada 100 g de arándano. ....                                                                                             | 16 |
| Tabla 3. Composición de los sustratos. ....                                                                                                                   | 40 |
| Tabla 4. Comparación de los medios M1 y M2 según cada generación (ds = diferencias significativas; ns = diferencias no significativas).....                   | 61 |
| Tabla 5. Prueba de Kruskal-Wallis para determinar la existencia de diferencia de al menos una generación en el medio 1. ....                                  | 61 |
| Tabla 6. Prueba de Kruskal-Wallis para determinar la existencia de diferencia de al menos una generación en el medio 2. ....                                  | 62 |
| Tabla 7. Comparación de generaciones del medio 1 según la prueba U de Mann-Whitney (ds = diferencias significativas; ns = diferencias no significativas)..... | 63 |
| Tabla 8. Comparación de generaciones del medio 2 según la prueba U de Mann-Whitney (ds = diferencias significativas; ns = diferencias no significativas)..... | 63 |
| Tabla 9. Análisis normalidad para el Largo Raíz; variables originales y variables transformadas según Log.....                                                | 72 |
| Tabla 10. Análisis de varianza de probabilidad de significancia para el Largo Raíz. ....                                                                      | 73 |
| Tabla 11. Prueba para definir la existencia significativa del Log del Largo Raíz.....                                                                         | 73 |
| Tabla 12. Formación de conjuntos según el promedio en base a la diferencia significativa del Log del Largo Raíz. ....                                         | 74 |
| Tabla 13. Análisis normalidad para el Numero de Raicillas; variables originales y variables transformadas según Log.....                                      | 75 |
| Tabla 14. Análisis de varianza de probabilidad de significancia para el Numero de Raicillas                                                                   | 76 |
| Tabla 15. Prueba para definir la existencia significativa del Número de Raicillas .....                                                                       | 76 |
| Tabla 16. Formación de conjuntos según el promedio en base a una diferencia significativa del Número de Raicillas. ....                                       | 77 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1. Distribución global de la producción de arándano el año 2019.....                    | 5  |
| Figura 2. Países productores de arándano que sobrepasan las 10 000 TM. ....                    | 6  |
| Figura 3. Mapa de ubicación del Centro de Investigación en Forrajes CIF-La Violeta.....        | 30 |
| Figura 4. Diagrama de puesta de semillas a la placa petri.....                                 | 32 |
| Figura 5. Semillas de arándano en placa petri.....                                             | 33 |
| Figura 6. Obtención del material vegetal. ....                                                 | 34 |
| Figura 7. Materiales de laboratorio para la fase de desinfección. ....                         | 34 |
| Figura 8. Diagrama de desinfección del material vegetal. ....                                  | 35 |
| Figura 9. Diagrama de desinfección del material vegetal. ....                                  | 36 |
| Figura 10. Diagrama de desinfección del material vegetal. ....                                 | 36 |
| Figura 11. Diagrama de multiplicación <i>in vitro</i> . ....                                   | 37 |
| Figura 12. Explantes de arándano para multiplicación. ....                                     | 38 |
| Figura 13. Multiplicación del arándano.....                                                    | 38 |
| Figura 14. Explantes de la etapa de multiplicación inducidos al enraizamiento.....             | 39 |
| Figura 15. Sustrato “Good Dirt Potting Mix”. ....                                              | 40 |
| Figura 16. Puesta de explantes en sustratos en la fase 1 de la aclimatación. ....              | 41 |
| Figura 17. Explante durante la fase 1 de aclimatación.....                                     | 42 |
| Figura 17. Transición del explante de la fase 1 a la fase 2 de aclimatación.....               | 42 |
| Figura 18. Placa de semillas de arándano con el tratamiento de Ac. Gib. ....                   | 45 |
| Figura 19. Placa de semillas de arándano con el tratamiento de Ac. Gib + Ac. Sulf.....         | 45 |
| Figura 20. Vista estereoscopio de germinación de semillas de arándano. ....                    | 46 |
| Figura 21. Número de semillas germinadas. ....                                                 | 47 |
| Figura 22. Vista estereoscopio de semillas de arándano germinados. ....                        | 47 |
| Figura 23. Análisis de calidad de semilla del tratamiento de Ac. Gib. parte 1. ....            | 48 |
| Figura 24. Análisis de calidad de semilla del tratamiento de Ac. Gib. parte 2. ....            | 49 |
| Figura 25. Análisis de calidad de semilla del tratamiento de Ac. Gib. parte 3. ....            | 49 |
| Figura 26. Análisis de calidad de semilla del tratamiento de Ac. Gib. + Ac. Sulf. parte 1..... | 50 |
| Figura 27. Análisis de calidad de semilla del tratamiento de Ac. Gib. + Ac. Sulf. parte 2..... | 50 |
| Figura 28. Análisis de calidad de semilla del tratamiento de Ac. Gib. + Ac. Sulf. parte 3..... | 51 |

|                                                                                                                                                                          |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 29. Curva de porcentaje de germinación del tratamiento de Ac. Gib. ....                                                                                           | 52 |
| Figura 30. Curva de porcentaje de germinación del tratamiento de Ac. Gib. + Ac. Sulf. ....                                                                               | 52 |
| Figura 31. Comparación de curvas T50 de los tratamientos Ac. Gib. y Ac. Gib. + Ac. Sulf. ....                                                                            | 53 |
| Figura 32. Plantas germinadas puesta en sustrato. ....                                                                                                                   | 54 |
| Figura 33. Desinfección de explantes. ....                                                                                                                               | 55 |
| Figura 34. Presencia de contaminación fúngica en la etapa de establecimiento. ....                                                                                       | 56 |
| Figura 35. Porcentaje de contaminación de explantes. ....                                                                                                                | 56 |
| Figura 36. Porcentajes de explantes establecidos. ....                                                                                                                   | 57 |
| Figura 37. Explantes de arándano en refrescamiento. ....                                                                                                                 | 58 |
| Figura 38. Explantes refrescados antes de la formación de callo. ....                                                                                                    | 59 |
| Figura 39. Explantes con callo formado. ....                                                                                                                             | 59 |
| Figura 40. Explantes multiplicados. ....                                                                                                                                 | 60 |
| Figura 41. Tasa de multiplicación del Medio 1 y Medio 2 a través de las generaciones. ....                                                                               | 64 |
| Figura 42. Porcentaje de explantes obtenidos según la clasificación de tamaño en el Medio 1<br>a través de las generaciones (P = Pequeño, M = Mediano, G = Grande). .... | 65 |
| Figura 43. Porcentaje de explantes obtenidos según la clasificación de tamaño en el Medio 2<br>a través de las generaciones (P = Pequeño, M = Mediano, G = Grande). .... | 65 |
| Figura 44. Número de brotes generados según la clasificación de tamaño (P = Pequeño, M =<br>Mediano, G = Grande). ....                                                   | 66 |
| Figura 45. Tamaño promedio obtenido según la clasificación “Grandes” en el medio 1 y 2. ....                                                                             | 67 |
| Figura 46. Tamaño promedio obtenido según la clasificación “Medianos” en el medio 1 y 2.<br>.....                                                                        | 68 |
| Figura 47. Tamaño promedio obtenido según la clasificación “Pequeños” en el medio 1 y 2.<br>.....                                                                        | 68 |
| Figura 48. Explante después de la inducción al enraizamiento. ....                                                                                                       | 70 |
| Figura 49. Explante en aclimatación fase 1. ....                                                                                                                         | 71 |
| Figura 50. Evaluación de explantes de la aclimatación fase 1. ....                                                                                                       | 71 |
| Figura 51. Promedio del largo de raíz (mm). ....                                                                                                                         | 75 |
| Figura 52. Promedio del número de raicillas. ....                                                                                                                        | 78 |
| Figura 53. Porcentaje de explantes aclimatados en la Aclimatación fase 1. ....                                                                                           | 78 |
| Figura 54. Explante en etapa de aclimatación. ....                                                                                                                       | 79 |