

## Efecto de las citoquininas en la multiplicación *in vitro* de cuatro variedades de *Vaccinium corymbosum*, a partir de segmentos nodales

### Effect of cytokinins on the *in vitro* multiplication of four varieties of *Vaccinium corymbosum*, from nodal segments

<sup>1</sup>Jessy Patricia Arista Bustamante <sup>2</sup>Santos Triunfo Leiva Espinosa <sup>3</sup>Juan Carlos Guerrero Abad  
<sup>4</sup>Roicer Collazos Silva

#### RESUMEN

El objetivo principal de este trabajo fue evaluar el efecto de las citoquininas en la multiplicación *in vitro* de cuatro variedades de arándano (*Vaccinium corymbosum*) a partir de segmentos nodales. Para lo cual se emplearon cuatro variedades comerciales de arándano (Biloxi, Legacy, Star y Bluecrop), bajo la aplicación de tres citoquininas del tipo Isoprenoides (zeatina, trans-zeatina y cis-zeatina). La metodología comprendió la selección de la planta madre y la recolección de tallos jóvenes de 5 a 10cm. libres de plagas y enfermedades, para su desinfección se aplicaron agua desionizada estéril, alcohol al 70%, NaOCl al 3% y Tween 20. Los segmentos desinfectados y seccionados se establecieron en un medio de cultivo líquido Woody Plant Medium (WPM) por un periodo de 45 días, posteriormente los brotes obtenidos se sub cultivaron en un medio de cultivo sólido WPM, suplementado con diferentes concentraciones de zeatina, trans-zeatina y cis-zeatina zeatin (0.0, 1.0, 2.0 y 4.0 mg.L<sup>-1</sup>), los cuales fueron sometidos a 16 horas luz y 8 horas de oscuridad por un lapso de 50 días. Para el análisis de los datos se empleó la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis, observándose que zeatina y trans-zeatina, ambas citoquininas fueron muy efectivas en concentraciones de 2.0 mg.L<sup>-1</sup> presentando un mayor número de brotes, hojas, ramificaciones y altura de plántula con promedios de (3.6), (27.5 y 32.5), (2) y (3.5 y 4.5cm.) respectivamente, por otro lado se evidenció que cis-zeatina presentó un comportamiento inactivo en las cuatro variedades de arándano.

**Palabras clave:** Organogénesis directa, zeatina, trans-zeatina, cis-zeatina, brotación

#### ABSTRACT

The main objective of this work was to evaluate the effect of cytokinins in the *in vitro* multiplication of four blueberry varieties (*Vaccinium corymbosum*) from nodal segments. For which four commercial varieties of blueberry (Biloxi, Legacy, Star and Bluecrop) were used, under the application of three cytokinins of the Isoprenoid type (zeatin, trans-zeatin and cis zeatin). The methodology included the selection of the mother plant and the collection of young stems from 5 to 10cm. free of pests and diseases, sterile deionized water, 70% alcohol, 3% NaOCl and Tween 20 were applied for disinfection. The disinfected and sectioned segments were established in a Woody Plant Medium (WPM) liquid culture medium for a period 45 days later, the obtained shoots were subcultured in a solid WPM culture medium, supplemented with different concentrations of zeatin, trans-zeatin and cis-zeatin zeatin (0.0, 1.0, 2.0 and 4.0 mg.L<sup>-1</sup>), which they were subjected to 16 light hours and 8 hours of darkness for a period of 50 days. For the analysis of the data, the non-parametric statistical test of Kruskal-Wallis was used, observing that zeatin and trans zeatin, both cytokinins were very effective in concentrations of 2.0 mg.L<sup>-1</sup> presenting a greater number of shoots, leaves, branches and Seedling height with averages of (3.6), (27.5 and 32.5), (2) and (3.5 and 4.5cm.) respectively, on the other hand, it was shown that cis-zeatin exhibited an inactive behaviour in the four blueberry varieties.

**Keywords:** Direct organogenesis, zeatin, trans-zeatin, cis-zeatin, sprouting

<sup>1</sup> Bachiller en Ingeniería Agrónoma. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza. E-mail: patyx94z@gmail.com

<sup>2</sup> Ingeniero Agrónomo. Investigador del INDES-CES y docente UNTRM. E-mail. santos.leiva@untrm.edu.pe

<sup>3</sup> Ingeniero Agrónomo. Investigador del INDES-CES y docente UNTRM. E-mail. juan.guerrero@untrm.edu.pe

<sup>4</sup> Ingeniero Agroindustrial del INDES-CES, UNTRM. E-mail: rcollazos@indescs.edu.pe

## I. INTRODUCCIÓN

El arándano es un fruto perteneciente a la familia de las Ericáceas, y al género *Vaccinium* (Trehane, 2004), siendo las de mayor importancia el arándano ojo de conejo (*Vaccinium ashei* R) y el arándano alto o "highbush" (*Vaccinium corymbosum* L.) con más del 54% del total de las especies cultivadas (Buzeta, 1997), con una amplia distribución geográfica en el hemisferio norte, aproximadamente el 35% de las especies son originarias de América, 25% de Norte América y 10% de Centro y Sur América (Song y Hancock, 2011).

Se considera una buena fuente importante de compuestos fenólicos, muy reconocidos por su alto poder antioxidante (Prior *et al.*, 1998). Su consumo contribuye a una disminución del riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, inhibe el crecimiento de células cancerosas, así como prevenir enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad del Alzheimer (Heinonen *et al.*, 1998; Singh *et al.*, 2008).

El incremento de las plantaciones ha traído una creciente demanda de material sano y vigoroso, en especial de plantas *in vitro* por su demostrada calidad y homogeneidad (Litwinczuk *et al.*, 2005). La micropropagación permite la rápida propagación clonal de plantas libres de patógenos, y se utiliza habitualmente para producir grandes cantidades de especies frutales, ornamentales y silvicultura (Cohen y Elliot, 1979; Zimmerman y Broome, 1980). Los arándanos han sido micropropagados por más de veinte años a partir de segmentos nodales de plantas adultas cultivadas en el campo. (George, 1993) y ha demostrado ser un método eficaz y no generar variabilidad genética si se utiliza organogénesis directa.

Numerosos investigadores han estudiado las condiciones del cultivo, medios basales, y reguladores del crecimiento para el óptimo desarrollo *in vitro* de *V. corymbosum*. (Wolfe *et al.*, 1983), siendo las citoquininas los reguladores de crecimiento encargados de interrumpir la dominancia apical y así promover la inducción y proliferación de las yemas axilares *in vitro* (Erig & Schuch, 2006).

Diversos estudios se han centrado en la búsqueda de las citoquininas adecuadas para el establecimiento y multiplicación *in vitro* de *V. corymbosum*, donde destacan, la isopenteniladenina y la zeatina (Reed y Abdelnour, 1991 y Fira *et al.*, 2008).

Pero existe poca información de estudios de otras citoquininas como la trans-zeatina y cis-zeatina para inducir brotes adventicios, razón por la cual se

desarrolló la presente investigación, con el objetivo de evaluar el efecto de las citoquininas en la multiplicación *in vitro* de cuatro variedades de arándano (*V. corymbosum*) a partir de segmentos nodales, de esta manera los resultados obtenidos se convertirán en una herramienta esencial para la propagación masiva de plantas de *V. corymbosum*.

## II. MATERIAL Y MÉTODO

### Ubicación del área de estudio:

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal del Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. El material botánico fue colectado del invernadero de la estación experimental de Molinopampa, a una altitud de 2421 m.s.n.m., latitud: 06°12'20" Sur, longitud: 77°40'06" Oeste.

Se identificaron las plantas madres de *V. corymbosum* y se recolectaron los tallos jóvenes poco lignificados libres de plagas y enfermedades con una longitud de 5 a 10 cm., estos tallos se sometieron a una desinfección superficial en agua a chorro continuo, durante 30 minutos, posteriormente se seccionaron en pequeños explantes de 2 a 3 cm, para ser sumergidos en alcohol al 70%, durante 60 segundos, seguido por una inmersión en NaOCl al 3% más dos gotas de tween 20, con agitación constante durante 10 minutos y enjuagados tres veces con agua desionizada estéril. Estos segmentos fueron establecidos en un medio de cultivo líquido WPM (Woody Plant Medium), con 20 gr.L<sup>-1</sup> de sacarosa por un periodo de 45 días (Figura 1).

Los segmentos nodales obtenidos fueron subcultivados en un medio de cultivo sólido WPM, suplementado con agar (8 gr.L<sup>-1</sup>), sacarosa (30 gr.L<sup>-1</sup>) y las citoquininas (zeatina, trans-zeatina y cis-zeatina) a concentraciones de (0.0, 1.0, 2.0 y 4.0 mg.L<sup>-1</sup>) de acuerdo a la combinación de los tratamientos (Tabla 1), El pH del medio de cultivo fue ajustado a 5.35. Estos explantes subcultivados fueron establecidos por un lapso de 50 días con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad a temperatura ambiente

### Parámetros de evaluación

Una vez transcurrido los 50 días del inicio del experimento se cuantificaron el número de brotes, hojas y ramificaciones totales de cada unidad experimental, así mismo se evaluó el diámetro de brotes desde el cuello hasta el ápice o yema terminal de la planta, empleando como medidor un vernier digital milimetrado, dicha magnitud se expresó en centímetros (cm).

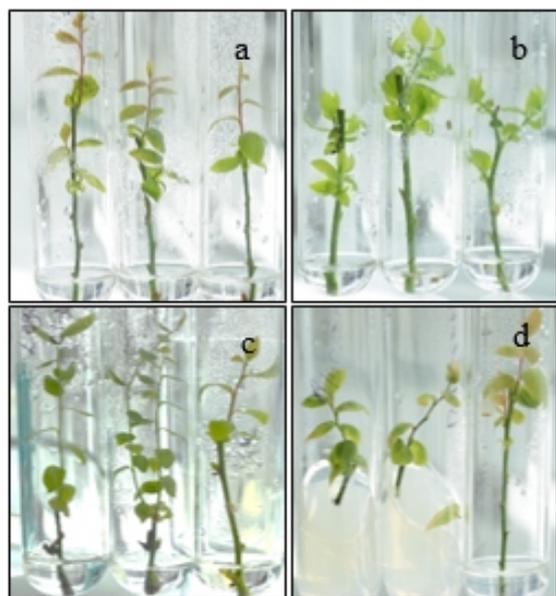


Figura 1. Establecimiento *in vitro* de *V. corymbosum* en 3ml. de medio líquido WPM a los 45 días. a) variedad Star. b) Variedad Biloxi. c) Variedad Legacy. d) Variedad Bluecrop.

### Diseño experimental

Fue empleado un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 4x3x4; Factor (A): Variedades de *Vaccinium corymbosum* (Biloxi, Legacy, Star y Bluecrop), Factor (B): Citoquininas (zeatina, trans-zeatina y cis-zeatina), Factor (C): Niveles de citoquininas (0.0, 1.0, 2.0 y 4.0 mg.L<sup>-1</sup>), donde cada unidad experimental comprendió un segmento nodal en tubo de ensayo de 25 x 150 mm. de diámetro con 8ml de medio de cultivo, el experimento consistió en 48 tratamientos y 10 repeticiones.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante la prueba estadística no paramétrica de Kruskal-Wallis. Los cuales fueron procesados con el paquete estadístico InfoStat versión 2017.

Tabla 1. Combinación de las variedades de *V. corymbosum* (Biloxi, Legacy, Star y Bluecrop), citoquininas (zeatina, trans-zeatina y cis-zeatina) y cuatro niveles (0.0, 1.0, 2.0 y 4.0 mg.L<sup>-1</sup>)

Tratamientos	Factor (A)	Factor (B)	Factor (C)
	Variedades	Citoquininas	Niveles (mg.L <sup>-1</sup> )
T1	Biloxi	Zeatina	0.0
T2	Biloxi	Zeatina	1.0
T3	Biloxi	Zeatina	2.0
T4	Biloxi	Zeatina	4.0
T5	Biloxi	Trans-zeatina	0.0
T6	Biloxi	Trans-zeatina	1.0
T7	Biloxi	Trans-zeatina	2.0
T8	Biloxi	Trans-zeatina	4.0
T9	Biloxi	Cis-zeatina	0.0
T10	Biloxi	Cis-zeatina	1.0

T11	Biloxi	Cis-zeatina	2.0
T12	Biloxi	Cis-zeatina	4.0
T13	Legacy	Zeatina	0.0
T14	Legacy	Zeatina	1.0
T15	Legacy	Zeatina	2.0
T16	Legacy	Zeatina	4.0
T17	Legacy	Trans-zeatina	0.0
T18	Legacy	Trans-zeatina	1.0
T19	Legacy	Trans-zeatina	2.0
T20	Legacy	Trans-zeatina	4.0
T21	Legacy	Cis-zeatina	0.0
T22	Legacy	Cis-zeatina	1.0
T23	Legacy	Cis-zeatina	2.0
T24	Legacy	Cis-zeatina	4.0
T25	Bluecrop	Zeatina	0.0
T26	Bluecrop	Zeatina	1.0
T27	Bluecrop	Zeatina	2.0
T28	Bluecrop	Zeatina	4.0
T29	Bluecrop	Trans-zeatina	0.0
T30	Bluecrop	Trans-zeatina	1.0
T31	Bluecrop	Trans-zeatina	2.0
T32	Bluecrop	Trans-zeatina	4.0
T33	Bluecrop	Cis-zeatina	0.0
T34	Bluecrop	Cis-zeatina	1.0
T35	Bluecrop	Cis-zeatina	2.0
T36	Bluecrop	Cis-zeatina	4.0
T37	Star	Zeatina	0.0
T38	Star	Zeatina	1.0
T39	Star	Zeatina	2.0
T40	Star	Zeatina	4.0
T41	Star	Trans-zeatina	0.0
T42	Star	Trans-zeatina	1.0
T43	Star	Trans-zeatina	2.0
T44	Star	Trans-zeatina	4.0
T45	Star	Cis-zeatina	0.0
T46	Star	Cis-zeatina	1.0
T47	Star	Cis-zeatina	2.0
T48	Star	Cis-zeatina	4.0

### III. RESULTADOS

Las citoquininas y las diferentes concentraciones, influyeron significativamente sobre el número de brotes, hojas, ramificaciones y altura de planta en las cuatro variedades de *V. corymbosum*.

#### 3.1. Número de brotes

Zeatina a una concentración de 2.0 mg.L<sup>-1</sup>, indujo a una mayor formación de brotes, de modo que las variedades Biloxi y Bluecrop (Figura 5a y 5g), mostraron un mayor número de brotes con promedios de 3.6 y 3.5 respectivamente, siendo significativamente superiores ( $p < 0.05$ ) a los tratamientos bajo la aplicación de 0.0, 1.0 y 4.0 mg.L<sup>-1</sup> donde se obtuvieron los promedios más bajos, no obstante las variedades Legacy y Star (Figura 5d y 5j) a concentraciones de 2.0 mg.L<sup>-1</sup> obtuvieron los promedios más altos en su grupo pero los más bajos a comparación de Biloxi y Bluecrop, mostrando promedios de 1.4 y 1.2 brotes por unidad

experimental (Figura 2A).

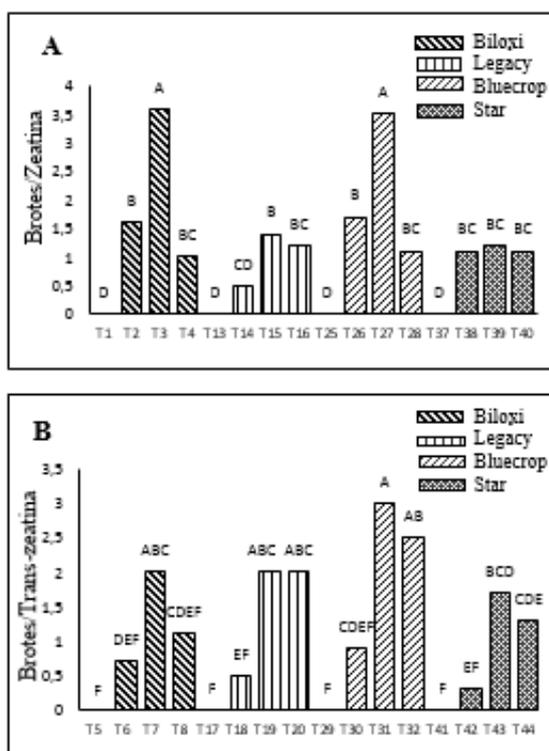


Figura 2. Efecto de cuatro concentraciones de zeatina y trans-zeatina sobre el número de brotes en las variedades Biloxi, Legacy, Bluecrop y Star. A) Número de brotes en función a cuatro concentraciones de zeatina, B) Número de brotes en función a cuatro concentraciones de trans-zeatina.

Así mismo trans-zeatina presentó un comportamiento similar a zeatina, observándose que las variedades Biloxi, Bluecrop y Star (Figura 5b y 5h) obtuvieron un mayor número de brotes a una concentración de 2.0 mg.L<sup>-1</sup> con promedios de 2, 3 y 1.7 brotes respectivamente, no obstante la variedad Legacy presentó un mayor número de brotes a concentraciones de 2.0 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 5e), sino que también a 4.0 mg.L<sup>-1</sup> difiriendo significativamente frente al resto de tratamientos (Figura 2B).

Por otro lado se observó que la proliferación de brotes estuvo ausente en aquellos tratamientos que no fueron suplementados por las citoquininas (0.0 mg.L<sup>-1</sup>), en las cuatro variedades de *V. corymbosum* como se muestra en la (Figura 2AY 2B).

### 3.2. Número de hojas

Para la variable número de hojas se observó que zeatina a una concentración de 2.0 mg.L<sup>-1</sup> tuvo el mayor efecto en las variedades Biloxi, Legacy, Bluecrop y Star (Figura 5a, 5d, 5g y 5j) mostrando promedios de 27, 21, 26 y 23 hojas por planta respectivamente, siendo significativamente superior

al resto de tratamientos (Figura 3A).

En cuanto a trans-zeatina se observó que la variedad Legacy a 2.0 mg.L<sup>-1</sup> difirió significativamente frente a los demás tratamientos, mostrando el mejor comportamiento con un promedio de 30.1 hojas, seguido por la variedad Star, Biloxi y Bluecrop con promedios entre 23 y 25 hojas por unidad experimental.

Por otro lado se muestra que los medios suplementados a una concentración de 1.0 mg.L<sup>-1</sup>, presentaron un menor número de hojas mostrando promedios entre 4 y 10 unidades por planta, en cuanto a los tratamientos que no fueron suplementados por las citoquininas no se observaron ningún resultado debido a la ausencia de brotes (Figura 3B).

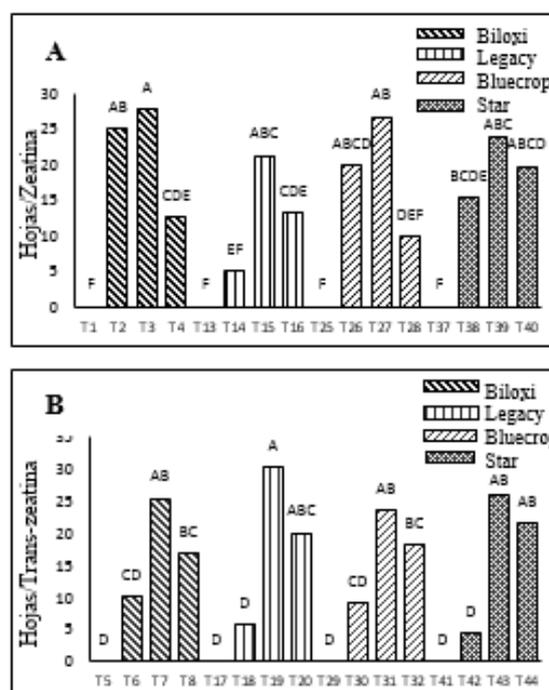


Figura 3. Efecto de cuatro concentraciones de zeatina y trans-zeatina sobre el número de hojas en las variedades Biloxi, Legacy, Bluecrop y Star. A) Número de hojas en función a cuatro concentraciones de zeatina, B) Número de hojas en función a cuatro concentraciones de trans-zeatina.

### 3.3. Altura de planta

Las concentraciones de zeatina influyeron significativamente ( $p < 0.05$ ) sobre la altura de brotes, siendo significativa su interacción en las cuatro variedades, observándose a la variedad Bluecrop a 2.0 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 5g) con los brotes más largos con un promedio de 4.10 cm. de altura, seguido por las variedades Biloxi, Star y Legacy, no obstante la variedad Biloxi logró los crecimientos más altos a 2.0 mg.L<sup>-1</sup> si no que también a 1.0 mg.L<sup>-1</sup> de zeatina

ambas concentraciones mostraron un comportamiento similar para el crecimiento de los brotes en esta variedad. (Figura 4A). Además se observó que a mayor concentración de zeatina la elongación de los brotes empieza a disminuir.

Por otro lado los brotes de Legacy bajo la aplicación de 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de trans-zeatina (Figura 5e) fueron los más largos, así mismo la variedad Star presentó una mayor altura a 2.0 mg.L<sup>-1</sup>, con promedios de 3.3 y 2.4 cm. de altura, mientras que Biloxi y Bluecrop mostraron brotes más largos a una concentración de 1.0 mg.L<sup>-1</sup> con promedios de 3 y 1.5 cm. respectivamente (Figura 4B).

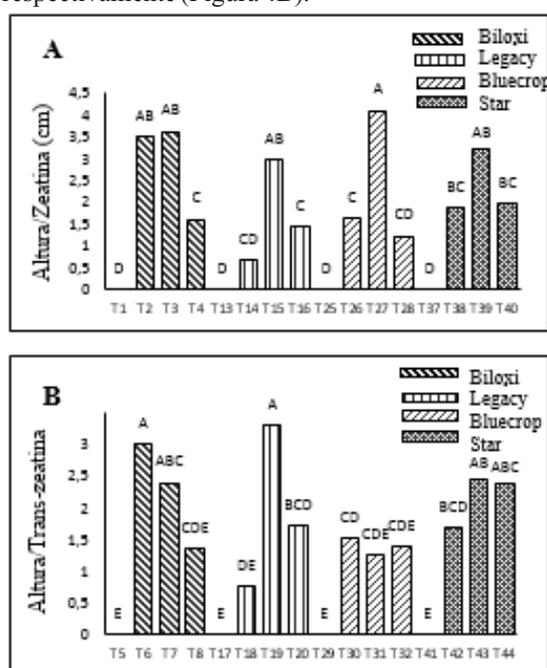


Figura 4. Efecto de cuatro concentraciones de zeatina y trans-zeatina sobre la altura de planta en las variedades Biloxi, Legacy, Bluecrop y Star. A) Altura de planta en función a cuatro concentraciones de zeatina, B) Altura de planta en función a cuatro concentraciones de trans-zeatina.

En cuanto a los tratamientos que fueron suplementados con cis-zeatina, se observó la ausencia de brotes en las cuatro variedades de *V. corymbosum*, visualizándose solamente la formación de callos o abultamientos en la lámina foliar (Figura 5c, 5f, y 5i), sin embargo a concentraciones de 2.0 y 4.0 mg.L<sup>-1</sup> empezaron aparecer pequeños brotes en la variedad Bluecrop (Tabla 2).

Tabla 2. Comparación de las medias de cuatro variedades de *V. corymbosum* en función a cuatro concentraciones de cis-zeatina en las variedades de Biloxi, Legacy, Bluecrop y Star.

Tratamientos	Brotos	Hojas	Altura	Ramif.
T9	0 c	0 b	0 b	0 b
T10	0 c	0 b	0 b	0 b
T11	0 c	0 b	0 b	0 b
T12	0 c	0 b	0 b	0 b
T21	0 c	0 b	0 b	0 b
T22	0 c	0 b	0 b	0 b
T23	0 c	0 b	0 b	0 b
T24	0 c	0 b	0 b	0 b
T33	0 c	0 b	0 b	0 b
T34	0c	0c	0b	0 b
T35	0.3 ab	1.3 ab	0.16 ab	0 b
T36	0.5 a	2.8 a	0.25 a	0.1 a
T45	0 c	0 b	0 b	0 b
T46	0 c	0 b	0 b	0 b
T47	0 c	0 b	0 b	0 b
T48	0 c	0 b	0 b	0 b

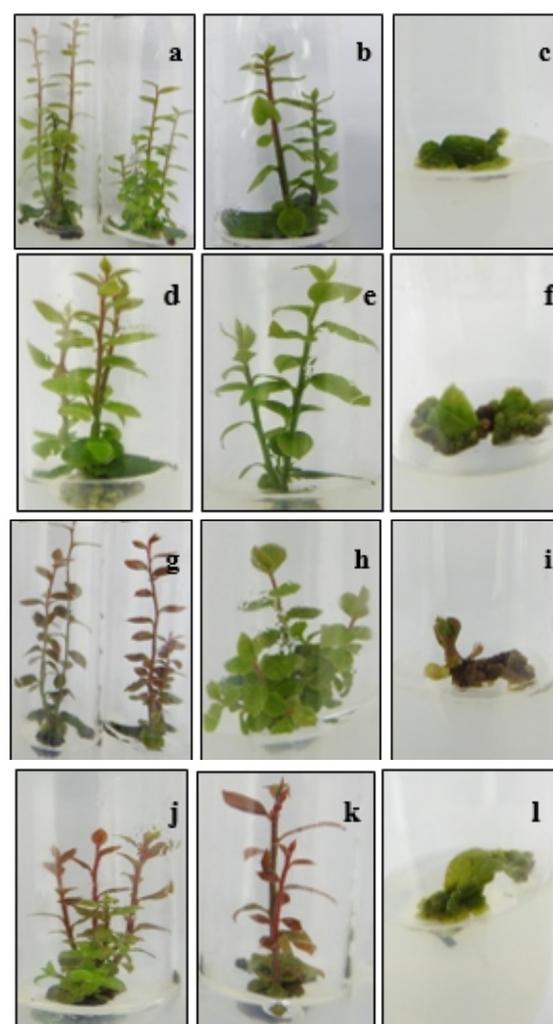


Figura 5. Variedad Biloxi; a) 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de zeatina. b) 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de trans-zeatina. c), 4.0 mg.L<sup>-1</sup> de cis-zeatina. Variedad Legacy; d), 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de zeatina. e), 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de trans-zeatina f), 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de cis-zeatina. Variedad Bluecrop; g), 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de zeatina. h), 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de trans-zeatina. i), 4.0 mg.L<sup>-1</sup> de cis-

zeatina. Variedad Star; j), 2.0 mg.L<sup>-1</sup> de zeatina k), 4.0 mg.L<sup>-1</sup> de trans-zeatina l), 4.0 mg.L<sup>-1</sup> de cis-zeatin

#### IV. DISCUSIÓN

Las variedades estudiadas difirieron significativamente en su capacidad de regeneración de brotes, hojas, ramificaciones y altura de planta, puesto que diferentes autores indican que la multiplicación *in vitro*, depende no solo de la concentración o nivel de citoquininas en el medio de cultivo, sino también de la respuesta de las especies al tipo de citoquinina (Li *et al.*, 2006, Liu *et al.*, 2010 y Tetsumura *et al.*, 2008) además indican que las condiciones para la micropropagación de especies y/o cultivares del género *Vaccinium* son genotipos-dependientes, lo que implica la necesidad de optimizar las condiciones para cada variedad.

En cuanto a la investigación realizada se trabajó con diferentes concentraciones de zeatina, trans-zeatina y cis-zeatina, siendo zeatina la citoquinina más utilizada en la micropropagación de diferentes variedades de *V. corymbosum*, (Zhidong *et al.*, 2006, Meiners *et al.*, 2007), la cual tuvo una influencia positiva y significativa en la diferenciación de brotes en las cuatro variedades estudiadas, logrando mayor número de brotes por cada unidad experimental en un medio suplementado con 2.0 mg.L<sup>-1</sup> (Figura 2A), del mismo modo otros estudios en cultivares de *Vaccinium vitis* y *Vaccinium corymbosum*, confirmaron que zeatina a 2.0 mg.L<sup>-1</sup> es la más adecuada para la estimulación de brotes y hojas (Ostrolucká *et al.*, 2014), en cuanto a la variable altura de planta, se observó una disminución de la longitud al suplementar el medio de cultivo en concentraciones de 1.0 y 4.0 mg.L<sup>-1</sup> de zeatina, lo mismo sucedió en el experimento realizado por (Ariza, 2018) cuando evaluaron el efecto de diferentes concentraciones de zeatina en *Vaccinium meridionale*.

Por otro lado la proliferación de brotes estuvo ausente en un medio de cultivo sin zeatina, estos resultados coinciden con el trabajo de otros autores (Chandler y Draper, 1986 y Reed *et al.*, 1991), quienes demostraron que las citoquininas son indispensables para la estimulación de los brotes en *V. corymbosum*.

Hay pocos autores que han empleado la trans-zeatina como parte de un protocolo de propagación *in vitro* de *Vaccinium* (Meiners, 2007), citoquininas que probablemente tienen un efecto de reducir la dormancia apical, fuerte característica de varias especies de *Vaccinium*, permitiendo así el desarrollo de los brotes y yemas axilares (Debnath y Kenneth, 2001), en cuanto a los resultados obtenidos en este

estudio se evidenciaron diferencias significativas para las variables número de brotes, hojas, ramificaciones y altura de planta, donde se observó que a concentraciones de 2.0 mg.L<sup>-1</sup> trans-zeatina tuvo una mayor actividad sobre el número de brotes y hojas, especialmente en las variedades Bluecrop y Legacy con promedios de 3.60 y 30.1., (Torres, Trujillo y Arahana, 2010), quienes trabajaron en el cultivo *in vitro* del mortiño (*Vaccinium floribundum*) demostrando que el medio de cultivo Woody Plant Medium suplementado con trans-zeatina a 1.0 mg.L<sup>-1</sup> y 0.05 mg.L<sup>-1</sup> de ácido-naftalacético fue el más adecuado para el cultivo de plántulas de mortiño, especialmente si se desea promover abundantes brotes y ramificaciones, más no elongación de la planta, sin embargo en la investigación realizada se observó que las variedades Bluecrop, Biloxi y Star lograron una mayor elongación de sus brotes en concentraciones de 1.0 mg.L<sup>-1</sup> de trans-zeatina.

Durante mucho tiempo se pensó que las cis-zeatinas eran biológicamente inactivas y se consideraron como posibles restos de degradación de ARNt (Skoog *et al.*, 1966 y Tay *et al.*, 1986), así mismo en el trabajo realizado no se observó la presencia de brotes, visualizándose solamente la formación de callos y abultamientos en la lámina foliar, del mismo modo en otros ensayos (Gyulai y Heszky, 1994) como *Phaseolus*, (Mok *et al.*, 1978) o en cultivos de células de tabaco, se reveló que las cis-zeatina tienen poca o ninguna actividad en comparación con la zeatina e Isopentiladenina, que generalmente se consideran las citoquininas naturales más activas, sin embargo, a los 45 días luego de la introducción *in vitro* de los segmentos nodales de la variedad Bluecrop bajo una concentración de 4.0 mg.L<sup>-1</sup>, se presencié la aparición de pequeños brotes, concluyendo que cis-zeatina tiene una actividad lenta en los procesos de multiplicación *in vitro*, además en estudios realizados en diferentes variedades de lúpulo enano (*Humulus lupulus*) se encontraron grandes cantidades de cis-zeatina (Patzak *et al.*, 2013) por lo que concluyeron que las citoquininas del tipo cis-zeatina tienden a acumularse bajo las circunstancias particulares asociadas con un crecimiento limitado.

#### V. CONCLUSIONES

El presente experimento mostró la importancia de las citoquininas en la regeneración de brotes, demostrando que zeatina y trans-zeatina a concentraciones de 2.0 mg.L<sup>-1</sup> promueven la capacidad de inducir una mayor multiplicación de brotes, por otro lado cis-zeatina presentó un comportamiento inactivo, pues se necesitan realizar más investigaciones y/o pruebas experimentales sobre los niveles de cis-zeatina específicos, durante

diferentes fases de desarrollo de las plantas, para sacar conclusiones generales sobre los niveles adecuados durante la propagación *in vitro*.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ariza, C.A. (2018). Avances en la propagación *in vitro* de agraz (*Vaccinium meridionales*). Castillo Bogotá.
- Buzeta, A. (1997). Arándanos. In: Chile: Berries para el 2000. Fundación Chile. Santiago, Chile, 53-88.
- Cohen, D. y Elliot, D. (1979). Micropropagation methods for blueberries and tamarillos. Combined Proceedings, International Plant Propagators' Society, 29: 177-179.
- Debnath, S. y Kenneth, B. (2001). An Efficient *in vitro* shoot propagation of cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) by axillary bud Proliferation. In *Vitro Cell. Dev. Biol.*, 3-19: 243-249.
- Erig, A.C. y Schuch, M.W. (2006). Factores que afectan la Multiplicación *in vitro* de Mirtilo. *Scientia Agraria*, 7(1-2), 83-88.
- Fira, A., Clapa, D., Badescu, C. (2008). Aspects regarding the *in vitro* propagation of highbush blueberry cultivar blue crop. *Bulletin UASVM, Horticulture*, 65(1):104-109.
- George, E. (1993). Propagación de plantas por cultivo de tejidos. Parte 1. La tecnología. Exegetics Ltd., Edición. Inglaterra.
- Gyulai, G. y Heszky, L. (1999). Bioensayos de auxina y citoquinina: una breve descripción. *Acta Agronómica Hungarica*, 43: 185-197.
- Heinonen, I.M., Meyer, A.S y Frankel, E.N. (1998). Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 4107-4112.
- Li, Y., Ma, H., Zhang, Z. y Wu, L. (2006). Effect of Cytokinins on *In Vitro* Leaf Regeneration of Blueberry. *Acta Hort*, 715:417-419.
- Litwinczuk, W., Szczerba, G. y Wrona, D. (2005). Field performance of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. 'Herbert' propagated by cuttings and tissue culture. *Scientia Horticulturae*, 106(2): 162-169.
- Liu, C., Callow, P., Rowland, L., Hancock, J. y Song, G. (2010). Adventitious shoot regeneration from leaf explants of southern highbush blueberry cultivars. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 103:137-144.
- Meiners, J., Schwab, M. y Szankowski, I. (2007). Efficient *in vitro* regeneration systems for *Vaccinium* species. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 89:169-176.
- Mok, M., Mok, D. y Armstrong, D. (1978). Differential cytokinin structure-activity-relationships in Phaseolus. *Plant Physiol*, 61: 72-75.
- Ostrolucká, M., Libiaková, G., Ondrušková, E. y Gajdošová, A. (2014). *In vitro* propagation of *Vaccinium* species. *Acta Universitatis Latviensis, Biology*, 676(1), 207-212.
- Patzak, J., Dobrev, P. y Motyka, V. (2013). Niveles endógenos de fitohormonas en plantas enanas y normales de lúpulo (*Humulus lupulus* L.). Iii Simposio Internacional de Humulus, 1010: 141-148.
- Prior, R. L., Cao, G. H., Martin, A., Sofic, E., O'Brien, C., et al. (1998). Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2686-2693.
- Reed, B.M.; Abdelnour, A. 1991. The use of zeatin to initiate *in vitro* cultures of *Vaccinium* species and cultivars. *HortScience*, 26: 1320-1322.
- Singh, M., Arseneault, M., Sanderson, T., Murthy, V., y Ramassamy, C. (2008). Challenges for research on polyphenols from foods in Alzheimer's disease: bioavailability, metabolism, and cellular and molecular mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 4855-4873.
- Skoog, F., Armstrong, D., Cherayil, J., Hampel, A. y Bock, R. (1966). Cytokinin activity: localization in transfer RNA preparations. *Science*, 154: 1354-1356.
- Song, G., y Hancock, J. (2011). *Basic Botany of Vaccinium*. C. Kole. Berlin Heidelberg, 197-221.
- Tay, S., MacLeod, J. y Palni, L. (1986). On the reported occurrence of *cis* zeatin riboside as a free cytokinin in tobacco shoots. *Plant Science*, 43:131-134.
- Tetsumura, T., Matsumoto, Y., Sato, M., Honsho, C., Yamashita, K., Komatsu, H. y Kunitake, H. (2008). Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 119:72-74.
- Torres, M., Trujillo, D. y Arahana, V. (2010). Cultivo *in vitro* de Mortiño (*Vaccinium floribundum*). *AVANCES*, 2(1), 9-15.

- Trehane, J. (2004). Blueberries, Cranberries and other Vacciniums. Timber Press, Portland and Cambridge. 256-257.
- Wolfe, D.E., Eck, P., Chee-kok, C. (1983). Evaluation of seven media for micropropagation of highbush blueberry. *HortScience*, 18: 703-705.
- Zhidong, Z., Liu H., Wu, L. y Li, Y. (2006). Technical System of Blueberry Micropropagation in China. *Acta Hort*, 715:421-425.
- Zimmerman, R.H. y Broome, O.C. (1980). Blueberry micropropagation. In: *Proceedings of the Conference on Nursery Production of Fruit Plants through Tissue Culture USDA-SEA, Agr. Res. Results ARR-NE*, 11: 44-47.